

Ida Eid Nyhus
Ragnhild Folden Istad

Pasientnær analyse av hjertespesifikt troponin I med Abbott i-STAT1

Point-of-care testing of cardiac troponin I with Abbott i-STAT1

Bacheloroppgave i Bachelor i bioingeniørfag

Veileder: Arne Åsberg, Ingvild Eide

Mai 2023

Ida Eid Nyhus
Ragnhild Folden Istad

Pasientnær analyse av hjertespesifikt troponin I med Abbott i-STAT1

Point-of-care testing of cardiac troponin I with Abbott i-STAT1

Bacheloroppgave i Bachelor i bioingeniørfag
Veileder: Arne Åsberg, Ingvild Eide
Mai 2023

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for bioingeniørfag



Kunnskap for en bedre verden

Forord

Denne oppgaven ble utarbeidet i forbindelse med bachelorprosjektet ved Institutt for bioingeniørfag ved Norges teknisk-naturvitenskaplige universitet (NTNU) i Trondheim. Oppgaven for prosjektet ble gitt av Avdeling for medisinsk biokjemi, Seksjon Prøvetaking og Pasientnær Analyse. Vi ønsker å takke våre fagveiledere Ingvild Eide og Arne Åsberg for god hjelp og veiledning under den praktiske utførelsen av oppgaven, samt utforming og tolkning av resultater. Ken Pettersen i ambulansetjenesten fortjener også en takk for å ha tatt seg tid til å kjøre oss i forbindelse med brukervennlighetsundersøkelsen i ambulansen. Videre ønsker vi å takke bioingeniørene ved felles prøvemottak som var behjelpelige med å analysere og plukke ut prøver som vi benyttet i prosjektet. Det har vært givende å skrive oppgave om et viktig og spennende tema som vi ser på som høyst aktuelt, spesielt ettersom behovet og etterspørselen etter pasientnære analyser ser ut til å øke. Til slutt retter vi en stor takk til vår prosessveileder Ragnhild Bach som har veiledet og gitt oss tilbakemeldinger gjennom hele skriveprosessen.

Trondheim, 16.mai 2023

Ida Eid Nyhus

Ida Eid Nyhus

Ragnhild Folden Istad

Ragnhild Folden Istad

Sammendrag

Hensikten med oppgaven var å undersøke analysekvaliteten og egenskapene til det pasientnære instrumentet Abbott i-STAT1. Dette ble gjennomført etter ønske fra Avdeling for medisinsk biokjemi, Seksjon Prøvetaking og Pasientnær Analyse ved St. Olavs hospital. Dersom kvaliteten på instrumentet viste seg å være god nok, kunne det vært aktuelt å gjennomføre en ny studie for å undersøke om instrumentet potensielt kunne blitt implementert i ambulansetjenesten og andre helsetjenester.

Testmetoden som ble undersøkt i prosjektet var cTnI-metoden på Abbott i-STAT1. Det ble gjennomført en metodesammenligning, presisjonsanalyse og en brukervennlighetsundersøkelse av denne. Referansemetoden var Elecsys Troponin T hs på Cobas 8000 e602. I prosjektet ble det undersøkt om de kliniske beslutningsgrensene for testmetoden og referansemetoden samsvarte, og om testmetoden hadde god nok presisjon for klinisk bruk. Siden det ble undersøkt to ulike proteiner, som ikke er direkte sammenlignbare, ble analyttenes kliniske beslutningsgrenser sammenlignet. Instrumentets brukervennlighet ble også undersøkt kvalitativt. Metodesammenligningen ble utført ved å analysere 43 prøver av heparinplasma, som tidligere var analysert med referansemetoden. Testmetodens presisjon ble vurdert gjennom en presisjonsanalyse av 20 paralleller. Prøven i presisjonsanalysen hadde en cTnT-konsentrasjon som det ble antatt at tilsvarte den kliniske beslutningsgrensen for testmetoden.

Metodesammenligningen viste at metodenes oppgitte kliniske beslutningsgrenser ikke samsvarte. Testmetoden hadde en dårligere klinisk sensitivitet enn referansemetoden, og ga flere falskt negative prøvesvar. Ved bruk av alternative kliniske beslutningsgrenser ble antall uoverensstemmende resultater mellom metodene redusert. Presisjonsanalysen viste at presisjonen var god nok for klinisk bruk. Den største utfordringen knyttet til brukervennlighet var mangel på plass i ambulansen. Ytre faktorer, som temperatur og bevegelse, så ikke ut til å påvirke analysesvarene i denne studien. Dersom cTnI på Abbott i-STAT1 skal implementeres ved St. Olavs hospital bør det vurderes bruk av egne alternative kliniske beslutningsgrenser. Det må også gjennomføres en større studie som omfatter bruk av instrumentet i ambulansetjenesten med fullblod som prøvemateriale.

Abstract

The purpose of this thesis was to examine the analysis quality and characteristics of the point-of-care instrument Abbott i-STAT1. This was carried out at the request of the Department of Clinical Chemistry at St. Olav's Hospital. If the quality of the instrument turned out to be appropriate, it could be possible to do another study to investigate whether the instrument could potentially be implemented in the ambulance service and other institutions with similar needs.

The test method in question was the cTnI method on the Abbott i-STAT1. A method comparison, precision analysis and a user-friendliness survey were carried out. The reference method was Elecsys Troponin T hs on Cobas 8000 e602. In the project, it was investigated whether the clinical decision limits for the test method and the reference method corresponded, and whether the test method had sufficient precision for clinical use. Since the two examined proteins are not directly comparable, the analytes' clinical decision limits were compared. The instrument's usability was also examined qualitatively. The method comparison was carried out by analyzing 43 samples of heparin plasma which had previously been analyzed with the reference method. The test method's precision was assessed through a precision analysis of 20 parallels. The sample in the precision analysis had a cTnT level that was assumed to correspond to the clinical decision limit of the test method.

The method comparison showed that the methods' stated clinical decision limits did not match. The test method had a poorer clinical sensitivity and produced more false negative test results than the reference method. By using alternative clinical decision limits the number of discordant results between the methods was reduced. The precision analysis showed that the precision was good enough for clinical use. The greatest challenge related to user-friendliness was shortage of space in the ambulance. External factors, such as temperature and vibrations, did not appear to affect the analysis results in this study. If the cTnI method on Abbott i-STAT1 is to be implemented at St. Olav's Hospital, the use of alternative clinical decision limits should be considered. A larger study must also be carried out that includes the use of the instrument in the ambulance service with whole blood as sample material.

Innholdsfortegnelse

Forord.....	I
Sammendrag	II
Forkortelser	1
1. Innledning	2
1.1 Introduksjon	2
1.2 Hjerteranatomi	3
1.4 Hovedårsaken til akutt hjerteinfarkt	4
1.5 EKG og klassifisering av akutt hjerteinfarkt.....	6
1.6 Biomarkørene troponin I og T	8
1.6.1 Måling av troponin i forbindelse med hjerteinfarkt.....	9
1.6.2 Kliniske beslutningsgrenser og 99-persentiler for cTn-metoder	10
1.6.3 Faktorer som påvirker troponinkonsentrasjonen	11
1.7 Pasientnær analyse av troponiner	12
1.8 Immunoassay.....	13
1.8.1 Enzyme-linked immunosorbent Assays (ELISA)	14
1.9 Statistiske beregninger.....	15
1.9.1 Riktighet	15
1.9.2 Presisjon	15
1.9.3 Metodesammenligning.....	16
1.9.4 Regresjonsanalyse	16
1.10 Hensikt og problemstilling.....	17
2. Materiale og metode	19
2.1 Prøvemateriale	19
2.2 Kalibrator	19
2.3 Kontroll.....	20
2.4 Testmetode	20
2.5 Referansemetode.....	23
2.6 Testmetodens begrensninger.....	24
2.7 Metodesammenligning.....	25
2.8 Presisjonsanalyse.....	26
2.9 Brukervennlighet i ambulansen.....	26
3. Resultater	28
3.1 Kontroller	28
3.2 Metodesammenligning.....	28
3.3 Presisjonsanalyse av i-STAT1.....	32
3.4 Brukervennlighet i ambulanse.....	33

4. Diskusjon	35
4.1 Metodesammenligning	35
4.2 Uoverensstemmelser og alternativ klinisk beslutningsgrense	39
4.3 Presisjonsanalyse på i-STAT1	42
5. Konklusjon	46
6. Referanser	47
7. Vedlegg	52
7.1 Pakningsvedlegg for kontroller (Vedlegg 1)	52
7.2 Prosedyre for prøvehåndtering og analysering (Vedlegg 2)	58
7.3 Matematisk sammenheng mellom kurvene i Figur 3.2 og 3.3 (Vedlegg 3)	59
7.4 Rådata fra analyseringen i ambulansen (Vedlegg 4)	60
7.5 Rådata fra metodesammenligningen (Vedlegg 5)	61
7.6 Rådata fra presisjonsanalysen (Vedlegg 6)	62

Forkortelser

AACC American Association for Clinical Chemistry

ACC American Collage of Cardiology

AHA American Heart Association

ALP Alkalisk fosfatase

AST Aspartaminotransferase

ATP Adenosintrifosfat

BMI Body mass index

CKMB Creatine kinase MB

cTn Cardiac troponin (hjertetroponin)

cTnI Hjertetroponin I

cTnT Hjertetroponin T

EKG Elektrokardiogram

ELISA Enzyme-linked Immunosorbent Assays

ESC European Society of Cardiology

HDL High-density lipoprotein

HIS Sykehusinformasjonssystem

HRP Horseradish peroxidase

Hs-cTn Høysensitiv hjertetroponin

IFCC International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

IgG Immunglobulin G

KI Konfidensintervall

LDH Laktadehydrogenase

LIS Laboratorieinstrumetsystem

NSTEMI Non ST segment elevation myocardial infarction

PNA Pasientnær analyse

REK Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk

STEMI ST segment elevation myocardial infarction

TnC Troponin C

TnI Troponin I

TnT Troponin T

WHF The World Heart Federation

WHO World Health Organization

1. Innledning

1.1 Introduksjon

Ifølge WHO (World Health Organization) er hjerte- og karsykdommer den største årsaken til dødsfall globalt. Tall fra 2019 viser at det er omtrent 17,9 millioner mennesker som dør av disse sykdommene hvert år. Dette utgjør 32 % av alle dødsfall i verden. Hjerte- og karsykdommer omfavner en rekke sykdommer, men felles for disse er at helse og livsstil er viktig i utvikling av sykdom. Fysisk inaktivitet, røyking, stort alkoholforbruk og et ellers usunt kosthold er alle faktorer som fører til tilstander som økt lipid- og glukosekonsentrasjon i blodet, høyt blodtrykk, fedme og overvekt. Disse tilstandene er kjent for å være tett knyttet til økt risiko for å utvikle hjerte- og karsykdom over tid. Derfor er det viktig å identifisere og følge opp personer med en slik helsetilstand og livsstil tidlig for å gi de muligheten til å gjøre nødvendige livsstilsendringer og eventuelt medisineres før sykdommen kan utvikle seg (1,2).

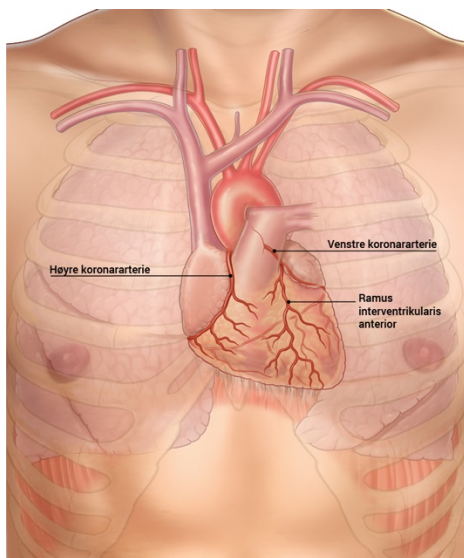
Akutt hjerteinfarkt, som i faglitteraturen ofte kalles akutt myokardinfarkt, er en svært hyppig og alvorlig hjerte- og karsykdom både i Norge og globalt (3). En ekspertgruppe bestående av medlemmer fra ESC, ACC, AHA og WHF (European Society of Cardiology, American Collage of Cardiology, American Heart Association, The World Heart Federation), utarbeidet i 2018 den fjerde utgaven av den universelle definisjonen på akutt myokardinfarkt. Den universelle definisjonen har som mål å hjelpe klinikerne med å stille riktig diagnose og gi rask behandling til pasienten. Definisjonen krever at pasienten har en økning eller et fall i troponinkonsentrasjon med minst 1 verdi over 99-persentilen i øvre referansegrense, samt kliniske beviser for diagnosen (4). Troponiner er biomarkører som kan indikere skade i hjertemuskelcellene (kardiomyocytene), mens kliniske beviser vil være symptomer på iskemi og/eller forandringer på EKG (Elektrokardiogram) som indikerer iskemi (4,5). Iskemi er en tilstand hvor pasienten har en nedsatt blodtilførsel i en kroppsdel eller i et organ (her: hjertet) (6).

Når et hjerteinfarkt inntreffer er situasjonen akutt og alvorlig. Det kan derfor være svært nødvendig med rask livreddende behandling for at pasienten skal overleve og få minimalt med senskader. Den langsiktige behandlingen etter den akutte fasen er også særs avgjørende for pasientens risiko for tilbakefall av sykdommen. For å kartlegge behandlingen og situasjonen i landet opp mot ønskede nasjonale mål og retningslinjer, utarbeides det årlige rapporter av Norsk hjerteinfarktregister. I Norge behandles omtrent 11 000 pasienter for akutt hjerteinfarkt hvert år. Behandlingen som utføres i norske sykehus er i verdenstoppen, og i 2021 overlevde 92 %

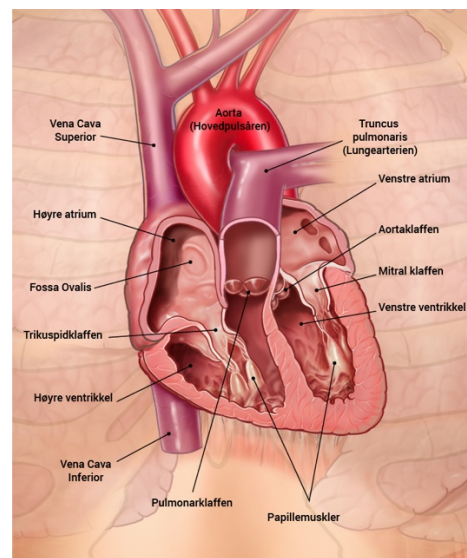
av pasientene i 30 dager etter innleggelse. Likevel jobber sykehusene i Norge hver dag for å bedre sitt tilbud (3).

1.2 Hjertereanatomi

Hjertet er en kompleks hulmuskel som ligger godt beskyttet mellom lungene, inn mot brystbeinet i mediastinum (brystkasserommet), slik som vist i Figur 1.1. Størrelsen på hjertet varierer i noen grad med fysiologisk tilstand, alder og eventuell sykdom, men sies omtrentlig å ha størrelse med individets knyttneve (7). Utsiden av hjertet er kledd med en sterk fibrøs bindevevshinne (fibrøst perikard) og en dobbel serøs hinne for ekstra beskyttelse (serøs perikard). Under perikard ligger myokardet, som generelt refererer til hjertets muskellag. Dette kan omfatte flere lag avhengig av hvilken del av hjertet som undersøkes, men i hovedsak er det to lag. Myokardet inn mot lumen kalles endokard, mens laget ut fra lumen kalles epikard (8). Ellers består hjertet av fire atskilte kamre som til sammen utgjør et dobbelt pumpesystem: To mindre atrier (forkamre) og to større ventrikler (Figur 1.2). Hovedfunksjonen til hjertet er å pumpe ut blod til to nesten helt uavhengige kretsløp: Det systemiske kretsløpet (ut til kroppen) og lungekretsløpet (9).



Figur 1.1: Hjertet ligger plassert i brystkassen, mellom lungene og inn mot brystbeinet, og får næring fra de omkransende koronararteriene som ligger på epikard (10).



Figur 1.2: Hjertet består av to atrier og to ventrikler, og hjerteklaffer mellom kamrene kontrollerer blodstrømmen gjennom hjertet (10).

Hovedforskjellen mellom de tverrstripede myocytene i hjertet og skjelettmusklene er at kardiomyocytene mangler nevromuskulære synapser. Dessuten har de store mengder glykogenholdige granula og økt antall mitokondrier i cytoplasma. I tillegg til hjertets ulike muskelcelletyper inkluderer den generelle betydningen av myokard også strukturer som blodårer, nerver, lymfeårer og ekstracellulær matriks. Koronararteriene, som forsyner hjertet med næringsrikt blod, ligger på epikardet, slik som vist i Figur 1.1. Dette fører til at det er endokardet som står i størst fare for å bli utsatt for redusert tilførsel av oksygenrikt blod, og det som kalles myokardiskemi (8). Hvilke av de to hovedarteriegrenene som dominerer, og hvilke områder på hjertet de forsyner med blod, varierer fra person til person. De to hovedgrenene betegnes som høyre og venstre koronararterie (7).

1.3 Ledningssystemet i hjertet

For at hjertet skal kunne ha en jevn og kontinuerlig pumpefunksjon er det nødvendig med et nøye kontrollert ledningssystem og en god celleinteraksjon mellom cellene i myokardet. Hjertets muskelceller (myocytter) har en helt unik evne til å danne elektriske impulser spontant ved hjelp av ulike ionekanaler som kan åpnes og lukkes. Dette betyr at myocytene ikke er avhengige av å få elektriske impulser fra nerver for å stimulere til myokardkontraksjon (11). Hvordan de elektriske impulsene spres gjennom vevet i hjertet er komplisert, og unike strukturer gjør at hastigheten til signaloverføringene og vevskontraksjonene er nøye kontrollerte. Kort sagt er dette strukturer som leder elektriske impulser i ulik hastighet slik at atriene og ventriklene blir fylt og tømt for blod på en hensiktsmessig måte. Det er vanlig å beskrive pumpesystemet som en hjertesyklus med to faser: Diastole er avslapningsfasen der hvor hjertet fylles med blod, mens systole er sammentrekningsfasen hvor det tømmes for blod (9).

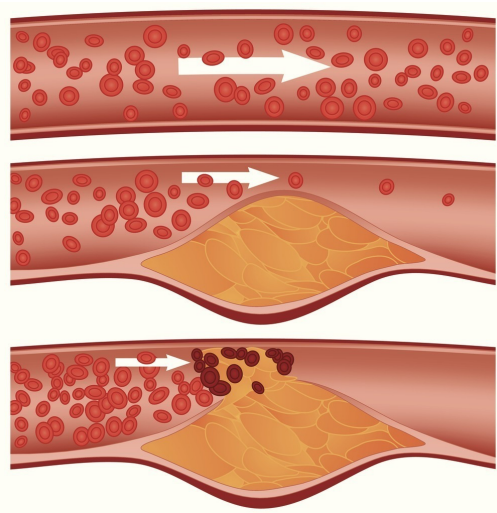
1.4 Hovedårsaken til akutt hjerteinfarkt

For at celler i kroppen skal leve og utføre sine arbeidsoppgaver er det viktig at tilgangen på oksygen er tilstrekkelig. Det er derfor helt avgjørende med god balanse i tilførsel/forbruk-ratioen av oksygen. Ubalanse i ratioen som gir utilfredsstillende mengder oksygen kan føre til celledød og i verste fall celledød (4). Som nevnt forsynes kardiomyocytene med oksygen gjennom koronararteriene. Dette er terminale arterier, noe som betyr at det ikke er direkte forbindelser (anastomoser) mellom arteriegrenene som tilfører næringsrikt blod til de forskjellige delene av hjertet. Hovedregelen er derfor at dersom én koronararteriegren

okkluderer, vil ikke andre arteriegrener kunne overta sirkulasjonen og forsyne denne delen av hjertet. Unntak fra denne regelen skjer dersom den arterielle obstruksjonen oppstår sakte og gradvis, slik at det er nok tid til å utvikle anastomoser og kollaterale blodårer (7).

En myokardiskemisk tilstand er når myokardet har fått reversible cellulære forandringer som følge av utilstrekkelig tilførsel av oksygen. I en slik situasjon benytter vevet seg av en anaerob metabolisme i påvente av at oksygentilførselen gjenopprettes. Dette gir cellene nok energi til at cellene ikke får større skader enn det som kan repareres hvis oksygentilførselen gjenopprettes innen noen minutter. Dersom iskemitilstanden ikke opphører innen rimelig tid, vil det oppstå permanente skader, nedbrytning av cellemembranen og celledød da cellene ikke lenger evner å skape nok energi ut fra den anaerobe metabolismen (11). Et viktig aspekt ved kardiomyocytene er at de ikke er i stand til å regenerere, det vil si gjendanne tapte celler (7,12). Etter omtrent 20 minutter med iskemi er skadene så omfattende at de blir permanente, og pasienten har fått et akutt hjerteinfarkt, altså en nekrotisk tilstand i hjertemuskulaturen (7). Allerede etter 10-15 minutter med iskemi kan det observeres redusert cellulært glykogen, ødeleggelser i sarcolemma (cellemembranen), slappe myofibriller (sammentrekkbare fibre), samt mitokondrielle abnormaliteter (13). Blodtilstrømning i en annen koronararteriegren enn den som er okkludert, det som kalles kollateral blodtilførsel, påvirker omfanget til skaden og hvor lang tid det tar før irreversibel skade oppstår. Økt kollateral blodtilførsel kan minske skaden og forlenge fasen før nekrose ved å overta større deler av sirkulasjonen som den tilstoppede arterien normalt skulle ført (13).

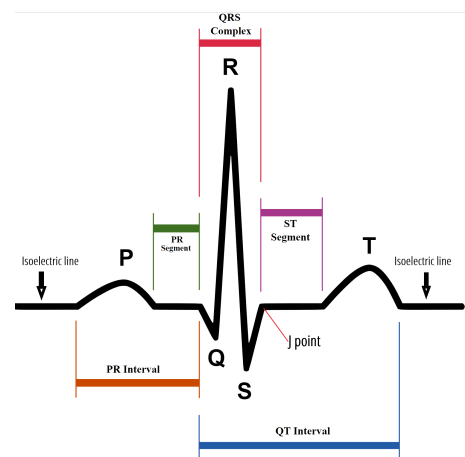
Som oftest er akutt hjerteinfarkt forårsaket av langvarig iskemi grunnet totalobstruksjon eller redusert blodtilførsel i større eller mindre grener av koronararteriene i hjertet (13). Den vanligste årsaken til en slik obstruksjon er aterosklerose med påfølgende inflammasjon og trombedannelse. Aterosklerose er en inflammatorisk prosess som foregår hovedsakelig i det subendoteliale rommet, kalt tunica intima, i mellomstore til større arterier som har vært utsatt for turbulens i blodstrømmen eller der hvor arterien forgreiner seg. En akkumulering av betennelsesceller, fett, forkalkning og bindevevsdannelser gir et såkalt plakk, noe som gjør åreveggen tykkere og stivere. Plakket er stabilt så lenge det er beskyttet fra blodstrømmen av endotelet, men desto større plakket blir, desto mer trykker det på endotelet, og endotelet blir sårbart. I tillegg blir lumen mindre, noe som gir trangere blodårer. En ruptur i endotelet vil føre til trombedannelse, og gi myokardiskemi og akutt hjerteinfarkt (14). En forenkling av dette er vist i Figur 1.3.



Figur 1.3: Arterievegg med aterosklerosedannelse (gul farge) i tunica intima. Ved ruptur av endotelet vil innholdet i plakket komme i kontakt med blodstrømmen og gi trombedannelse (15).

1.5 EKG og klassifisering av akutt hjerteinfarkt

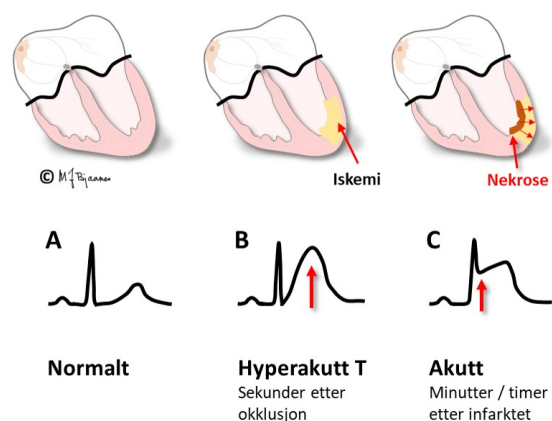
I klinikken kan den elektriske aktiviteten gjennom hjertesyklusen måles og gi et elektrokardiogram ved hjelp av elektroder som plasseres på flere punkter på utsiden av kroppen. Et normalt EKG, som vist i Figur 1.4, gir fem utslag (topper) som benevnes ved hjelp av bokstavene P, Q, R, S, T. P-toppen dannes som følge av depolariseringen til atriene. På grunn av atriens tynne vegger og relativt beskjedne størrelse, vil den elektriske aktiviteten som genererer depolariseringen også være ganske liten og dermed gi en lav P-bølgetopp (1-2 mm høy). Fordi sinusknuten (ansamling av spesialiserte, impulsdannede kardiomyocytter) er lokalisert i høyre atrium, vil starten av P-toppen representere depolariseringen av høyre atrium, mens siste del vil representere depolariseringen av venstre atrium. QRS-komplekset dannes som følge av depolariseringen av de større ventriklene, og vises derfor som en høyere topp enn P-toppen. Den siste toppen i elektrokardiogrammet sees som en bred T-topp. Denne representerer repolariseringen av ventriklene.



Figur 1.4: Normal EKG (16).

Normalt vil hjertet være i en isoelektrisk tilstand i periodene mellom P- og Q-utslaget, S- og T-utslaget og fra T- til neste P-utslag. Den isoelektriske tilstanden oppstår når alle myocytene har omtrent samme elektriske aktivitet, og det ikke er spenningsforskjeller mellom de ulike delene av hjertet. I disse periodene (segmentene) vil kurven normalt observeres som flat, men endringer kan sees ved sykdom. Når kardiomyocytene mister tilgang på blod, vil det lave intracellulære nivået av ATP (adenosintrifosfat) føre til at spesialiserte K⁺-kanaler åpnes og gir cellemembranen en økt permeabilitet for K⁺. Fordi K⁺-konsentrasjonen er betydelig høyere intracellulært, vil den økte permeabiliteten føre til at K⁺ lekker ut av cellen i det skadede området. Det økte nivået av K⁺ utenfor cellen fører til en relativ depolarisering av membranen i området. Dersom iskemitilstanden ikke opphører vil irreversible celledskader oppstå, og cellemembranen vil brytes ned, noe som fører til et enda større tap av K⁺. De lokale endringene i ionekonsentrasjon kan føre til signifikante forandringer i membranpotensialet, og slik også gi forandringer i kurven som dannes i EKG. Særlig er endringer i ST-segmentet betydningsfulle i påvisningen av patologiske prosesser i hjertet. Tilstander som iskemi og infarkt kan gi karakteristiske forandringer (11). EKG er derfor en svært viktig undersøkelse å ta ved mistanke om akutt hjerteinfarkt, og den bør tas så raskt som mulig, helst innen 10 minutter etter symptomutbrudd. Likevel er ikke EKG tilstrekkelig for å sette diagnosen iskemi eller hjerteinfarkt, da disse ikke alltid gir endring i ST-segmentet. I tillegg kan også andre tilstander skape endring. Usikre funn i EKG gjør vurderingen av pasientens tilstand vanskeligere for helsepersonell (13).

Akutt hjerteinfarkt kan klassifiseres basert på om EKG-undersøkelsen viser ST-elevasjon eller ikke. Infarkt med den karakteristiske ST-elevasjonen betegnes som STEMI (ST segment elevation myocardial infarction), mens infarkt uten ST-elevasjon betegnes som NSTEMI (Non ST segment elevation myocardial infarction). Den visuelle forskjellen mellom normalt EKG og EKG med ST-elevasjon er illustrert i Figur 1.5. Likevel kan NSTEMI-pasienter ha mer vage forandringer som inversjon i T-utslaget og ST-depresjon, men



Figur 1.5: A. Normalt EKG. B. EKG med forhøyet T-topp som følge av iskemisk tilstand i deler av hjertet. C. EKG med ST-elevasjon som følge av akutt hjerteinfarkt (nekrose i deler av hjertet) (18).

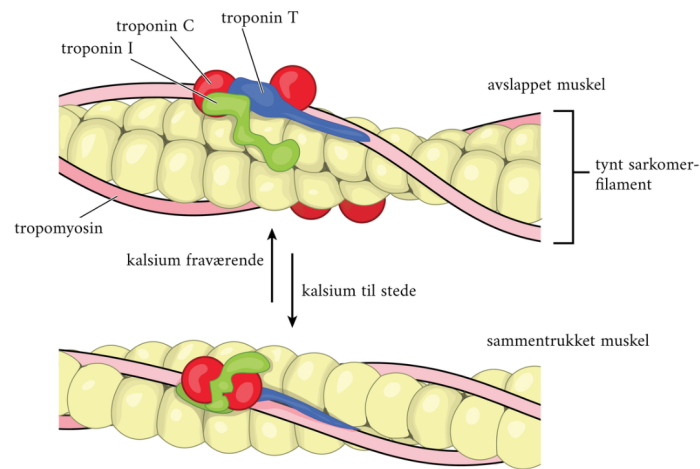
fordi pasientene mangler den karakteristiske ST-elevasjonen, blir EKG-resultatene vanskeligere å tolke (11). I tillegg er sensitiviteten for NSTEMI i EKG-undersøkelsene begrenset, og over 30 % av pasientene har normal EKG (17). For NSTEMI-pasienter kan tidligere EKG-resultater være nyttige i vurderingen om endringene i et nytt EKG er kroniske funn eller om det er en akutt endring fra tidligere. Flere EKG-undersøkelser innenfor kortere tidsrom kan også gjøre det mulig å følge utviklingen av celledskaden (13).

I 2021 ble det i Norge registrert at 73 % av alle akutte hjerteinfarkt var av typen NSTEMI, mens kun 26 % var av STEMI (3). Hos STEMI-pasienter er gjerne årsaken en totalokklusjon i en av hovedgrenene til koronararteriene, mens NSTEMI oftest skyldes en forbigående okklusjon i en av hovedgrenene, eller en forbigående eller totalokklusjon i en av de mindre grenene (11). Tilfeller hvor myokardet får begrenset tilgang på oksygen, som følge av kollateral blodstrøm, gir også vanligvis NSTEMI (4). Generelt vil det være mindre nekrose som følge av NSTEMI enn STEMI, men likevel vil rask revaskularisering, det vil si gjenoppretting av blodtilførsel, minimere mengden permanente skader også for NSTEMI-pasienter. Siden NSTEMI-pasienter ikke gir det samme typiske EKG-bildet som STEMI-pasienter, er det vanskeligere å identifisere disse pasientene utenfor sykehuset, og færre blir direkte transportert til utblokking av koronararteriene. Konsekvensen av dette er at det tar lengre tid før målrettet og effektiv behandling settes i gang (3,17). Biomarkører, som troponin I og T, har derfor blitt svært viktige i diagnostiseringen av akutt hjerteinfarkt, særlig i identifiseringen av NSTEMI-pasientene (17).

1.6 Biomarkørene troponin I og T

Måling av hjertetroponin er bærebjelken i diagnostisering av hjerteinfarkt (19). Dette er proteiner som danner et kompleks bundet til proteinet tropomyosin. Tropomyosin og aktin danner tynne filamenter av myocytter - den viktigste komponenten i det kontraktile apparatet for skjelett- og hjertemuskel (20). Troponinene omfatter troponin I, troponin T og troponin C, og spiller en viktig rolle ved muskelsammentrekning ved endring i Ca^{2+} -konsentrasjon intracellulært (21). Troponin C (TnC) binder Ca^{2+} , og fører til strukturelle endringer av proteiner i troponin-tropomyosin-komplekset. Konformasjonsendringene frigjør bindingssteder for myosinhodet slik at mekanismen med aktin og myosinhodet muliggjør muskelsammentrekning i tverrstripete myocytter. Troponin I (TnI) hemmer aktiviteten til aktomyosinkomplekset og forhindrer muskelsammentrekning i fravær av Ca^{2+} i cytoplasmaet. Troponin T (TnT) deltar i muskelsammentrekningen ved at det binder troponinkomplekset til

tynne filamenter (20). Oppbyggingen av en myocyt med de tre typene av troponiner, samt en illustrasjon av en avslappet og en sammentrukket muskel kan sees i Figur 1.6.



Figur 1.6: Muskelsammentrekning skjer ved endring av kalsiumkonsentrasjonen intracellulært og gjør at en muskel med tre typer troponiner (troponin I, troponin T og troponin C) kan slappe av og trekke seg sammen (22).

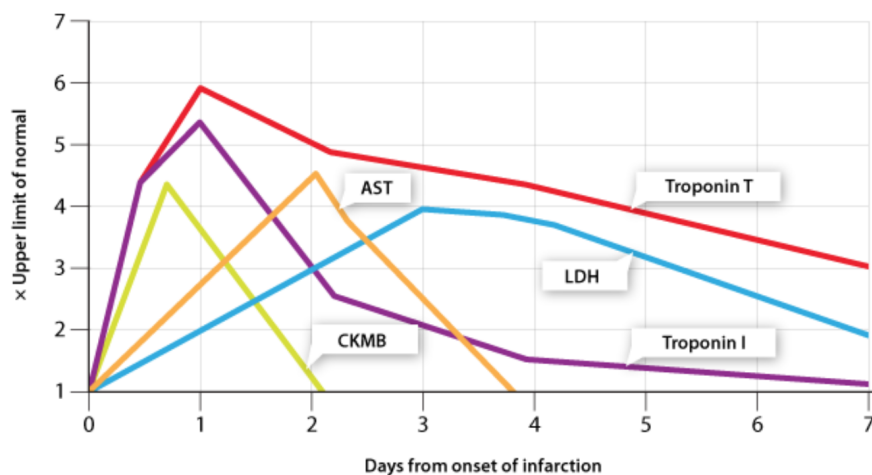
I mennesker uttrykkes troponin i tre isoformer: raske skjelettisoformer, langsomme skjelettisoformer og spesifikke hjerteisoformer (21). Både troponin T og troponin I er hjerteregulerende troponiner som kontrollerer den kalsiummedierte interaksjonen mellom aktin og myosin. Biomarkørene uttrykker fortrinnsvis den samme biokjemiske prosessen, men plasmakonsentrasjonen er ikke direkte sammenlignbar (19). Økte konsentrasjoner av TnT og TnI vil indikere kardiomyocyttskade, men ikke nødvendigvis akutt hjerteinfarkt. Generelt vil akutte hjertetilstander gi et stigende eller fallende mønster, mens kroniske tilstander, som kronisk hjertesvikt, vil vise stabile forhøyede verdier i det patologiske området (5).

1.6.1 Måling av troponin i forbindelse med hjerteinfarkt

Ved mistanke om akutt hjerteinfarkt klassifiseres pasientene som STEMI- og NSTEMI-pasienter basert på EKG-resultatene. Måling av hjertetroponin med en høysensitivitetsmetode benyttes kun for å veilede behandlingen av NSTEMI-pasienter. Diagnosen sikkerhet kan forsterkes ved seriell cTn-prøvetaking for å skille akutte økninger, en stigende og/eller fallende konsentrasjon eller en kronisk forhøyet konsentrasjon (23). Retningslinjer fra ESC anbefaler analyse av høysensitiv hjertetroponin (hs-cTn) hos pasienter med mistanke om NSTEMI både ved ankomst til akutmottaket og én time etter innleggelse. Dette 0/1-timers-intervallet bidrar i

vurderingen av om pasienten kan sendes trygt hjem, legges inn til observasjon eller må behandles umiddelbart (24).

Aarhus universitetssykehus utførte en metodesammenligning som viste at cTnI (Hjertetroponin I) økte raskere i den tidlige fasen (0-6 timer) og toppet seg i løpet av 6-12 timer. Hjertetroponin T (cTnT) økte derimot mer jevnt og nådde toppen etter 12-18 timer (19). Generelt vil troponinkonsentrasjonen stige 3-4 timer etter et akutt hjerteinfarkt, og forbli forhøyet i 7-10 dager for TnI og 10-14 dager for TnT. Den første frigjøringen skyldes frigjøring av troponin fra cytoplasmaet, etterfulgt av frigjøring av troponin fra hjertemyofilamentene når de brytes ned. Frigjøringsmønsteret gjør at troponin kan detekteres i serum over en lengre periode (25). Figur 1.7 viser en sammenligning mellom troponinfrigjøring og frigjøringsmønstre til andre tradisjonelle hjerteenzymmer.



Figur 1.7: Frigjøringsmønstre av troponiner, AST (Aspartaminotransferase), LDH (Laktadehydrogenase) og CKMB (Creatine kinase MB) i konsentrasjon og antall dager etter akutt myokardinfarkt (25).

1.6.2 Kliniske beslutningsgrenser og 99-persentiler for cTn-metoder

I statistikken er en persentil den verdien som en spesifikk prosentandel av en gruppe observasjoner er mindre enn eller lik (26). Ifølge den fjerde definisjonen av akutt hjerteinfarkt fra 2018 fungerer den øvre 99-persentilen for analysen som en klinisk beslutningsgrense i diagnostiseringen av akutt hjerteinfarkt (13). Hvordan disse kliniske beslutningsgrensene blir etablerte for cTn-assayene er ennå ikke standardisert av en ekspertgruppe, og en konsekvens av dette er at samme cTn-assay kan ha ulike kliniske beslutningsgrenser, avhengig av produsent for analysen. Produsentenes oppgitte 99-persentiler etableres på grunnlag av cTn-målinger av grupper med friske deltakere. På denne måten vil den kliniske beslutningsgrensen for analysen

være avhengig av hvilken populasjon, biologisk variasjon og statistiske analyser som er benyttet i etableringen (27).

1.6.3 Faktorer som påvirker troponinkonsentrasjonen

Studien fra Aarhus viste at forhøyede verdier av troponin I kan sees ved høyere alder, høyere systolisk blodtrykk, tidligere kardiovaskulær sykdom og bruk av kolesterol- eller blodtrykksmedisiner (19). Det ble ikke funnet betydelig sammenheng mellom økte troponinverdier og BMI (Body mass index), totalkolesterol eller High-density lipoprotein-kolesterol (HDL-kolesterol) hos verken kvinner eller menn. Troponin T-konsentrasjonen var sterkere forhøyet i sammenheng med diabetes og HDL-kolesterol, og mer redusert i sammenheng med totalkolesterol. Begge troponinene hadde positiv korrelasjon til kardiovaskulær sykdom, bruk av blodtrykks- og kolesterolsenkendemedisiner og kreatinin (19).

Under en sammenligningsstudie mellom hs-cTnT og troponin I (ikke høysensitiv) i Skottland kunne cTnT påvises hos litt over halvparten av deltakerne fra en frisk populasjon, mens bare tre fjerdedeler hadde påvisbare konsentrasjoner av cTnI (28). Studien viste at de detekterte 99-persentilene hos yngre menn og kvinner stort sett var tilnærmet lik produsentenes oppgitte 99-persentiler (troponin T: menn: 15,5 ng/L, kvinner: 9,0 ng/L; troponin I: menn: 34,2 ng/L, kvinner: 15,6 ng/L). Etter fylte 60 år fikk persentilen for cTnT en betydelig høyere verdi, og ved 70 år var 99-persentilene for begge troponinene omtrent fordoblet. Hos de fleste yngre kvinner var ikke konsentrasjonen av troponin målbar. Generelt ble det funnet at yngre deltakere hadde lavere troponinkonsentrasjoner. Likevel ble det funnet at troponinkonsentrasjonen generelt var høyere hos menn under 30 år, sammenlignet med menn i 30-40-årene. Dette kunne forklares med at troponiner påvirkes av venstre ventrikkelmasse, som sannsynligvis er høyere hos de yngre mennene (28). I den fjerde universelle definisjonen av hjerteinfarkt anbefales det å bruke kjønnsespesifikke 99-persentiler som kliniske beslutningsgrenser i hs-cTn-assay ettersom det er observert betydelig lavere troponinkonsentrasjon hos kvinner sammenlignet med menn. Ifølge dokumentet har kjønnsespesifikke beslutningsverdier ført til forbedring i diagnostikken og prognoseinformasjonen til pasienter med mistanke om akutt hjerteinfarkt (13). Ellers fant den skotske studien at både cTnT og cTnI hos røykere var redusert, mens cTnT var økt hos pasienter med økt totalkolesterol. Det var også en svak sammenheng mellom cTnT og cTnI, hvor begge var økt hos eldre og menn. Økt troponinkonsentrasjon i den eldre

befolkningen (> 70 år) kan ifølge denne studien føre til overdiagnostisering av hjerteinfarkt og bør tas hensyn til i vurderingen av troponinkonsentrasjonen (28).

Pasienter med kronisk nyresykdom kan også være utfordrende å diagnostisere med akutt hjerteinfarkt basert på troponinverdier (29). Mange av pasientene med kronisk nyresykdom har vedvarende forhøyede cTn-verdier, og flesteparten av pasientene med nyresvikt har verdier over 99-persentilen. Dette gjelder særlig for cTnT, som ofte er kraftigere forhøyet enn cTnI (13). Selv om forhøyet cTn-nivå er en spesifikk markør for myokardskade, vil høy prevalens av kronisk forhøyede cTn-verdier hos nyrepasientene redusere spesifisiteten for diagnostiseringen av akutt hjerteinfarkt. Det er derfor viktig at klinikerne rekvirerer cTn-analyser kun når det er kliniske indikasjoner på at pasienten bør testes for akutt hjerteinfarkt. En seriell testing kan skille kroniske forhøyede verdier og akutte forhøyede verdier (29). Studier tyder på at serielle endringer i cTn-nivåer er like effektive for å diagnostisere akutt hjerteinfarkt hos pasienter med kronisk nyresykdom og pasienter med normal nyrefunksjon (13).

1.7 Pasientnær analyse av troponiner

Pasientnær analysering (PNA) er laboratorietesting som blir utført av helsepersonell nær pasienten (30). Bærbare PNA-instrumenter er instrumenter som er godt egnet for pasientnær analysering da de lett kan transporteres dit det er behov og inneholder ofte en intern strømforsyning eller et oppladbart batteri (23). Fordelene ved bruk av pasientnær analyse av troponiner er at resultatene leveres raskt og direkte til klinikerens som er ansvarlig for pasientbehandlingen. Analyseringen foregår nær pasienten uten behov for overføring av prøver eller prøvesvar, noe som gjør det mulig å utføre analyser i primære helsetjenester og ambulanser. Som et resultat av dette forventes det at beslutninger og behandling gjøres mer effektiv og at kvaliteten på pasientbehandlingen øker (31). En annen fordel er at PNA kan bidra til å skape et mer likestilt helsetilbud, uansett hvor pasienten befinner seg. PNA fører til at hjertepasienter i rurale områder, uten umiddelbar tilgang på høysensitive laboratorieanalyser, også har mulighet til å bli identifisert raskt (32). Tidligere vurderinger av pasientnære troponinanalyser har vært basert på evnen til å oppnå sammenlignbar diagnostikk for hjerteinfarkt i forhold til laboratorieanalyser hvor diagnosen baseres på påvisning av troponinnivå over 99-persentilen 3-6 timer etter presentasjon. Inntil nylig har ikke PNA-assayene på markedet vært konkurransedyktige mot de etablerte metodene på laboratoriene i spesialisthelsetjenesten når det gjelder riktighet og presisjon (33). PNA-cTn-assayene har blitt

omtalt som én stor gruppe av analyser med dårligere sensitivitet enn analysene på laboratorier i spesialisthelsetjenesten. I dag bør egenskapene til assayene i større grad bli studert individuelt, og nyere studier viser at situasjonen til PNA-analysene er forbedret (34).

1.8 Immunoassay

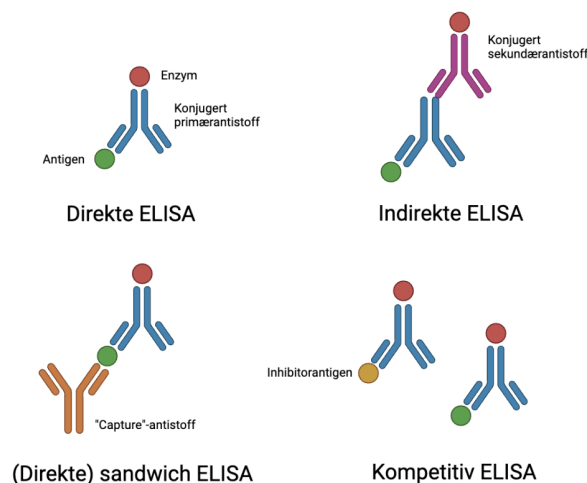
Immunoassay er en teknikk som anvendes for å måle mengden av en analytt (antigen) i en kompleks prøve ved bruk av antistoffer med spesifikk affinitet til analytten (35). Antistoffene som benyttes er som oftest IgG (Immunglobulin G), hvor den variable aminosyresekvensen er ulik etter hvilken antigenepitop antistoffet er spesifikk for. Det kan benyttes både polyklonale og monoklonale antistoffer, avhengig av hvilken analysemetode som benyttes (8). Prinsippet i testmetoden utnytter kompleksdannelsen som oppstår når antigen og antistoff kommer i kontakt med hverandre (35). Den immunologiske reaksjonen kan ofte gi stabil kompleksdannelse og synlige produkter i form av agglutinasjon eller presipitasjon, men i mange tilfeller er ikke kompleksdannelsen detekterbar i seg selv da en del reaksjoner ikke vil gi direkte synlige produkter. I slike situasjoner er det nødvendig med markører for å skape en deteksjonsreaksjon og en indirekte måling av analytten (36). Det finnes mange ulike markører som kan brukes i immunoassays for å produsere et målbart signal. Radioisotoper var de første markørene som ble benyttet ettersom disse ga høy sensitivitet. Senere ble bruk av radioaktive stoffer strammet inn, noe som ledet til bruk av andre markører som blant annet enzymer, fluorokromer og kjemilumineserende forbindelser (36). Enzymer er i dag mye brukt som markører (37).

Immunoassays kan inndeles i fire hovedgrupper avhengig av hvilken type markør som benyttes: Enzymimmunoassay, kromoimmunoassay, fluoroimmunoassay og radioimmunoassay. Betegnelsen “immunoassay” inkluderer alle analysetester som baseres på immunreaksjoner. “Immunosensor” brukes derimot for å beskrive hele instrumentet, og dekker alle immunreaksjonsbaserte biosensorer (37). I en immunosensor er den immunologiske reaksjonen koplet til en transducer som overfører energi fra én form til en annen, slik at den immunologiske reaksjonen som inntreffer konverteres til et målbart signal (38). Hvilken transducer som benyttes avhenger av hvilke typer fysiske eller kjemiske endringer som oppstår i reaksjonen (39). For eksempel kan det dannes produkter som kan detekteres optisk, eller reaksjoner som genererer målbare elektriske signaler, varme eller masse. Enzymbaserte biosensorer som baseres på elektrokjemiske transducere er de vanligste å bruke for kliniske analyser (8). Dette er fordi immunosensorer med elektrokjemiske transducere har fordeler som at de er

mikrofabrikerbare, har høy selektivitet og sensitivitet, og er billige å produsere (38). De er også robuste, jobber raskt og krever kun små analyttvolum (36).

1.8.1 Enzyme-linked immunosorbent Assays (ELISA)

ELISA er en type enzymimmunoassay som ble utviklet på 1960-tallet som en modifikasjon av radioimmunoassayet (35,40). Det finnes flere varianter av ELISA, men felles for alle er at metoden oftest er heterogen og at et antigen immobiliseres. Antigenet immobiliseres enten ved å bli adsorbent direkte til en fast fase (vanligvis polystyren mikrotiterplate), eller indirekte ved at det blir «fanget» av antistoffer som er bundet til den faste fasen. Generelt er metoden svært sensitiv og brukes til å detektere og kvantitere analytter som antigener, antistoffer, glykoproteiner, hormoner og andre proteiner (40). Selv om det finnes mange ulike varianter av ELISA, betegnes de fire hovedtypene som direkte, indirekte, sandwich og kompetitiv ELISA (40). En skisse over prinsippet for hvordan de ulike ELISA-variantene kan se ut er vist i Figur 1.8. Hvilke enzymer og substrater som benyttes varierer etter hvilken deteksjonsmetode som er tilgjengelig i instrumentet og hvilke krav det er til sensitivitet (41). Likevel er enzymer som alkalisk fosfatase (ALP) og horseradish peroxidase (HRP) vanlige å finne som markører i ELISA. Tradisjonelt sett har ELISA vært basert på optiske målinger, men de siste årene har elektrokjemisk deteksjon stadig blitt mer populær som følge av de mange fordelene elektrokjemiske immunosensorer har (42).



Figur 1.8: ELISA har fire hovedtyper: Direkte, indirekte, sandwich og kompetitiv ELISA. Det finnes også ulike varianter av disse. Indirekte ELISA benytter seg av, i forskjell fra direkte ELISA, et sekundært konjugert antistoff (43).

1.9 Statistiske beregninger

Statistiske beregninger benyttes gjerne i forbindelse med en metodesammenligning eller en metodevalidering for å vurdere en metodes kvalitet. Aktuelle tallmaterialer som forekommer etter analysing benyttes i ulike statistiske beregninger som kan si noe om systematiske avvik fra resultatet. Kvaliteten av en analyse bestemmes av metodens riktighet og presisjon. For at en metode skal ha god analysekvalitet bør avviket mellom måleresultatet og den sanne verdien være så lavt som mulig (44).

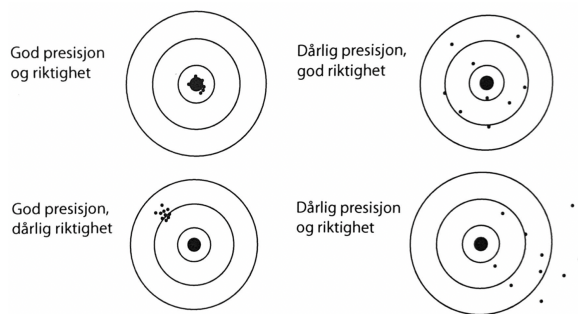
1.9.1 Riktighet

Riktighet (accuracy) er definert som grad av overensstemmelse mellom måleresultatet og den sanne konsentrasjonen av analytten (8). Tilfeldig variasjon vil påvirke alle analyser og føre til at resultatene av repeterte målinger fordeler seg rundt et gjennomsnitt. En metodes riktighet er samsvaret mellom gjennomsnittet av gjentatte målinger i samme prøvemateriale og den sanne verdien for analytten. Avvik mellom disse verdiene kan kvantiteres som uriktighet eller systematisk feil. Dersom analyseresultatene trekkes i én bestemt retning er det en systematisk feil. Analysemetodens riktighet vil avhenge av kalibratoren som definerer forholdet mellom analyttens konsentrasjon og målesignal. Riktigheten til metoden kan undersøkes gjennom en metodesammenligning mellom en testmetode og en referansem metode, som antas å måle helt riktig. Resultatene fra de to metodene sammenlignes og det gjøres en vurdering av om gjennomsnittene samsvarer. Gjennomsnittsverdien vil bygge på et begrenset antall målinger og er derfor kun et estimat for den egentlige gjennomsnittsverdien fra et uendelig stort antall målinger. Flere målinger vil redusere usikkerheten rundt estimatet. Et konfidensintervall (KI) benyttes for å beskrive det usikre området rundt resultatet. Det forventes at et 95 % KI inkluderer den faktiske gjennomsnittsverdien i 95 av 100 forsøk (44).

1.9.2 Presisjon

Presisjon er et mål for analysemetodens tilfeldige variasjon, og defineres som samsvaret mellom gjentatte målinger. Resultatens variasjon kan beregnes som et standardavvik eller en variasjonskoeffisient, slik at det er mulig å tallfeste metodens upresisjon og vurdere tilfeldige feil. En rask vurdering av en metodens presisjon kan gjøres ved å analysere 20 paralleller av en prøve innen et kort tidsrom, og deretter vurdere standardavvik og variasjonskoeffisient. Upresisjon beregnet over et kort tidsrom vil ikke representere upresisjonen til praktisk bruk av analysemetoden. Det skilles derfor mellom repeterbarhet og reproduserbarhet. Repeterbarhet er

metodens upresisjon målt ved konstante betingelser, mens reproduserbarhet er metodens upresisjon ved ulike målebetingelser. Repeterbarhet og reproduserbarhet kan også refereres til som innen-serie-presisjon og mellom-serie-presisjon. Ved vurdering av repeterbarhet undersøkes samsvar mellom gjentatte målinger gjort under like målebetingelser (44). Figur 1.9 viser sammenhengen mellom riktighet og presisjon



Figur 1. 9 Sammenheng mellom riktighet og presisjon (44).

1.9.3 Metodesammenligning

En metodesammenligning benyttes for å undersøke om to metoder gir systematisk forskjellig svar. Ved en metodevalidering kan det være aktuelt å foreta en metodesammenligning for å finne ut om én metode kan erstatte den andre. Dette kan undersøkes ved å analysere pasientprøver med begge metodene og se på differansen mellom resultatene i hver prøveparallell. Differansene kan deretter benyttes for å vurdere om målemetodene gir systematisk forskjellig resultat. Metodesammenligningen bør utføres med minst 20-40 prøver fra hele det aktuelle måleområdet, og spesielt rundt den kliniske beslutningsgrensen (44).

1.9.4 Regresjonsanalyse

En regresjonsanalyse utføres for å beskrive den gjennomsnittlige sammenhengen mellom de korresponderende måleresultatene ved hjelp av en rett linje. Ved en lineær regresjonsanalyse forutsettes det at referansemetoden ikke har noe måleusikkerhet, og det forventes at alle feil ligger i y-verdiene (testmetoden). Regresjonsligningen vil beskrive regresjonslinjen og hvordan en y-verdi kan beregnes ut fra en x-verdi. Det er på denne måten mulig å forutsi resultatet for testmetoden ved hjelp av verdien fra referansemetoden. En lineær regresjon gir en rett linje med formelen:

$$(1) y = a * x + b$$

(1) Formel 1: Formelen for en rett linje ved regresjon

Stigningstallet a (*slope*) og konstantleddet b (*intercept*) vil henholdsvis være: $a = 1$ og $b = 0$ dersom metodene er like. Regresjonsligningen er et estimat av den gjennomsnittlige sammenhengen mellom metodene, noe som betyr at konstantene a og b er usikre. Det er kun mulig å fastslå med sikkerhet at metodene måler ulikt når det er vist at $a \neq 1$ og $b \neq 0$. For å bestemme konstantenes usikkerhet benyttes et konfidensintervall. Dersom verdien 1 ikke befinner seg i konfidensintervallet for a , mistenkes et proporsjonalt avvik mellom metodene. Et konstant avvik mellom metodene kan mistenkes dersom konfidensintervallet for b ikke omfatter 0 (44).

En Passing-Bablok-regresjonsanalyse er en ikke-parametrisk regresjonsanalyse. Den forutsetter ikke at y -verdiene er normalfordelt rundt regresjonslinjen med samme standardavvik i alle nivå. Metoden er mer robust mot slengere og tar hensyn til måleusikkerheten i både x - og y -verdier. Den er derimot mindre presis når det gjelder beregning av regresjonsligningen, og kan ikke benyttes dersom sammenhengen mellom x - og y -verdiene ikke er rettlinjet (44). Et kumulativsum-diagram eller cusum omtales gjerne som et diagram over innstillingsfeilen. Ideen er å samle alle avvik fra den forventningsverdien analysen har når den er stabil. Diagrammet kan benyttes ved bruk av stikkprøver eller ved en kontinuerlig måling av analyseprosessen. Ifølge Løvås er testens feilsannsynlighet eller p -verdi "*sannsynligheten for å få et resultat som er minst like mye i favør av H_1 som det observerte resultatet, dersom H_0 er riktig*". H_0 er nullhypotesen og H_1 er en alternativ hypotese. Liten p -verdi ($< \alpha$ -verdien) vil bety at det er liten sannsynlighet for å gjøre feil hvis nullhypotesen forkastes. Høy p -verdi ($> \alpha$ -verdien) betyr at det er stor sannsynlighet for å gjøre feil dersom nullhypotesen forkastes. Hvor α -verdien vil være testens signifikansnivå (45).

1.10 Hensikt og problemstilling

Årlig oppsøker mange pasienter helsetjenesten grunnet akutte brystmerter. Siden et mindretall av pasientene med akutte brystmerter har hjerteinfarkt, er rask diagnostisering avgjørende for effektiv behandling. Ambulansepersonell og helsepersonell i primærhelsetjenesten benytter nå EKG for å skille ut STEMI-pasientene slik at disse sendes direkte til invasiv trombefjerning. NSTEMI-pasientene er vanskeligere å identifisere ved av EKG og det er derfor mer utfordrende å gi rask behandling til disse pasientene. I 2021 var 73 % av alle registrerte akutte hjerteinfarkt i Norge av typen NSTEMI. Disse har, i likhet med STEMI-pasientene, nytte av at tromben fjernes raskt (3,17). Tidlig måling av hjertespesifikk troponin, cTnI eller cTnT, kan da være til

hjelp for å avdekke NSTEMI-pasienter. I dag gjøres de fleste troponinanalysene sentralt ved laboratorier på sykehusene, noe som betyr at pasienten må ankomme spesialisthelsetjenesten før analysen kan gjøres. Disse minuttene kan være kritiske for pasienter med akutt hjerteinfarkt. Behovet for rask diagnostisering og behandling har derfor gjort pasientnære analyser av troponiner høyst aktuelle. Hensikten med oppgaven er derfor å undersøke analysekvaliteten og egenskapene til det pasientnære instrumentet Abbott i-STAT1. Dersom kvaliteten på instrumentet er god, kan det være aktuelt å gjennomføre en ny studie for å undersøke om instrumentet potensielt kan bli implementert i ambulansetjenesten og andre helsetjenester.

Problemstillinger:

- *Vil metodesammenligningen bekrefte at den kliniske beslutningsgrensen for cTnI (metodens oppgitte 99-persentil) samsvarer med beslutningsgrensen for cTnT, og er presisjonen god nok for klinisk bruk?*
- *Hvordan fungerer Abbott i-STAT1 under praktiske forhold, og er brukervennligheten god nok til bruk i ambulansetjenesten?*

2. Materiale og metode

Instrumentet som ble brukt i prosjektet var i-STAT1 fra Abbott Laboratories. Analyseringen av pasientprøvene ble utført ved studentlaboratoriene (LK23) på Laboratoriesenteret på St. Olavs hospital i Trondheim. Det ble utført en metodesammenligning, en presisjonsanalyse og en brukervennlighetsundersøkelse av instrumentet. Metodesammenligningen var mellom metoden Elecsys Troponin T hs på Cobas 8000 e602 (referansem metode) og cTnI på Abbott i-STAT1 (testmetode). Underveis i prosjektet ble pasientprøver analysert i en ambulanse for å undersøke den praktiske egnetheten til instrumentet.

2.1 Prøvemateriale

Ved analyse av troponin I på i-STAT1 er det mulig å benytte både fullblod og plasma (46). I dette prosjektet ble det benyttet pasientprøver av heparinplasma, men ved en eventuell implementering av analysen i ambulansetjenesten vil prøvematerialet være av fullblod. I Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi er holdbarheten til troponin I i heparinplasma oppgitt til “noen timer i romtemperatur“ (47). Prøvene som ble benyttet i prosjektet var derfor dagsferske pasientprøver, plukket ut og aidentifisert av bioingeniører ved Avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital i Trondheim. Prøvene var allerede analyserte med referansem metoden (Elecsys Troponin T hs på Cobas 8000 e602). På grunn av prøvenes aidentifisering ble det ikke sendt inn søknad til Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK). Prøvene hadde oppgitte cTnT-verdier jevnt fordelt fra 7,82 ng/L til 548,7 ng/L. Prøvene som ble plukket ut kunne være fra både STEMI- og NSTEMI-pasienter, men også fra pasienter uten akutt hjerteinfarkt. Det var ikke oppgitt alder, kjønn, prøvetakingstidspunkt eller tidspunkt for symptomutbrudd på hjerteinfarkt for de utplukkede prøvene. Det var heller ikke opplyst om analyttene hadde en nedadgående eller oppadgående trend hos pasienten, eller om pasienten hadde kronisk nyresykdom eller andre tilstander som kan påvirke pasientens troponinkonsentrasjon. Det ble ikke tatt hensyn til disse tilstandene i metodesammenligningen. Før analyseringen av prøvene ble det notert hemolyse for de prøvene hvor dette ble observert.

2.2 Kalibrator

En standardisering av sensorene i kassetten ble utført av produsenten. I denne prosessen ble det utledet en flerpunktskalibreringskurve for hver av sensorene. Dette er stabile kalibreringskurver

som kun krever større justeringer ved produksjonsendringer av testkassett eller når i-STAT-systemet har avvikende resultater fra større laboratoriemetoder. Koeffisientene til kurven er definert i standardiseringsprogramvaren CLEW, som må installeres på analysatoren av bruker. Dette ble gjort av bioingeniører før prosjektstart. Det er behov for jevnlig oppdateringer av CLEW-programvaren siden leverandøren stadig utvikler og forbedrer sine produksjonsprosesser for i-STAT1-analysatoren. Installasjon av disse oppdateringene er derfor nødvendige for å hindre at endringer i produksjonen skal påvirke prøveresultatene, og for at analysatoren skal ha stabil ytelse over tid. Programvaren oppdateres hver 6. måned. På displayet på analysatoren, under “Analyzer Status”, er det mulig å se hvilken versjon av standardiseringskurven som er installert på analysatoren gjennom CLEW (48). Analysatoren som ble brukt i dette prosjektet hadde CLEW-programvaren A45.

2.3 Kontroll

Det ble analysert og godkjent kontroller i tre ulike konsentrasjonsnivåer før analysering av pasientprøvene. En oversikt over de tre kontrollene med tilhørende fasitverdier er vist i Tabell 2.1.

Tabell 2.1: Oversikt over kontroller som ble brukt i prosjektet. Verdiene er hentet fra Vedlegg 1.

ID	Lot QC	Fasitverdi (ng/mL)
i-STAT cTnI Level 1 Control B	011160	0,50
i-STAT cTnI Level 2 Control B	021160	2,58
i-STAT cTnI Level 3 Control B	031164	23,01

Alle trinn i testsyklusen ble kontrollert automatisk av instrumentet. Dette inkluderte væskebevegelse, reagensblanding, termisk kontroll og kalibrering. Ved avvik eller feil ga instrumentet ut feilmeldinger som kunne slås opp i brukermanualen (48).

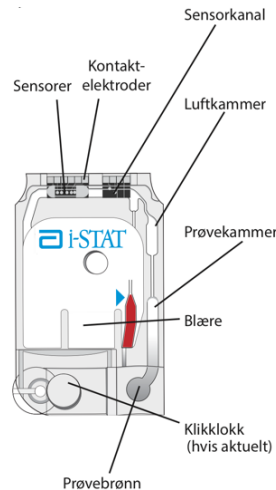
2.4 Testmetode

Testmetoden ble utført på det pasientnære instrumentet i-STAT1 fra Abbott Laboratories (Figur 2.1). i-STAT1 er et lite bærbart instrument med mulighet for bruk av oppladbare batterier fra produsenten (48). I dette prosjektet ble det først brukt oppladbare batterier (ikke fra produsent),

men etter hvert ble disse erstattet med ikke-oppladbare 9-volts batterier. Instrumentet er kassettbasert, og spesifikke engangskassetter er produsert for ulike analyser. Det ble benyttet i-STAT-cTnI-testkassetter i dette prosjektet. Figur 2.2 viser hvordan en Abbott i-STAT1 testkassett ser ut. Disse kassetten inneholder alle nødvendige reagenser for å analysere troponin I. Tabell 2.2 viser en oversikt over de reaktive ingrediensene i en i-STAT-cTnI-testkassett (46,48).



Figur 2.1: i-STAT1-analysator (48).



Figur 2.2: i-STAT1 testkassett (48).

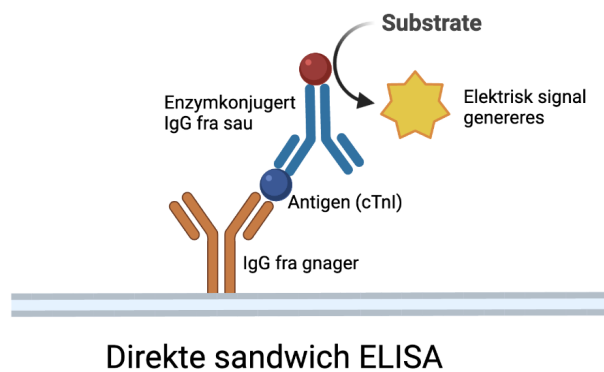
Tabell 2.2: Oversikt over reaktive ingredienser i testkassetten for troponin I (46).

Reaktiv ingrediens	Biologisk kilde	Minimumsmengde
Antistoff med alkalisk fosfatasekonjugat (ALP)	Sauetarm	0,003 µg
IgG	Gnager	8 µg
Natriumaminofenylfosfat	—	0,9 mg
Heparin	Svinetarm	0,45 IU
IgM	Gnager	0,3 µg

I testkassettenes prøvebrønn ble det avsatt 20 µL pasientprøve med en automatpipette (2-20 µL), slik at hele prøvekammeret ble fylt opp. Volumet som ble avsatt ble bestemt ettersom instrumentet krever 17 µL prøvemateriale per analyse. Et klikkløkk ble deretter skjøvet over prøvebrønnen for å beskytte prøven mot luft. Dette er nødvendig for å sikre at prøven forblir i

testkassetten under hele testsyklusen, og for at væskebevegelsen føres riktig. En luftventil under kassetten sørger for føring av prøven gjennom systemet og over sensorene. Sensorene, som er mikrofabrikerte tynnfilmelektroder på silikonbrikker, måler signalet som dannes som følge av analyttkonsentrasjonen. Analysatoren bruker 10 minutter til analyse før resultatet blir tilgjengelig på displayet (48).

Testmetoden i kassetten er basert på en direkte ELISA-sandwich-metode med elektrokjemisk (amperometrisk) deteksjon og ALP som enzymmarkør (46). Sandwich-assay er et eksempel på en såkalt “two-site-analyse”, hvor det benyttes to antistoffer som begge er spesifikke for det samme antigenet, men for to ulike epitoper. Dette danner en sandwich-formasjon. Siden det er to antistoffer som bindes til samme antigen, vil dette øke spesifisiteten til analysen sammenlignet med «one-site»-analyser, hvor bare ett antistoff bindes til antigenet (35). I testkassetten er anti-cTnI fra gnager adsorbent til den elektrokjemiske sensoren. Et annet antistoff, som er konjugert med ALP, er også avsatt på sensoren. Dette antistoffet er også et anti-cTnI, men kommer fra sau og er spesifikt for en annen antigenepitop. Når prøven kommer i kontakt med sensorene vil det konjugerte antistoffet, i motsetning til antistoffet som er adsorbent til sensoren, løses opp i prøven og komme i kontakt med antigenet/analytten. cTnI blir på denne måten markert med enzymet ALP. Immunkomplekset som dannes kan deretter fanges av antistoffene som er adsorbent på sensoren, og forme en sandwich-formasjon (46). Dette er vist i Figur 2.3. Immunreaksjonen i testkassetten følges av en redoksreaksjon som katalyseres av markøren (her: ALP) på det konjugerte antistoffet. Redoksreaksjonen oppstår når sensorene vaskes med vaskeløsningen, som inneholder et substrat for ALP. ALP spalter substratet, noe som genererer strøm. Strømmen som genereres fra redoksreaksjonen detekteres deretter av en elektrokjemisk (amperometrisk) immunosensor (46). Amperometriske immunosensorer er en av de mest populære immunosensorene i kliniske analyser (42). Strømsignalet som dannes forsterkes og omgjøres slik at signalet kan beregnes av instrumentet. Riktig analyttkonsentrasjon beregnes ut fra den nedlastede kalibreringskurven (48). Det elektriske signalet som dannes er proporsjonalt med cTnI-konsentrasjonen i prøven (46). En illustrasjon av sandwich-formasjonen og generering av det elektriske signalet som skjer i cTnI-kassetten er vist i Figur 2.3.



Figur 2.3: *i-STAT cTnI* baseres på en direkte sandwich ELISA. De elektrokjemiske sensorene er adsorbent med anti-cTnI (oransje). Antigenet (cTnI) i prøven bindes til oppløste enzymkonjugerte anti-cTnI (blå), før det så “fanges” av de adsorberte antistoffene og gir sandwich-formasjon. Når substratet tilsettes katalyserer enzymet ALP (rød) en redoksreaksjon som spalter substratet og generer strøm. Det genererte elektriske signalet måles og er proporsjonalt med cTnI-konsentrasjonen i prøven (43).

Testmetodens oppgitte referanseområde er 0,00 ng/mL til 0,08 ng/mL. Referanseområdet er basert på fullblods- og plasmaprøver fra 162 tilsynelatende friske givere, og cTnI-nivået 0,08 ng/mL (80,0 ng/L) er produsentens etablerte 99-persentil. Denne 99-persentilen benyttes som klinisk beslutningsgrense for metoden (46).

2.5 Referansemetode

Referansemetoden som ble benyttet i prosjektet var Elecsys Troponin T hs, utført på Cobas 8000 e602-modulen fra Roche Diagnostics (Figur 2.4). Denne ble valgt fordi den brukes rutinemessig for å diagnostisere akutte hjerteinfarkt ved St. Olavs hospital i dag. Metoden er en immunologisk metode hvor to monoklonale antistoffer bindes til cTnT og danner et sandwich-kompleks. Det ene antistoffet er merket med et stoff som genererer elektrokjemiluminescens som kan detekteres. Signalstyrken som detekteres er proporsjonal med konsentrasjon av cTnT i prøven. Analysen gir resultat etter 18 minutter (45).



Figur 2.4: Referansemetoden ble utført på det fullautomatiserte immunologiske analyseinstrumentet Cobas 8000 e602 (50).

Referansemetodens oppgitte referanseområde $\leq 14,0$ ng/L. Referanseområdet er basert på prøver fra 533 tilsynelatende friske givere, og cTnT-nivået 14,0 ng/L er produsentens etablerte 99-persentil. Denne 99-persentilen benyttes som klinisk beslutningsgrense for referansemetoden (49).

2.6 Testmetodens begrensninger

En viktig begrensning ved testmetoden er at den måler en annen analytt enn referansemetoden. Testmetoden detekterer og påviser analytten troponin I, ikke troponin T, som er analytten i referansemetoden. Resultatene fra metodene vil generelt sett ikke være direkte sammenlignbare ettersom cTnI og cTnT er ulike molekyler (46). Likevel ble det i dette prosjektet gjennomført en metodesammenligning mellom de aktuelle metodene. Av hensyn til begrensningen har fokuset i metodesammenligningen vært å undersøke om metodenes respektive kliniske beslutningsgrenser skiller positive og negative prøvesvar på samme måte. Det ble ikke utført en direkte sammenligning av cTnT- og cTnI-verdier.

Det er oppgitt flere begrensninger i testmetodens pakningsvedlegg og instrumentets brukermanual. Dette er begrensninger som omhandler koagulasjon, hemolyse, oppbevaring av testkassetter, temperatur, og vibrasjoner under analysering (46,48). Delvis koagulerte prøver kan føre til forhøyede prøveresultater og feil i kvalitetskontrollen. I tillegg er det vist at svært hemolyserte prøver kan føre til redusert påvisning av cTnI på grunn av redusert aktivitet av enzymet ALP (46). Det beste resultatet oppnås når kontrolløsning, kassetter og analysator har samme temperatur (48). Under testing er det viktig at instrumentet forblir på en jevn overflate med skjermen vendt opp fordi vibrasjoner og bevegelse kan øke frekvensen av falskt for lave resultater og kvalitetskontroller (46). I tillegg oppgir brukermanualen at testtidspunktet for troponin I med i-STAT1 bør være innen 30 minutter etter prøvetaking (48). På bakgrunn av de oppgitte begrensningene, stod instrumentet flatt og i ro på laboratoriebenken under alle analyseringene i metodesammenligningen og presisjonsanalysen. Under testingen i ambulansen var vibrasjon og temperaturendring faktorer som ble undersøkt i vurderingen av instrumentets brukervennlighet. Prosedyren som ble fulgt for prøvehåndtering og analysering av prøvene er beskrevet i Vedlegg 2. Alle resultatene fra prøver med synlig hemolyse ble merket, mens problemer knyttet til koagulasjon ikke ble tatt hensyn til da prøvene i eksperimentet var av typen heparinplasma. På grunn av begrensede ressurser for prosjektet var det kun et nødvendig antall testkassetter tilgjengelig for hele undersøkelsen. Ved kassettfeil ble derfor ikke prøvene

analyserte på nytt. Både testkassett, pasientprøve og analysator var romtemperert før analyseringene på laboratoriet. Det var ikke oppgitt eksakt prøvetakingstidspunkt for prøvene, kun at de var dagsferske.

Metodens analytiske sensitivitet er oppgitt til 0,02 ng/mL (20 ng/L). Dette er den laveste cTnI-konsentrasjonen som kan skilles fra null, og analyseresultater under denne verdien er usikre. Instrumentet rapporterer cTnI-resultater i området 0,00 ng/mL til 50,00 ng/mL (46). I metodesammenligningen i dette prosjektet ble det benyttet prøveresultater også under metodens analytiske sensitivitetsgrense.

2.7 Metodesammenligning

Metodesammenligningen ble utført ved analyse av 44 prøver over 6 dager. Prøvene ble plukket ut fra hele det aktuelle måleområdet, med cTnT-verdi fra 7,82 ng/L til 548,7 ng/L. Det ble utført en logaritmisk transformasjon av 42 av prøveresultatene for å tillate bruk av Passing-Bablok regresjon. En Passing-Bablok-regresjon ble utført ved hjelp av programmodulen «agree» i programpakken Stata, versjon 17 (StataCorp, College Station, Texas, USA). Programmet utførte også en kusumtest for den lineære sammenhengen. Stata ble også brukt til å lage to grafiske fremstillinger av resultatene fra regresjonen: Den ene med logaritmiske data og den andre i opprinnelig måleskala. Hemolyserte prøver ble markert som røde punkter i fremstillingene. Den matematiske sammenhengen mellom ligningene til kurvene i de grafiske fremstillingene er vist i Vedlegg 3.

Riktigheten til testmetoden ble først og fremst vurdert etter om metoden ga samme diagnose som referansemetoden, ettersom prosjektets problemstilling handlet om å undersøke om Abbott i-STAT1 kan benyttes i diagnostiseringen av hjerteinfarkt i ambulansetjenesten eller andre helsetjenester. For å skille mellom positive og negative prøvesvar ble metodenes respektive 99-persentiler benyttet som kliniske beslutningsgrenser (14,0 ng/L for referansemetoden og 80,0 ng/L for testmetoden). I den forbindelse, og med bakgrunn i funn fra andre studier, ble det også undersøkt om uoverensstemmelser mellom testmetode og referansemetode ble forandret ved å benytte alternative kliniske beslutningsgrenser. Den alternative kliniske beslutningsgrensen ble økt til 28,0 ng/mL for referansemetoden (hs-cTnT) og redusert til 40,0 ng/mL for testmetoden (cTnI).

Sammenhengen mellom beslutningsgrensene og den kliniske sensitiviteten for de to metodene ble også undersøkt matematisk ved hjelp av de kalkulerte regresjonsligningene. Ved hjelp av matematisk beregning ble det undersøkt teoretisk hvilken cTnI-verdi den kliniske beslutningsgrensen for cTnT (14,0 ng/mL) ville gitt. Den matematiske beregningen som ble gjort er vist i Vedlegg 3.

2.8 Presisjonsanalyse

Presisjonsanalysen ble utført ved å analysere 20 paralleller av en pasientprøve med cTnT-konsentrasjon lik 44,64 ng/L. Konsentrasjonen ble plukket ut på bakgrunn av resultatene fra metodesammenligningen da denne konsentrasjonen så ut til å omtrent samsvare med 99-persentilen til cTnI-metoden på i-STAT1. Fasitverdi for cTnI i prøven var ikke tilgjengelig da testmetode og referansemåte målte ulike analytter. Presisjonsanalysen ble gjennomført i løpet av 4 timer, og gjennomsnitt, variasjonskoeffisient og standardavvik ble beregnet ved hjelp av Excel. Det ble også beregnet 90 % konfidensintervall for disse størrelsene. Repeterbarheten til instrumentet ble vurdert på grunnlag av de beregnede presisjonsparameterne.

2.9 Brukervennlighet i ambulansen

Det ble analysert sju pasientprøver i en ambulans under ulike forhold for å undersøke hvordan instrumentet reagerer på temperatursvingninger og bevegelser under analysering. Rådata er presentert i Vedlegg 4. I tillegg ble brukervennligheten til instrumentet vurdert kvalitativt med tanke på praktiske forhold som plass, pipettering, tidsbruk og batterikapasitet. De samme prøvene ble også analysert inne på laboratoriet med samme forhold som beskrevet for metodesammenligningen og presisjonsanalysen. Ut fra resultatene ble det beregnet gjennomsnitt og prosentavvik mellom prøveparallellene for å vurdere eventuell forskjell mellom analyse under normale forhold på laboratoriet og analyse i ambulansen under ulike forhold. Tabell 2.3 nedenfor viser hvilke prøver som ble analysert og de ulike analyseforholdene.

Tabell 2.3: Tabellen viser hvilke prøver som ble analysert under ulike analyseforhold.

Prøve nr.	Analyseforhold i ambulansen
11	Stillestående med motor i gang, 21 °C
12	Kjørende, 21 °C
13	Stillestående nedkjølt ambulanse, 1 °C utenfor
14	Under oppvarming av ambulanse, kjørende
15	Stillestående med motor i gang, 21 °C
16	Under kjøring i ladestasjon, 21 °C
17	Under oppvarming av ambulanse, kjørende, 14 °C innendørs

3. Resultater

Gjennom arbeidet med oppgaven ble det utført en metodesammenligning, en presisjonsanalyse og en brukervennlighetsundersøkelse av testinstrumentet for å undersøke analysekvalitet og egenskaper til instrumentet. Kalibreringen var godkjent før oppstart. Statistiske beregninger og Passing-Bablok-regresjon ble utført på bakgrunn av genererte tallmaterialer.

3.1 Kontroller

Tre kontroller i ulike konsentrasjonsnivåer ble analyserte før analysering av pasientprøvene for å sikre pålitelige prøvesvar. Alle de tre kontrollene ble godkjente siden resultatene var innenfor produsentens oppgitte kontrollgrenseverdier. Kontrollresultatene er presentert i Tabell 3.1.

Tabell 3.1: Analysering av kvalitetskontroller i tre ulike konsentrasjonsnivå. Kontrollene ble analysert 15.mars 2023. Kontrollenes grense- og fasitverdier er oppgitt fra produsent (Vedlegg 1).

ID	Lot QC	Lot testkassett	Fasitverdi (ng/mL)	Grenseverdier (ng/mL)	Målt verdi (ng/mL)
i-STAT cTnI Level 1 Control B	011160	B22304	0,50	0,35-0,65	0,44
i-STAT cTnI Level 2 Control B	021160	B22304	2,58	1,81-3,35	2.6
i-STAT cTnI Level 3 Control B	031164	B22304	23,01	12,66-33,36	23,47

3.2 Metodesammenligning

Metodesammenligningen har som hensikt å avgjøre om den gjennomsnittlige sammenhengen mellom referanse- og testmetode indikerer samsvar mellom metodenes oppgitte 99-persentiler. Metodesammenligningen ble vurdert ut ifra det genererte tallmaterialet til 42 av de alt 44 prøvene som ble analyserte. Analysatoren til i-STAT1 meldte om kassettfeil under analyseringen av prøve nr. 29. Det ble derfor ikke generert analyseresultat fra denne prøven. Resultatet fra prøve nr.1 ble heller ikke tatt med i regresjonsanalysen i metodesammenligningen da cTnI-verdien viste 0, som ikke har definert logaritme. Rådata fra analyseringen er vist i

Vedlegg 5. En Passing-Bablok-regresjon ble utført basert på logaritmisk transformerte data fra cTnI- og cTnT-analysene. Data fra regresjonen er presentert i Figur 3.1.

```
Valid number of cases (listwise): 42

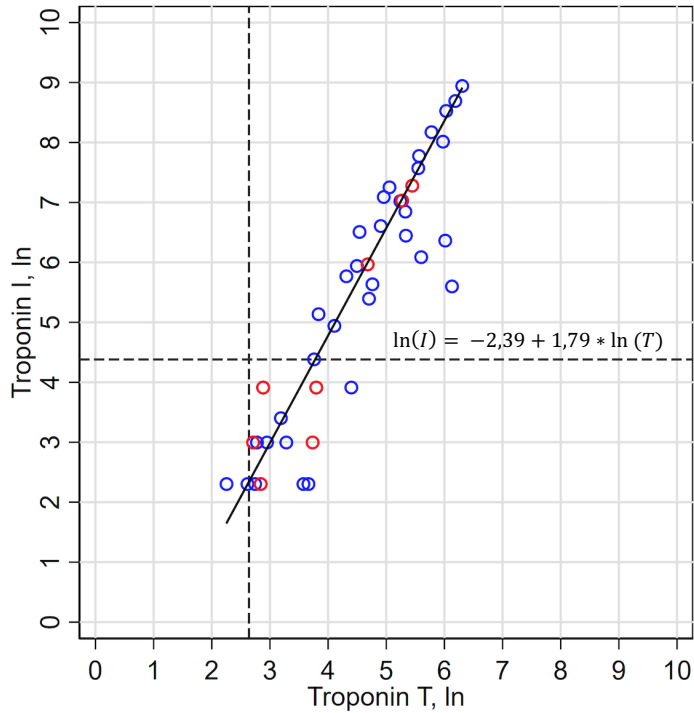
Passing-Bablok: Regression Line (Y = A + B*X)
-----
A = -2.386599 (95% CI: -3.335365 to -1.749576)
B = 1.791182 (95% CI: 1.640437 to 1.978342)
-----

Ties: 0 ties out of 861 slopes

CUSUM Test for deviation from linearity -----
Max(CUSUM)=          4  H= .852803  p > 0.20
```

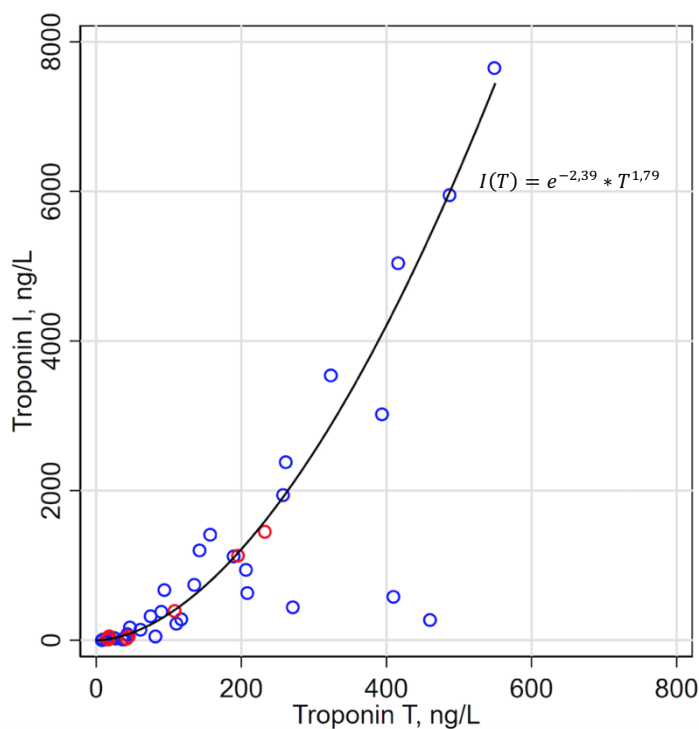
Figur 3. 1: Resultat fra Passing-Bablok-regresjon av log-transformerte data fra cTnI- og cTnT-analysene. Beregnet 95 % KI for stigningstallet b (slope) og konstantleddet a (intercept) er oppgitt i figuren. P-verdien for kusumtesten er over 0,20 og nullhypotesen om en rettlinjett sammenheng mellom de logaritmiske verdiene for de to metodene vil gjelde.

Passing-Bablok-regresjonen av de 42 prøveresultatene viser den lineære sammenhengen mellom metodene. P-verdien for kusumtesten indikerte at det var en rettlinjett sammenheng mellom metodene. Data fra regresjonen (Figur 3.1) viser de beregnede verdiene for stigningstallet b (slope) og konstantleddet a (intercept) og tilhørende 95% KI for verdiene. Konfidensintervallene for a og b antydte at var både et konstant og et proporsjonalt avvik mellom de logaritmiske verdiene for de to metodene fordi 95 % KI for b ikke inneholdt 1 og 95 % KI for a ikke inneholdt 0. Regresjonen viste på denne måten at metodene målte ulikt. En grafisk fremstilling av Passing-Bablok-regresjonen, som ble utført på bakgrunn av de naturlige logaritmene av prøveresultatene, er vist i Figur 3.2.



Figur 3.2: Grafisk fremstilling av Passing-Bablok-regresjon av log-transformerte data fra cTnI- og cTnT-analysene. De stiplede linjene representerer den naturlige logaritmen av de to metodene sine 99-persentiler slik de er oppgitt fra produsent: 80,0 ng/L for cTnI og 14,0 ng/L for cTnT (46,49). Observerte hemolyserte prøver er markert i rødt.

Punktene i kvadranten øverst til høyre viser de resultatene som var positive ut fra 99-persentilen til både troponin I og troponin T. Resultater som var positive for troponin T, men ikke troponin I kan sees i kvadranten nederst til høyre. Kvadranten nederst til venstre viser de resultatene som var negative for både troponin T og troponin I. Likningen fra Passing-Bablok-regresjonen ble omgjort matematisk fra logaritmisk til opprinnelig måleskala. Kurven for likningen med opprinnelig måleskala er vist i Figur 3.3.



Figur 3.3: Grafisk fremstilling av resultater fra Passing-Bablok-regresjon, hvor resultatene for cTnI og cTnT er i opprinnelig måleskala. Observerte hemolyserte prøver er markert i rødt.

Kurven i Figur 3.3 viser at det var en eksponentiell sammenheng mellom metodene for cTnI og cTnT i opprinnelig måleskala. Den krumme linjen går gjennom origo, og viser at troponin I hadde en større økning enn troponin T. Ut fra regresjonsligningen og den kliniske beslutningsgrensen (99-persentilen) til cTnT, ble også den kliniske sensitiviteten til testmetoden vurdert opp mot referansemetoden. Den teoretiske sammenhengen mellom den kliniske beslutningsgrensen for referansemetoden og testmetoden er presentert i Tabell 3.2.

Tabell 3.2 Resultater fra matematiske beregninger som viser teoretisk sammenheng mellom cTnT-verdi ved referansemetoden og cTnI-verdi ved testmetoden. Resultatet er basert på beregningene i Vedlegg 3.

Klinisk beslutningsgrense, cTnT (ng/L)	Teoretisk klinisk beslutningsgrense, cTnI (ng/L)
14,0	10,3

Ifølge resultatene i Tabell 3.2 ville testmetoden gitt samme kliniske sensitivitet som referansemetoden med en klinisk beslutningsgrense på 10,3 ng/L. Tabell 3.3 viser, i likhet med Figur 3.2, hvordan metodenes diagnostiske resultater samsvarte. Alle de 43 prøvene som ga et analysesvar ble benyttet i resultatvurderingen. Metodenes produsenter oppgir at 99-persentilen er 14,0 ng/L for referansemetoden (hs-cTnT) og 80,0 ng/L for testmetoden (cTnI). Verdier over

99-persentilene klassifiseres som positive resultater, mens verdier under klassifiseres som negative resultater (46,49). I prosjektet er det resultatene fra referansemetoden som anses som sanne.

Tabell 3.3 Oversikt over hvordan prøveresultatene fra Elecsys Troponin T hs på Cobas 8000 og cTnI på Abbott i-STAT1 samsvarer. Prøveresultatene er kategoriserte ut fra produsentenes kliniske beslutningsgrenser (99-persentilene: cTnT: 14,0 ng/L, cTnI: 80,0 ng/L) og alternative beslutningsgrenser (cTnT: 28,0 ng/L, cTnI: 40,0 ng/L).

	Produsentenes kliniske beslutningsgrenser cTnT: 14,0 ng/L cTnI: 80,0 ng/L		Alternative kliniske beslutningsgrenser cTnT: 28,0 ng/L, cTnI: 40,0 ng/L	
	Antall	Andel (%)	Antall	Andel (%)
Sanne negative prøver	3	7,0	10	23,3
Sanne positive prøver	27	62,8	29	67,4
Falskt negative prøver	13	30,2	3	7,0
Falskt positive prøver	0	0,0	1	2,3
Uoverensstemmende prøver	13	30,2	4	9,3

Tabell 3.3 viser at testmetoden hadde en dårligere klinisk sensitivitet enn referansemetoden ettersom andelen av falskt negative prøver var høy ved bruk av de opprinnelige kliniske beslutningsgrensene. Ved bruk av alternative kliniske beslutningsgrenser ble antall falskt negative prøver og uoverensstemmelser mellom referanse- og testmetode redusert. Antall falskt positive prøver fikk en liten økning. Det samme gjorde antall sanne positive prøver.

3.3 Presisjonsanalyse av i-STAT1

Presisjonsanalysen ble gjort for å undersøke instrumentets repeterbarhet. Rådata fra analyseringen kan sees i Vedlegg 6. Analysatoren til i-STAT1 meldte om kassettfeil under analyseringen på én av de 20 parallellene. Det ble derfor ikke generert analyseresultat fra denne parallellen, og resultatet ble beregnet ut ifra 19 paralleller. Det beregnede gjennomsnittet, standardavviket og variasjonskoeffisienten fra analysen, samt 90 % KI for alle størrelsene er vist i Tabell 3.4.

Tabell 3.4 Beregnede resultater fra presisjonsanalyse av troponin I med i-STAT1. Prøven hadde troponin T-konsentrasjon lik 44,64 ng/L.

	Resultat fra presisjonsanalyse	90 % konfidensintervall
Antall resultater	19	————
Gjennomsnitt (ng/mL) sjekk ut riktig benevning	0,200	0,198 - 0,211
Standardavvik (ng/mL)	0,016	0,013 - 0,022
Variasjonskoeffisient (%CV)	7,9	6,2 - 10,9

I sammenligningen mellom analyseresultatene opp mot 90 % KI for det beregnede gjennomsnittet ble det observert at flere av parallellene i presisjonsanalysen havnet utenfor 90 % KI. Det beregnede standardavviket i analysen var lavere enn produsentens oppgitte standardavvik på 0,04 ng/mL (som gjelder for kontrollen i nivå én) (46). Den beregnede variasjonskoeffisienten var svært lik oppgitt % CV for kontrollen i nivå én, som er på 7,8 % (46).

3.4 Brukervennlighet i ambulanse

Brukervennligheten ble undersøkt for å vurdere om instrumentet også fungerer under praktiske forhold i ambulansetjenesten. Av de sju prøvene som ble analysert i ambulansen ble det registrert resultater på kun fem prøver fordi prøve nummer 16 og 17 ga feilkode. I Tabell 3.5 sees resultatene fra analyseringen i ambulansen under ulike forhold, samt resultatene fra analyseringen av de samme prøvene på laboratoriet. Det ble gjort beregning av gjennomsnitt og prosentavvik mellom prøveparallellene for å undersøke forskjellen på resultat fra ulike analyseforhold.

Tabell 3.5: Analysering av prøveparalleller under normale forhold og under ulike forhold i ambulansen.

Prøvenr.	cTnI (ng/L) i ambulanse	cTnI (ng/L) på lab	Gjennomsnitt av cTnI mellom ambulanse og lab (ng/L)	%avvik mellom parallellene
11	620,0	630,0	625,0	1,6
12	20,0	20,0	20,0	0,0
13	5270,0	5040,0	5155,0	4,5
14	20,0	20,0	20,0	0,0
15	10,0	10,0	10,0	0,0
16	Feilkode grunnet lavt batterinivå	-	-	-
17	Feilkode grunnet lavt batterinivå	-	-	-

Det var ingen signifikant forskjell mellom resultatene fra analyseringen på laboratoriet og resultatene fra analyseringen i ambulansen. Prosentavvik mellom prøveparallellene var under 5,0 %, som benyttes som presisjonskrav på studentlaboratoriet.

I den kvalitative vurderingen av instrumentets brukervennlighet ble det observert at det var dårlig plass til instrumentet på den planlagte hylleplassen i ambulansen. Analysatoren måtte stå på tvers, uten ladestasjon, for å få plass i hylla. Kjøringen på ujevne veier førte til ristninger i ambulansen, og pipetteringen var utfordrende på grunn av plassmangelen og bevegelsene. I tillegg oppstod det problemer knyttet til batterikapasiteten da de oppladbare batteriene som ble benyttet ikke ville lades. Analysatoren meldte derfor om feilmeldinger grunnet lavt batterinivå under noen tester. De oppladbare batteriene måtte erstattes med ikke-oppladbare batterier, som ga feilmelding om lavt batterinivå etter 18 tester.

4. Diskusjon

Flesteparten av pasientene med akutt hjerteinfarkt gir EKG uten karakteristiske endringer, noe som gjør det utfordrende å diagnostisere disse pasientene uten blodprøve. Konsentrasjonsmåling av hjertespesifikk biomarkør er derfor særlig nyttig i identifiseringen av NSTEMI-pasientene. Tradisjonelt sett gjøres slike analyser ved laboratorier i spesialisthelsetjenesten, men en stadig forbedring av den analytiske presisjonen til pasientnære analyseinstrumenter har skapt et ønske om å implementere disse ute i ambulansetjenesten som et forsøk på å effektivisere behandlingen til de aktuelle pasientene (3,11,18). Ved å måle cTn-verdier pasientnært kan NSTEMI-pasientene identifiseres allerede før de ankommer sykehuset, noe som vil være en fordel for å minimalisere skadene i hjertevevet. Metodesammenligningen viste at de kliniske beslutningsgrensene ikke stemmer overens, og at cTnI på i-STAT1 hadde en dårligere klinisk sensitivitet enn referansemetoden. Den beregnede presisjonen var god nok for klinisk bruk, men instrumentet hadde flere utfordringer knyttet til brukervennlighet.

4.1 Metodesammenligning

Resultatene fra metodesammenligningen var basert på resultater fra 42 dagsferske pasientprøver av heparinplasma med cTnT-verdier spredt over hele det aktuelle måleområdet. Hvilket prøvemateriale som er best egnet for analyse av troponin I, kan diskuteres. I denne oppgaven ble det benyttet heparinisert plasma siden det benyttes som prøvemateriale i referansemetoden. En studie fra Istanbul Medical publisert i 2021, konkluderte med at EDTA-fullblod som prøvemateriale var å foretrekke for cTnI-måling siden troponin I er stabil i 48 timer (51). Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi oppgir derimot at holdbarheten til cTnI i heparinplasma kun er noen timer (47). I en studie av Chapelle et al., ble prøver av heparinisert fullblod og heparinplasma samlet inn fra 85 pasienter med mistanke om hjerteinfarkt, men ingen statistisk signifikant forskjell ble funnet mellom de to utvalgene. Likevel var det betydelige forskjeller mellom baseline (0-prøve), 4-, 6-, 12-, 24- og 48-timers målinger av heparinfullblod (31). I lys av disse holdbarhetsstudiene var det fornuftig å benytte dagsferske prøver for å sikre god stabilitet av troponin I. I tillegg oppgir instrumentets brukermanual at cTnI helst bør analyseres innen 30 minutter etter prøvetaking (48). For å bedre standardisering av metodesammenligningen ytterligere kunne prøvene blitt analysert direkte fra akuttmottaket, slik at prøvetakingstidspunktet hadde kommet nærmest mulig symptomutbruddet, og hindre eventuelle påvirkninger grunnet analyttstabilitet. I praksis hadde

dette vært svært utfordrende da det er lite plass i akuttmottaket og uforutsigbart når pasientene ankommer.

En Passing-Bablok-regresjon ble utført for å vurdere den lineære sammenhengen. Metoden er robust mot slengere og tar hensyn til måleusikkerheten i både x- og y-verdier. Det gjør metoden god i sammenligningsstudier av kliniske metoder. Metoden er derimot mindre presis når det kommer til beregning av regresjonsligningen, og kan ikke benyttes dersom sammenhengen mellom x- og y-verdiene ikke er rettlinjert (44). Sammenhengen mellom metodene var eksponentiell ved bruk av verdier med opprinnelig måleskala. Det var derfor nødvendig med en logaritmisk transformasjon av det genererte tallmaterialet før det kunne benyttes i Passing-Bablok-regresjonen. Regresjonen viste at det var en rettlinjert sammenheng mellom metodene fordi kusumtesten ga stor p-verdi ($> 0,20$). Programmet Stata brukte en nullhypotese om at sammenhengen mellom metodene var rettlinjert. Grunnet den høye p-verdien kunne ikke nullhypotesen forkastes, og en Passing-Bablok-regresjon var hensiktsmessig å benytte. Konfidensintervallene for a og b indikerte både et konstant og et proporsjonalt avvik mellom metodene, siden 95 % KI for b ikke inneholdt 1 og 95 % KI for a ikke inneholdt 0. Regresjonen viste på den måten at metodene målte ulikt. Dette er ikke overraskende ettersom analyttene i referansemetoden og testmetoden ikke er direkte sammenlignbare.

Ved hjelp av den lineære regresjonsligningen fra Figur 3.1 er det mulig å beregne hva beslutningsverdien for cTnT ville tilsvart i cTnI-verdi med metoden på i-STAT1. Matematiske beregninger viste at en prøve med cTnT-konsentrasjon på 14,0 ng/mL, målt med Elecsys Troponin T hs-metoden på Cobas 8000 e602, tilsvarte en troponin I-konsentrasjon på 10,3 ng/mL. Testmetoden ville altså hatt samme kliniske sensitivitet som referansemetoden med en klinisk beslutningsgrense på 10,3 ng/L. Testmetodens oppgitte kliniske beslutningsgrense (99-persentilen: 80,0 ng/L) er dermed mye høyere enn den teoretiske beslutningsgrensen. Dette viser at metodenes beslutningsgrenser ikke stemmer overens, og at referansemetoden har lavere sensitivitet enn testmetoden. Dette er grunnen til at testmetoden, sammenlignet med referansemetoden, gir 13 falskt negative resultater.

Undersøkelsen i prosjektet hadde flere begrensninger. For eksempel ble det analysert singlikater av de aktuelle prøvene i metodesammenligningen. Dette gjorde det vanskeligere å oppdage eventuelle avvikende resultater enn om det hadde blitt analysert duplikater av dem. Prøvene hadde heller ikke oppgitte “sanne” cTnI-verdier ettersom referansemetoden analyserte proteinet

cTnT. Dette kompliserer oppdagelsen av eventuelle avvikende cTnI-resultater ytterligere. Selv om både troponin I og troponin T er proteiner som benyttes som biomarkører ved mistanke om akutt hjerteinfarkt og som uttrykker den samme biokjemiske prosessen, er ikke plasmakonsentrasjonen direkte sammenlignbar (19). Det er et faktum at det er analysert to ulike molekyler i undersøkelsen. Dette er det viktig å ta hensyn til i forbindelse med vurderingen av resultatene fra metodesammenligningen. Metodesammenligningen gjort ved Aarhus universitetssykehus viste at troponin I økte raskt i tidlig fase, mens troponin T økte jevnere (19). Siden cTnT-konsentrasjonen holdes stabil over lengre tid, er det mulig å oppdage høye cTnT-verdier og lave cTnI-verdier på samme prøve. Opplysninger om prøvetakingstidspunkt kan derfor gi viktig informasjon om troponinene har en oppadgående eller nedadgående trend i konsentrasjon. Prøvene som ble benyttet i denne metodesammenligningen ble aidentifiserte før analysing. Dette gjorde at det verken var tilgjengelige opplysninger om kjønn, alder, prøvetakingstidspunkt eller tidspunkt for symptomutbrudd. Basert på sykehusets prosedyrer for prøvetakning for analyse av troponiner, er det mulig å anta at begge troponinene hadde en forholdsvis høy konsentrasjon (52,53). Derfor har dette sannsynligvis ikke vært en faktor som har påvirket om prøven ble klassifisert som positiv eller negativ. Likevel er det en svakhet med metodesammenligningen at analyttene i referanse- og testmetoden ikke er direkte sammenlignbare. For å optimalisere vurderingen av Abbott i-STAT cTnI-analysen, hadde det vært fordelaktig om referansemetoden også brukte cTnI som analytt. Da hadde analyseresultatene for testmetoden hatt en fasitverdi, og referansemetode og testmetode kunne blitt sammenlignet direkte.

Grunnen til at det ikke ble brukt samme analytter i testmetode og referansemetode var tilgjengelighet. Det var naturlig å velge metoden som laboratoriet på St.Olavs hospital benytter som referansemetode. Det finnes et pasientnært analyseinstrument som analyserer troponin T (h232 fra Roche Diagnostics), men de fleste pasientnære instrumentene tilbyr kun troponin I (54). Siden instrumentet fra h232 fra Roche Diagnostics benyttes på Røros sykehus ble det besluttet å teste noen av de andre PNA-instrumentene på markedet. Ettersom det ikke var noen andre aktuelle pasientnære instrumenter som målte cTnT, ble det derfor valgt en cTnI-metode som testmetode.

På bakgrunn av studien fra universitet i Aarhus, ville opplysninger om alder, systolisk blodtrykk, tidligere kardiovaskulær sykdom og bruk av blodtrykk- og kolesterolregulerende medisiner vært nyttige fordi disse faktorene kan påvirke de to biomarkørene ulikt (19). Under

sammenligningsstudien i Skottland ble det avdekket flere forskjeller knyttet til alder og kjønn (28). I tillegg er det kjent at de fleste nyresviktpasientene har verdier over 99-persentilen. Dette gjelder særlig for cTnT, som ofte er kraftigere forhøyet enn cTnI (13). Siden referansemetoden måler cTnT og testmetoden cTnI, kan ulik påvirkning på de to troponinene føre til økning i uoverensstemmelse mellom metodene. Den fjerde universelle definisjonen av hjerteinfarkt anbefaler også bruk av aldersspesifikke 99-persentiler som kliniske beslutningsgrenser (13). I vårt prosjekt ble det ikke tatt i bruk aldersspesifikke 99-persentiler siden produsenten for testmetoden kun oppgir en felles 99-persentil og kjønn på pasientprøvene heller ikke var oppgitt. Dersom informasjon om alder, kjønn og underliggende sykdommer og tilstander skulle blitt inkludert, ville omfanget av studien raskt bli stort og u håndterbart. I tillegg måtte det ha blitt tatt hensyn til etiske aspekter.

En annen svakhet med utførelsen av metodesammenligningen er at resultatene er basert på noen analysesvar som er under testmetodens grense for analytisk sensitivitet. Denne er oppgitt til å være 0,02 ng/mL. Analysesvarene som er under denne grensen er usikre, og burde derfor ikke vært med i metodesammenligningen. På grunn av kostnader og ressurser for prosjektet ble likevel prøvene tatt med. Dette betyr at selv om antall prøver i metodesammenligningen var innenfor anbefalt antall prøver burde analysesvar under metodens analytiske sensitivitetsgrense vært ekskludert fra resultatvurderingen, og antall prøver burde vært høyere for å sikre et representativt resultat.

Andre faktorer som blant annet koagulasjon, hemolyse, oppbevaring av testkassetene, temperatur og vibrasjoner under analysering kan også påvirke prøvesvarene. I dette prosjektet var det ikke nødvendig å ta hensyn til koagulasjon ettersom prøvematerialet var av heparinplasma. Dersom metoden derimot skal implementeres i ambulansetjenesten vil det bli benyttet fullblod som prøvemateriale. Hensyn til koagulasjon vil da være mer relevant. Samtidig vil det være vanskeligere å vurdere graden av hemolyse i fullblodsprøver. I dette prosjektet ble det tatt hensyn til hemolyserte prøver ved at disse ble markerte ved analysering. De ble også markerte som røde punkter i de grafiske fremstillingene av resultatet. Det ble analysert åtte prøver med varierende grad av hemolyse. Ut fra resultatene er det vanskelig å si noe om hvorvidt hemolyse har påvirket analysesvarene, men ved en visuell vurdering av punktene i Figur 3.2 er det mulig å se at fem av de åtte hemolyserte prøvene er negative for cTnI, men positive for cTnT. Ifølge pakningsvedlegget kan sterkt hemolyserte prøver føre til

reduisert påvisning av cTnI (46). Dette er ikke et sikkert resultat, kun en observasjon da det er analysert for få prøver til å trekke en sikker konklusjon.

4.2 Uoverensstemmelser og alternativ klinisk beslutningsgrense

Resultatene viser at referansemetoden gir grunnlag for å diagnostisere langt flere pasienter med akutt hjerteinfarkt enn testmetoden. Dette fordi nesten alle verdier for troponin T er over metodens 99-persentil, mens mange verdier for troponin I er under metodens 99-persentil. Med andre ord har cTnI på i-STAT1 en høyere forekomst av negative cTn-verdier (verdier under 99-persentilen), sammenlignet med Roche sin hs-cTnT-metode. I 13 tilfeller ville referansemetoden gitt grunnlag for å diagnostisere med akutt hjerteinfarkt, mens de samme prøvene hadde blitt diagnostisert som normale på Abbott i-STAT1. Ut ifra dette ser det ut som at metoden for troponin I har en dårligere klinisk sensitivitet, og at det er større fare for å få falskt negative resultater ved bruk av cTnI på i-STAT1 sammenlignet med hs-cTnT-metoden på Cobas.

Forskjellig frigjøringsmønster for de to troponinene kan i noen tilfeller forklare hvorfor cTnI gir lavere resultat enn cTnT fordi konsentrasjonen av cTnI vil synke raskere enn konsentrasjonen av cTnT. Likevel er konsentrasjonen for begge molekylene forholdsvis høy, det vil si over metodenes tilhørende 99-persentiler, de to første dagene (25). Prosedyrene for prøvetaking til analyse av troponiner ved St. Olavs hospital sier at prøvene tas først og fremst ved innkomst og etter 3-6 timer. Dersom resultatene viser signifikante endringer i troponinresultatene etter to blodprøvesett, tas også en 1. dagsprøve (52,53). Ifølge prosedyrene er det mulig å anta at prøvene benyttet i metodesammenligningen er av pasienter med et oppadstigende frigjøringsmønster for begge troponinene selv om prøvetakingstidspunkt eller tidspunkt for symptomutbrudd ikke var oppgitt for prøvene. Frigjøringsmønsteret er med andre ord ikke en god forklaring på hvorfor cTnI-metoden i flere tilfeller gir resultater under metodens kliniske beslutningsgrense.

En amerikansk studie fra 2017 sammenlignet hvordan resultatene fra 13 kommersielt tilgjengelige cTn-assay, deriblant Abbott i-STAT cTnI og Roche hs-cTnT, stemte overens (55). Studien viste blant annet at Abbott i-STAT hadde en høyere forekomst av negative resultater sammenlignet med Roche hs-cTnT når produsentenes oppgitte 99-persentiler ble brukt som kliniske beslutningsgrenser for å skille mellom positive og negative resultater (55). Samme

studie diskuterer om uoverensstemmelsene mellom de undersøkte metodene kan være knyttet til den diagnostiske sensitiviteten til assayet eller forskjeller i populasjonene som har etablert 99-persentilene (55). En undersøkelse av de benyttede antistoffene i assayene, viste at antistoffene stort sett hadde samme målepitop i alle cTnI-assayene som var med studien (55). Likevel var det en stor variasjon i hva produsentene for de ulike assayene oppga som 99-persentiler for sine metoder (55). Dette tyder på at produsentenes oppgitte 99-persentiler er påvirket av populasjonene som ble benyttet under etableringene av dem (55). En generell utfordring med cTn-assay er at de ikke er standardiserte, noe som gjør at verdier fra ett assay ikke kan direkte sammenlignes med verdier fra et annet. Hver produsent er nødt til å fastsette hvilken 99-persentil som spesifikt skal brukes til deres assay. Problemet med dette er at det heller ikke finnes klare kriterier for hva som skal til for at en 99-persentil kan etableres. Ulike produsenter kan derfor ha forskjellige fremgangsmåter for etableringsprosessen (13). I et forsøk på å korrigere uoverensstemmelser i den amerikanske studien ble derfor 99-persentilene til noen av de 13 undersøkte metodene erstattet med alternative kliniske beslutningsgrenser (55). For eksempel ble den kliniske beslutningsgrensen for Roche hs-cTnT økt til 28,0 ng/L, mens den ble redusert til 40,0 ng/L for Abbott i-STAT (55). I studien var det 43 av 191 prøveresultater som ikke samsvarte mellom Abbott i-STAT og Roche hs-cTnT med produsentenes oppgitte 99-persentiler som beslutningsgrenser. Antall uoverensstemmende resultater ble redusert til 21 ved hjelp av de alternative beslutningsgrensene. I prosentandel tilsvarte dette en reduksjon i antall uoverensstemmelser fra 22,5 % til 11,0 % (55).

Reduksjon av antall uoverensstemmelser mellom metoder ved hjelp av alternative beslutningsgrenser har også blitt undersøkt i andre studier. En australsk gruppe viste i 2013 at antall falskt negative resultater (sammenlignet med ARCHITECT STAT troponin I assay) ble redusert fra 19,6 % til 6,8 % når beslutningsgrensen til Abbott i-STAT ble senket fra 80,0 ng/L til 40,0 ng/L (56). I tillegg økte andelen sanne positive resultater fra 34,0 % til 80,9 % (56). Studien omfattet 174 prøver, hvor prøvematerialet som ble brukt i Abbott i-STAT cTnI var EDTA-fullblod. Senkningen av den kliniske beslutningsgrensen førte derimot til tap av spesifisitet ettersom andel falskt positive resultater gikk fra 0 % til 7,3 %. Studien konkluderte likevel med at tapet av spesifisitet var akseptabelt når sensitiviteten til metoden ble så kraftig forbedret ved å senke beslutningsgrensen. Studien trakk frem at den største negative konsekvensen av bruk av en alternativ beslutningsgrense, vil være at flere pasienter uten behov for videre oppfølging vil bli holdt igjen i akuttmottaket (56).

På bakgrunn av funnene fra den amerikanske og australske studien, ble uoverensstemmelser mellom referansemetoden og testmetoden i vårt prosjekt også forsøkt redusert ved hjelp av alternative beslutningsgrenser (55,56). De kliniske beslutningsgrensene for Abbott i-STAT cTnI ble redusert til 40,0 ng/L og økt til 28,0 ng/L for Roche hs-cTnT. Bruk av alternative beslutningsgrenser i vårt prosjekt førte til at antall falskt negative resultater ble redusert fra 13 til 3 (se Tabell 3.3). I prosentandel tilsvarer dette en reduksjon på falskt negative prøver fra 30,2 % til 7,0 %. Dette resultatet ligner resultatene fra den australske studien, som fant en reduksjon fra 19,6 % til 6,8 % i falskt negative prøver ved bruk av alternative beslutningsgrenser (56). Tabell 3.3 viser også at antall falskt positive prøver økte fra 0 til 1 i vårt prosjekt ved å bruke de alternative beslutningsgrensene. Dette tilsvarer bare 2,3 % falskt positive prøver, noe som kan vurderes som akseptabelt tap av spesifisitet. En viktig forskjell på den australske studien og vårt prosjekt er at de kliniske beslutningsgrensene for både referansemetoden og testmetoden endres i denne oppgaven. I den australske studien var det kun beslutningsgrensen til testmetoden som ble endret (56). Den amerikanske studien endret derimot beslutningsgrensene for både referansemetode og testmetode, slik som i dette prosjektet (55). Andel uoverensstemmelser i vårt prosjekt ble redusert fra 30,2 % til 9,3 % ved hjelp av korrigeringen, noe som ser ut til å ligne det amerikanske resultatet, som viste en reduksjon fra 22,5 % til 11,0 % (55).

Disse resultatene indikerer at sensitiviteten til Abbott i-STAT1 kan forbedres ved å erstatte produsentens oppgitte kliniske beslutningsgrense med en alternativ verdi. Utfordringen til denne tilnærmingen i vårt prosjekt er at mange av de korrigerede uoverensstemmelsene ble korrigert som følge av at den kliniske beslutningsgrensen til referansemetoden ble satt opp fra 14,0 ng/L til 28,0 ng/L, ikke at beslutningsgrensen til testmetoden ble satt ned. Det er kun 3 av de 13 uoverensstemmelsene som ble korrigert på grunn av en alternativ beslutningsgrense for testmetoden. Dette er ikke optimalt ettersom referansemetoden blir sett på som den “riktige” metoden for sykehuset og i prosjektet. Likevel er bruk av alternative kliniske beslutningsgrenser et interessant tema å undersøke videre dersom denne eller andre PNA-assays skulle bli aktuelle å implementere på St. Olavs hospital i fremtiden. En studie gjort i New Zealand i 2019 tar for eksempel for seg hvordan rurale sykehus i landet benytter seg av PNA-cTn-assays (32). De fleste av disse sykehusene (70 %) brukte Abbott i-STAT cTnI. I to tredjedeler av sykehusene som brukte Abbott i-STAT forsøkte også å forbedre sensitiviteten til metoden ved å bruke en alternativ beslutningsgrense enn den som var oppgitt i pakningsvedlegget av produsenten. Den kliniske beslutningsgrensen ble endret fra 80,0 ng/L (99-persentilen) til 40,0 ng/L for cTnI, i

likhet med det som ble gjort i vårt prosjekt. Studien fra New Zealand oppga at bruken av en lavere beslutningsgrense ved sykehusene i landet har økt fra 31 % til 53 % siden 2014 (32).

Som nevnt har det vært variasjon i hvordan 99-persentilen til et assay defineres fordi det ikke finnes en standardisering for cTn-assayene. Dette har skapt kritikk, som AACC Academy (American Association for Clinical Chemistry) og IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) har forsøkt å svare ved å utvikle retningslinjer med klare anbefalinger for etableringen. Dette er anbefalinger som inkluderer blant annet at antall prøver bør være fra minst 300 kvinnelige og 300 mannlige “friske” individer (57). I pakningsvedlegget til testmetoden er det oppgitt at det ble benyttet 162 prøver fra tilsynelatende friske givere (46). Ifølge AACC Academy og IFCC er dette en betydelig mindre prøvemengde enn anbefalt (57). Kjønnfordelingen hos giverne er heller ikke oppgitt i pakningsvedlegget, og det står ellers lite om prosessen for etableringen av 99-persentilen (46). Det er derfor vanskelig å si om produsenten har fulgt de andre anbefalingene, som inkluderer spørreskjema for underliggende sykdommer, andre målte biomarkører og statistiske metoder (58). Produsenten har ikke etablert egne 99-persentiler for ulike prøvemateriale, noe som betyr at den oppgitte 99-persentilen er basert på både fullblod- og plasmaprøver. Det er viktig å presisere at pakningsvedlegget oppgir at hver institusjon som skal benytte Abbott i-STAT1 cTnI-analysen bør fastsette sitt eget referanseområde, og dermed også sin egen 99-persentil og klinisk beslutningsgrense (46). Ettersom at etableringen av 99-persentilen ikke er gjort etter anbefalingene, er det grunn til å tro at den kunne blitt definert til en annen konsentrasjon dersom anbefalingene hadde blitt fulgt. En alternativ klinisk beslutningsgrense kunne på denne måten ført til en reklassifisering av positive og negative prøveresultater. Dette ble vist i prosjektet ved å erstatte produsentenes oppgitte kliniske beslutningsgrenser til alternative beslutningsgrenser.

4.3 Presisjonsanalyse på i-STAT1

Metodens repeterbarhet ble undersøkt ved å gjennomføre en presisjonsanalyse ved analyse av troponin I på i-STAT1. På grunn av en kassetfeil for den ene parallellen ga kun 19 av de 20 testene analysesvar. Resultatene i Tabell 3.4 ble beregnet ut fra 19 paralleller av én pasientprøve med målt cTnT-konsentrasjon lik 44,64 ng/L. En god presisjonsanalyse bør helst utføres ved bruk av minimum 20 paralleller, noe som betyr at resultatene fra denne presisjonsanalysen er basert på et noe lavt antall prøveparalleller. Ved analyse av mer enn 20 paralleller ville resultatet blitt mer representativt for metodens presisjon. Videre kunne presisjonen også blitt undersøkt i

flere konsentrasjonsområder for å undersøke metodens presisjon ved alternative beslutningsgrenser.

Det ble beregnet 90 % KI for gjennomsnitt, standardavvik og variasjonskoeffisient. Det beregnede gjennomsnittet skulle ideelt sett vært sammenlignet med en fasitverdi for prøven målt som troponin I. En fasitverdi var ikke tilgjengelig, noe som gjør vurderingen av gjennomsnittet utfordrende. Ved sammenligning mellom analyseresultatene opp mot 90 % KI for gjennomsnittet observeres det likevel at flere av parallellene havner utenfor 90 % KI. Dette var forventet da det er vanlig at enkeltverdier ligger utenfor KI. Rådata fra presisjonsanalysen finnes i Vedlegg 6. Standardavviket og 90 % KI for standardavviket kan settes i sammenheng med presisjonsdata fra pakningsvedlegget til troponin I på i-STAT1. Standardavviket på 0,016 ng/mL kan sammenlignes med standardavviket oppgitt for kontrollen i nivå én ettersom prøven ligger i lavt konsentrasjonsområde. Det beregnede standardavviket er lavere enn standardavviket som er oppgitt på 0,04 ng/mL, men pasientprøven ligger også lavere i konsentrasjon enn kontrollen. Fra pakningsvedlegget observeres et økende standardavvik ved økt analyttkonsentrasjon. Oppgitt % CV for kontrollen i nivå én er 7,8 %, mens den beregnede variasjonskoeffisienten er tilnærmet lik 7,9 %, se tabell 3.4 (46). Den beregnede presisjonen stemmer dermed godt overens med metodens oppgitte presisjon og er innenfor presisjonskravet for oppgaven (10 %). Ifølge ekspertgruppen som har utarbeidet den fjerde universelle definisjonen av akutt hjerteinfarkt, er cTn-assay med % CV mellom 10-20 % for 99-persentilen akseptable for bruk i klinikken (13). Presisjonsanalysen viser dermed at testmetodens presisjon er akseptable for klinisk bruk.

4.4 Brukervennlighet i ambulanse

For de fem prøvene som ble analysert på studentlaboratoriet og under ulike forhold i ambulansen ble det beregnet gjennomsnitt og prosentavvik mellom parallellene. Prosentavvik for de fem parallellene er alle innenfor et presisjonskrav på 5,0 %, som vanligvis benyttes i studentlaboratoriet. Ideelt sett burde det blitt analysert 40-100 pasientprøver av troponin I over et stort konsentrasjonsområde inne på laboratoriet og deretter analysert de samme prøvene i ambulansen for å se om det er signifikant forskjell på analyseresultatene (8). Det er med andre ord analysert alt for få prøver til å kunne si noe om riktigheten av prøvesvarene fra analyseringen i ambulansen. Dette var heller ikke hensikten, da analyseringen av prøver i ambulansen var en tilleggsoppgave for å undersøke praktisk egnethet og brukervennlighet.

Ved vurderingen av brukervennligheten ble det observert at det er dårlig plass til instrumentet i den tiltenkte hylla. Dette gjør at instrumentet må stå på skrå og ikke får plass i ladestasjonen dersom hylla skal benyttes. Plassering av instrumentet er en viktig faktor med tanke på sikkerhet da instrumentet må festes under kjøring slik at det ikke kan skade pasient eller helsepersonell under en eventuell bråbrems. Pipetteringen av prøvematerialet var også utfordrende grunnet dårlig plass. Det er viktig å påpeke at det i denne oppgaven ble benyttet plasma som prøvemateriale, men at ambulanspersonell ville brukt fullblod som dryppes på testkassetten. Når det kommer til opplading og batterikapasitet er i-STAT1 noe skuffende. Batterikapasiteten holdt til omkring 18 pasientprøver før det kom feilmelding om for lavt batterinivå. I bruksanvisningen er det oppgitt at det er mulig å benytte oppladbare nikkell-metallhydrid-batterier, og at full oppladning fra utladet tilstand vil ta ca. 40 timer. Det skal være mulig å benytte en batteripakke fra Abbott, noe som ikke var inkludert i det instrumentet som ble lånt. Batteriene som ble benyttet i oppgaven var derfor fra Medisinsk teknisk på St. Olavs hospital og ikke Abbotts egne "i-STAT1 9V NiMH battery". Det ble forsøkt benyttet oppladbare batterier fra Medisinsk teknisk, men uten hell. Batteriene som skulle være oppladbare viste seg å ikke være det for dette instrumentet, og det oppstod dermed feilkoder på grunn av for lavt batterinivå. Batteriene ble plassert i en batteriholder og batteriene ble tatt ut av instrumentet og plassert i ladestasjonen for å lade dem opp. Ved bruk av batterier og batteripakken fra Abbott skal det være mulig å lade instrumentet i ladestasjonen uten at batterienheten tas ut av instrumentet. Dersom batteripakken fra Abbott hadde vært tilgjengelig, kunne feilkoder på grunn av for lavt batterinivå vært unngått. Med denne batteripakken kunne det ideelt sett blitt analysert prøver samtidig som instrumentet var koblet til strøm, og batterikapasitet ville på denne måten ikke vært et problem. I ambulansen vil oppladning av instrumentet likevel være noe problematisk da ladestasjonen ikke får plass i den tiltenkte hylla. Batterikapasiteten og lademulighetene ble derfor sett på som en svakhet siden ambulanspersonell behøver et stabilt instrument med god batterikapasitet. Dette er viktig for at instrumentet alltid er klart til bruk. Likevel kunne en utprøving over tid med riktig batteri og batteripakke vært hensiktsmessig for å vurdere brukervennligheten av instrumentet i ambulansen over tid.

Andre faktorer som kan være problematiske dersom instrumentet skal benyttes i ambulansen er analysetiden og påvirkning av ytre faktorer som temperatur og vibrasjoner. Analysetiden er oppgitt til 10 minutter, noe som gjør at analysen egner seg best dersom pasientene befinner seg et lengre stykke unna sykehuset. Ved implementering i ambulansetjenesten ville det hypotetisk sett blitt analysert troponin I hjemme hos pasienten før ambulansen kjører til sykehuset. I tillegg

vil det være aktuelt med ny analysering like før ankomst til akuttmottak. Det vil da være et prioriteringsspørsmål om ambulansen skal stoppe for å utføre prøvetaking, eller om raskeste vei til sykehuset skal prioriteres. Det er også upraktisk at signalet ikke høres ved analyseslutt på grunn av støy fra motor og lignende. Pakningsvedlegget for analysen oppgir at temperatur, bevegelse og vibrasjoner kan påvirke analyseresultatet (46). Om disse faktorene hadde en påvirkning på resultatene i oppgaven kan ikke vurderes da det ble analysert for få prøver til å vurdere om dette var klinisk signifikant. Likevel observeres det at prosentavvik mellom parallellene ikke overskrider 5,0 %, noe som indikerer at analyseforholdene i ambulansen ikke påvirket analyseresultatet for disse prøvene.

5. Konklusjon

Resultatene fra metodesammenligningen tyder på at de oppgitte kliniske beslutningsgrensene fra produsentene for Abbott i-STAT1 cTnI og Elecsys Troponin T hs fra Roche Diagnostics ikke samsvarer. I tillegg viste resultatene at Abbott i-STAT1 cTnI (testmetoden) har dårligere klinisk sensitivitet enn referansemetoden. Dette er problematisk dersom det blir ønskelig å implementere Abbott i-STAT1 i ambulansetjenesten eller helsetjenester. På bakgrunn av andre studier ble det forsøkt å benytte alternative kliniske beslutningsgrenser for å bedre den kliniske sensitiviteten. Dette førte til at antall falskt negative prøver ble redusert, og antall sanne positive prøvesvar økte. Resultatene fra presisjonsanalysen indikerte at presisjonen stemmer overens med produsentenes oppgitte presisjon for testmetoden. Presisjonen er også innenfor kravene som er oppgitt i litteraturen som akseptabel presisjon for klinisk bruk av cTn-assay. På bakgrunn av undersøkelsen av brukervennlighet i ambulansen ble det ikke funnet noen klinisk signifikant forskjell mellom resultatene fra analysering på laboratoriet og i ambulansen. Instrumentet hadde noen utfordringer knyttet til batterikapasitet og mangel på plass. Basert på resultatene fra metodesammenligningen vil likevel ikke cTnI-metoden være god nok til at den kan implementeres i helsetjenesten med produsentens oppgitte kliniske beslutningsgrense.

Dersom St. Olavs hospital likevel ønsker å teste denne metoden eller andre PNA-cTn-assay på et senere tidspunkt, kan det være aktuelt å etablere en egen klinisk beslutningsgrense for metoden. Om det blir vedtatt en alternativ klinisk beslutningsgrense vil det også være nødvendig å sjekke presisjon rundt denne. Det vil også være nødvendig med en ny undersøkelse av hvordan instrumentet og metoden fungerer i praksis ved bruk av fullblodsprøver og om brukervennligheten er god nok.

6. Referanser

1. World Health Organization. Cardiovascular diseases [Internett]. Cardiovascular diseases. 2023 [sitert 16. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases>
2. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internett]. 2021 [sitert 16. mars 2023]. Tilgjengelig på: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
3. Govatsmark RES, Halle KK, Sneeggen S, Berge VB, Krokan TG, Bønaa KH. Årsrapport 2021 med plan for forbedringstiltak. Trondheim: Norsk hjerteinfarktregister; 2022 jun.
4. Saleh M, Ambrose JA. Understanding myocardial infarction. F1000Res. 3. september 2018;7:1378.
5. Muzyk P, Twerenbold R, Morawiec B, Ayala PL, Boeddinghaus J, Nestelberger T, mfl. Use of cardiac troponin in the early diagnosis of acute myocardial infarction. Kardiologia Polska (Polish Heart Journal). 2020;78(11):1099–106.
6. iskemi [Internett]. Det Norske Akademis ordbok. [sitert 30. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://naob.no/ordbok/iskemi>
7. Filipoiu FM. Atlas of Heart Anatomy and Development. Springer-Verlag; 2014.
8. Rifai N, Horvath RA, Wittwer CT. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 8. utgave. Elsevier; 2019.
9. Hubert RJ, VanMeter KC. Gould's Pathophysiology for the Health Professions. 6. utgave. Elsevier; 2018.
10. Levent Efe MD, Nettop Universitetet i Stavanger. Hjertets anatomi og fysiologi [Internett]. erasmusnursing.net. 2016 [sitert 24. mars 2023]. Tilgjengelig på: <http://no.heart.erasmusnursing.net/>
11. Kusumoto F. ECG Interpretation. 2. utgave. Springer-Verlag; 2020.
12. regenerere [Internett]. Det Norske Akademis ordbok. [sitert 30. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://naob.no/ordbok/regenerere?elementId=53034930>
13. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, mfl. ESC/ACC/AHA/WHF Consensus Document - Expert Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). Circulation. 13. november 2018;138(20):e618-51.
14. Khatana C, Saini NK, Chakrabarti S, Saini V, Sharma A, Saini RV, mfl. Mechanistic Insights into the Oxidized Low-Density Lipoprotein-Induced Atherosclerosis.

- Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 15. september 2020;2020:1–14.
15. Ytrehus K. aterosklerose. I: Store medisinske leksikon [Internett]. 2022 [sitert 30. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://sml.snl.no/aterosklerose>
 16. ECG Basics [Internett]. Health Education Collaborative. 2018 [sitert 25. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://healthec.com.au/product/ecg-basics/>
 17. Jacobsen L, Grenne B, Olsen RB, Jortveit J. Feasibility of prehospital identification of non-ST-elevation myocardial infarction by ECG, troponin and echocardiography. *BMJ*. 21. januar 2022;39(9):679–84.
 18. Universitetet i Oslo. EKG forandringer over tid ved STEMI [Internett]. studmed.uio. [sitert 4. mai 2023]. Tilgjengelig på: https://studmed.uio.no/elaring/fag/hjertesykdommer/celle_papir/del3/bilder.html
 19. Kleemeier S, Abildgaard A, Ladefoged SA, Thorsted Sørensen J, Stengaard C, Adelborg K. High-sensitivity troponin T and I in patients suspected of acute myocardial infarction. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1. april 2022;82(2):96–103.
 20. Chaulin AM. The Importance of Cardiac Troponin Metabolism in the Laboratory Diagnosis of Myocardial Infarction (Comprehensive Review). *Biomed Res Int*. 30. mars 2022;2022:1–24.
 21. Katrukha IA. Human cardiac troponin complex. Structure and functions. *Biochemistry Moscow*. 1. desember 2013;78(13):1447–65.
 22. Husøy AM. troponiner. I: Store medisinske leksikon [Internett]. 2021 [sitert 24. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://sml.snl.no/troponiner>
 23. Collinson P, Aakre KM, Saenger A, Body R, Hammarsten O, Jaffe AS, mfl. Cardiac troponin measurement at the point of care: educational recommendations on analytical and clinical aspects by the IFFC committee on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers (IFFC C-CB). *Clin Chem Lab Med*. 16. januar 2023;61(6):989–98.
 24. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, mfl. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 14. januar 2016;37(3):267–315.
 25. The role of troponin testing in primary care [Internett]. bpac nz better medicine. 2009 [sitert 29. mars 2023]. Tilgjengelig på:

- <https://bpac.org.nz/BT/2009/December/troponin.aspx>
26. persentil [Internett]. Det Norske Akademis ordbok. [sitert 4. mai 2023]. Tilgjengelig på: <https://naob.no/ordbok/persentil>
 27. Aakre KM, Saenger AK, Body R, Collinson P, Hammarsten O, Jaffe AS, mfl. Analytical Considerations in Deriving 99th Percentile Upper Reference Limits for High-Sensitivity Cardiac Troponin Assays: Educational Recommendations from the IFCC Committee on Clinical Application of Cardiac Bio-Markers. *Clinical Chemistry*. 27. juli 2022;68(8):1022–30.
 28. Welsh P, Preiss D, Shah ASV, McAllister D, Briggs A, Boachie C, mfl. Comparison between High-Sensitivity Cardiac Troponin T and Cardiac Troponin I in a Large General Population Cohort. *Clinical Chemistry*. 1. november 2018;64(11):1607–16.
 29. Stacy SR, Suarez-Cuervo C, Berger Z, Wilson LM, Yeh HC, Bass EB, mfl. Role of Troponin in Patients With Chronic Kidney Disease and Suspected Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review. *Ann Intern Med*. 7. oktober 2014;161(7):502–12.
 30. Pasientnær analysering [Internett]. NITO Bioingeniørfaglig institutt BFI; 2018 [sitert 4. mai 2023]. Tilgjengelig på: <https://www.nito.no/contentassets/89251a57f4bf446a9364963e3c74d7ec/policydokument-pasientnar-analysering.pdf>
 31. Chapelle JP, Aldenhoff MC, Pierard L, Gielen J. Comparison of cardiac troponin I measurements on whole blood and plasma on the Stratus CS analyzer and comparison with AxSYM. *Clin Chem*. november 2000;46(11):1864–6.
 32. Miller R, Stokes T, Nixon G. Point-of-care troponin use in New Zealand rural hospitals: a national survey. *New Zealand Medical Journal*. 12. april 2019;132(1493):25–37.
 33. Cullen L, Collinson PO, Giannitsis E. Point-of-care testing with high-sensitivity cardiac troponin assays: the challenges and opportunities. *Emerg Med J*. 1. november 2022;39(11):861–6.
 34. Christenson RH, Frenk LDS, de Graaf HJ, van Domburg TSY, Wijnands FPG, Foolen HWJ, mfl. Point-of-Care: Roadmap for Analytical Characterization and Validation of a High-Sensitivity Cardiac Troponin I Assay in Plasma and Whole Blood Matrices. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 30. juni 2022;7(4):971–88.
 35. Lea T. Immunologiske teknikker. 3. utgave. Oslo: Fagbokforlaget; 2013.
 36. Felix FS, Angnes L. Electrochemical immunosensors – A powerful tool for analytical applications. *Biosensors and Bioelectronics*. april 2018;102:470–8.
 37. Cristea C, Florea A, Tertis M, Sandulescu R. Immunosenors. I: Biosensors - Micro and

- Nanoscale Application. IntechOpen; 2015. s. 165–201.
38. Estrela P, Bhalla N, Jolly P, Formisano N. Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry*. 30. juni 2016;60(1):1–8.
 39. Bojorge Ramírez N, Salgado AM, Valdman B. The evolution and developments of immunosensors for health and environmental monitoring: problems and perspectives. *Braz J Chem Eng*. juni 2009;26(2):227–49.
 40. Alhadj M, Farhana A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. I: StatPearls [Internett]. StatPearls Publishing; 2023 [sitert 18. april 2023]. Tilgjengelig på: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>
 41. Overview of ELISA [Internett]. ThermoFisher Scientific. [sitert 17. mars 2023]. Tilgjengelig på: <https://www.thermofisher.com/uk/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>
 42. Chandran K, Manickam P, Paulraj S. *Immunosensors. I: Biosensors and Bioelectronics*. 1. utgave. Elsevier; 2015. s. 206–45.
 43. Selvlaget i biorender.com.
 44. Bolann BJ, Åsberg A. Riktig svar på biokjemiske analyser praktisk veileder i kvalitetskontroll for medisinske laboratorier. 1. utgave. Oslo: Cappelen Damm AS; 2020.
 45. Løvås GG. *Statistikk for universiteter og høyskoler*. 4. utgave. Oslo: Universitetsforlaget; 2018.
 46. *Hjerte-troponin I/ (cTnI) (Pakningsvedlegg)*. Abbott Laboratories; 2019.
 47. Troponin I, hjertespesifikk, P [Internett]. Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk biokjemi. 2021 [sitert 14. april 2023]. Tilgjengelig på: <https://www.brugerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=99003a0a12cc3d6dbdf5>
 48. *i-STAT1 systemhåndbok (Brukermanual)*. Abbott Laboratories; 2021.
 49. *Elecsys Troponin T hs (Pakningsvedlegg V 2.0)*. Roche Diagnostics; 2021.
 50. *cobas 8000 modular analyzer series - Programvareversjon 06-03 - Brukermanual Versjon 5.1*. Roche Diagnostics; 2016.
 51. Karabulut U, Karabulut D, Kasapoğlu P, Yazan S, Ertürk M, Koşer M, mfl. Stability of Cardiac Troponin-I in Whole Blood and Plasma in Patients with Acute Myocardial Infarction. *Istanbul Med J*. 1. februar 2021;22(1):68–72.
 52. Hegbom K, Kleveland O. EQS ID 45676: Hjerteinfarkt: Non-ST-elevasjons akutt


- koronarsyndrom (NSTE-AKS) - Non-ST-elevasjons hjerteinfarkt (NSTEMI) og ustabil angina pectoris (UAP). 2022.
53. Leiren OM. EQS ID 45679: Kardiologi - Hjerteinfarkt - ST-elevasjons (STEMI): Akuttbehandling. 2023.
 54. Cobas h 232 POC system [Internett]. Roche Diagnostics. [sitert 5. mai 2023]. Tilgjengelig på: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-h-232-ins-653.html>
 55. Christenson RH, Jacobs E, Uettwiller-Geiger D, Estey MP, Lewandrowski K, Koshy TI, mfl. Comparison of 13 Commercially Available Cardiac Troponin Assays in a Multicenter North American Study. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 1. mars 2017;1(5):544–61.
 56. Schneider HG, Ablitt P, Taylor J. Improved sensitivity of point of care troponin I values using reporting to below the 99th percentile of normals. *Clinical Biochemistry*. august 2013;46(12):979–82.
 57. Sandoval Y, Apple FS, Saenger AK, Collinson PO, Wu AHB, Jaffe AS. 99th Percentile Upper-Reference Limit of Cardiac Troponin and the Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *Clinical Chemistry*. 1. september 2020;66(9):1167–80.

7. Vedlegg

7.1 Pakningsvedlegg for kontroller (Vedlegg 1)

i-STAT® cTnI Level 1 Control

LOT 011160

 Exp. 2024-04-30

CLEW: A45

cTnI		\bar{x} (Mean)	R (Range)
LOT A			
cTnI	ng/mL	0.45	0.32 - 0.59

cTnI		\bar{x} (Mean)	R (Range)
LOT B			
cTnI	ng/mL	0.50	0.35 - 0.65

CONTROL

IVD

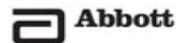


Manufactured for:
Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Rd.
Abbott Park, IL
60064 USA

Product of USA

EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



782244-01

28-Oct-2022

i-STAT is a registered trademark of the Abbott Group of Companies in various jurisdictions

i-STAT® cTnI Level 1 Control

LOT 011160

Exp. 2024-04-30

Note: Not all products are available in all regions. Check with your local representative for availability in specific markets.

Bemærk: Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din lokale repræsentant for at få oplysninger om tilgængelighed på bestemte markeder.

Nota: No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Consulte a su representante local la disponibilidad en mercados específicos.

Nota: non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni. Verificare con i rappresentanti locali la disponibilità nei singoli mercati.

Merk: Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle områder. Sjekk med din lokale representant for tilgjengelighet i bestemte markeder.

Hinweis: Nicht alle Produkte sind in allen Regionen erhältlich. Anfragen zur Verfügbarkeit in spezifischen Märkten richten Sie bitte an Ihren Vertreter vor Ort.

Nota: nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante local para obter mais informações sobre a disponibilidade em mercados específicos.

Huomautus: kaikkia tuotteita ei ole saatavilla kaikilla alueilla. Tarkista saatavuus tietyllä markkina-alueella paikalliselta edustajalta.

Σημείωση: Δεν είναι διαθέσιμα όλα τα προϊόντα σε όλες τις περιοχές. Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο για πληροφορίες σχετικά με τη διαθεσιμότητα σε συγκεκριμένες αγορές.

Not: Tüm ürünler tüm bölgelerde mevcut değildir. Belirli pazarlarda bulunabilirlik için yerel temsilcinizle iletişime geçin.

Obs! Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta en lokal representant för information om tillgänglighet på specifika marknader.

Remarque : tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Pour connaître la disponibilité des produits sur des marchés spécifiques, contactez votre représentant local.

Opmerking: niet alle producten zijn in alle regio's verkrijgbaar. Vraag uw plaatselijke vertegenwoordiger naar de beschikbaarheid op specifieke markten.

Napomena: Svi proizvodi nisu dostupni u svim regijama. Dostupnost na pojedinim tržištima provjerite kod lokalnog predstavnika.

Uwaga: Niektóre produkty mogą nie być dostępne we wszystkich regionach. W sprawie dostępności na poszczególnych rynkach należy zwrócić się do lokalnego przedstawiciela.

Notă: Nu toate produsele sunt disponibile în toate regiunile. Adresați-vă reprezentantului local pentru a afla disponibilitatea pe anumite piețe.

Примечание. Некоторые изделия доступны не во всех регионах. Сведения о наличии изделий в конкретном регионе можно узнать у регионального торгового представителя.

Poznámka: Ne všechny léčivé přípravky jsou k dispozici ve všech oblastech. Informace o dostupnosti na konkrétních trzích získáte u svého místního zástupce.

CONTROL

IVD



Manufactured for:
Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Rd.
Abbott Park, IL
60064 USA

EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



782244-01

28-Oct-2022

i-STAT® cTnI Level 2 Control

LOT 021160

 **Exp.** 2024-04-30

CLEW: A45

cTnI		\bar{x} (Mean)	R (Range)
LOT A			
cTnI	ng/mL	2.34	1.64 - 3.04

cTnI		\bar{x} (Mean)	R (Range)
LOT B			
cTnI	ng/mL	2.58	1.81 - 3.35

CONTROL

IVD



Manufactured for:
Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Rd.
Abbott Park, IL
60064 USA

EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



782245-01

28-Oct-2022

Product of USA

i-STAT is a registered trademark of the Abbott Group of Companies in various jurisdictions

i-STAT® cTnI Level 2 Control

LOT 021160

Exp. 2024-04-30

Note: Not all products are available in all regions. Check with your local representative for availability in specific markets.

Bemærk: Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din lokale repræsentant for at få oplysninger om tilgængelighed på bestemte markeder.

Nota: No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Consulte a su representante local la disponibilidad en mercados específicos.

Nota: non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni. Verificare con i rappresentanti locali la disponibilità nei singoli mercati.

Merk: Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle områder. Sjøkk med din lokale representant for tilgjengelighet i bestemte markeder.

Hinweis: Nicht alle Produkte sind in allen Regionen erhältlich. Anfragen zur Verfügbarkeit in spezifischen Märkten richten Sie bitte an Ihren Vertreter vor Ort.

Nota: nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante local para obter mais informações sobre a disponibilidade em mercados específicos.

Huomautus: kaikkia tuotteita ei ole saatavilla kaikilla alueilla. Tarkista saatavuus tietyllä markkina-alueella paikalliselta edustajalta.

Σημείωση: Δεν είναι διαθέσιμα όλα τα προϊόντα σε όλες τις περιοχές. Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο για πληροφορίες σχετικά με τη διαθεσιμότητα σε συγκεκριμένες αγορές.

Not: Tüm ürünler tüm bölgelerde mevcut değildir. Belirli pazarlarda bulunabilirlik için yerel temsilcinizle iletişime geçin.

Obs! Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta en lokal representant för information om tillgänglighet på specifika marknader.

Remarque : tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Pour connaître la disponibilité des produits sur des marchés spécifiques, contactez votre représentant local.

Opmerking: niet alle producten zijn in alle regio's verkrijgbaar. Vraag uw plaatselijke vertegenwoordiger naar de beschikbaarheid op specifieke markten.

Napomena: Svi proizvodi nisu dostupni u svim regijama. Dostupnost na pojedinim tržištima provjerite kod lokalnog predstavnika.

Uwaga: Niektóre produkty mogą nie być dostępne we wszystkich regionach. W sprawie dostępności na poszczególnych rynkach należy zwrócić się do lokalnego przedstawiciela.

Notă: Nu toate produsele sunt disponibile în toate regiunile. Adresați-vă reprezentantului local pentru a afla disponibilitatea pe anumite piețe.

Примечание. Некоторые изделия доступны не во всех регионах. Сведения о наличии изделий в конкретном регионе можно узнать у регионального торгового представителя.

Poznámka: Ne všechny léčivé přípravky jsou k dispozici ve všech oblastech. Informace o dostupnosti na konkrétních trzích získáte u svého místního zástupce.

CONTROL

IVD



Manufactured for:
Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Rd.
Abbott Park, IL
60064 USA

EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



782245-01

28-Oct-2022

Product of USA

i-STAT is a registered trademark of the Abbott Group of Companies in various jurisdictions

i-STAT® cTnI Level 3 Control

LOT 031164

 Exp. 2024-08-31

CLEW: A45

cTnI		\bar{x} (Mean)	R (Range)
LOT A			
cTnI	ng/mL	20.55	11.30 - 29.80

cTnI		\bar{x} (Mean)	R (Range)
LOT B			
cTnI	ng/mL	23.01	12.66 - 33.36

CONTROL

IVD



Manufactured for:
Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Rd.
Abbott Park, IL
60064 USA

EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



782496-01

21-Nov-2022

Product of USA

i-STAT is a registered trademark of the Abbott Group of Companies in various jurisdictions

i-STAT® cTnI Level 3 Control

LOT 031164

Exp. 2024-08-31

Note: Not all products are available in all regions. Check with your local representative for availability in specific markets.

Bemærk: Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din lokale repræsentant for at få oplysninger om tilgængelighed på bestemte markeder.

Nota: No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Consulte a su representante local la disponibilidad en mercados específicos.

Nota: non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni. Verificare con i rappresentanti locali la disponibilità nei singoli mercati.

Merk: Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle områder. Sjekk med din lokale representant for tilgjengelighet i bestemte markeder.

Hinweis: Nicht alle Produkte sind in allen Regionen erhältlich. Anfragen zur Verfügbarkeit in spezifischen Märkten richten Sie bitte an Ihren Vertreter vor Ort.

Nota: nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante local para obter mais informações sobre a disponibilidade em mercados específicos.

Huomautus: kaikkia tuotteita ei ole saatavilla kaikilla alueilla. Tarkista saatavuus tietyllä markkina-alueella paikalliselta edustajalta.

Σημείωση: Δεν είναι διαθέσιμα όλα τα προϊόντα σε όλες τις περιοχές. Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο για πληροφορίες σχετικά με τη διαθεσιμότητα σε συγκεκριμένες αγορές.

Not: Tüm ürünler tüm bölgelerde mevcut değildir. Belirli pazarlarda bulunabilirlik için yerel temsilcinizle iletişime geçin.

Obs! Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta en lokal representant för information om tillgänglighet på specifika marknader.

Remarque : tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Pour connaître la disponibilité des produits sur des marchés spécifiques, contactez votre représentant local.

Opmerking: niet alle producten zijn in alle regio's verkrijgbaar. Vraag uw plaatselijke vertegenwoordiger naar de beschikbaarheid op specifieke markten.

Napomena: Svi proizvodi nisu dostupni u svim regijama. Dostupnost na pojedinim tržištima provjerite kod lokalnog predstavnika.

Uwaga: Niektóre produkty mogą nie być dostępne we wszystkich regionach. W sprawie dostępności na poszczególnych rynkach należy zwrócić się do lokalnego przedstawiciela.

Notă: Nu toate produsele sunt disponibile în toate regiunile. Adresați-vă reprezentantului local pentru a afla disponibilitatea pe anumite piețe.

Примечание. Некоторые изделия доступны не во всех регионах. Сведения о наличии изделий в конкретном регионе можно узнать у регионального торгового представителя.

Poznámka: Ne všechny léčivé přípravky jsou k dispozici ve všech oblastech. Informace o dostupnosti na konkrétních trzích získáte u svého místního zástupce.

CONTROL

IVD



Manufactured for:
Abbott Point of Care Inc.
100 and 200 Abbott Park Rd.
Abbott Park, IL
60064 USA

EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



782496-01

21-Nov-2022

Product of USA

i-STAT is a registered trademark of the Abbott Group of Companies in various jurisdictions

7.2 Prosedyre for prøvehåndtering og analysering (Vedlegg 2)

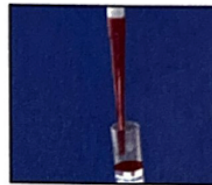
Fill and Close the Cartridge

1. Gently invert tube of blood 2–3 times.
2. There are two ways to transfer blood from a tube to the cartridge, **syringe or plastic pipette**.
If using a **syringe**, invert tube and push the syringe's safety tip through stopper into blood sample. **Slowly** pull back on plunger to draw blood into syringe until it is about half full.
Bubbles can cause a quality check failure. If air bubbles form throughout sample, discard syringe and repeat this step.

3. Hold syringe so tip is pointing upward. Hold a gauze pad at tip to absorb blood. Press syringe plunger slowly until air is removed and at least one drop of blood is discarded. If air bubble is stuck, tap syringe gently. If an air bubble was trapped at top of syringe it may start to move toward tip. In this case, wait until bubble reaches tip and remove it.



If using a **plastic pipette**, slowly remove rubber stopper from collection tube, and draw about 1/4" of blood into pipette. Maintain constant pressure on pipette.



Art. 723085-00K Rev. Date: 30-OCT-2014

17

4. With cartridge on flat surface, hold syringe tip or pipette tip over inlet port on cartridge. Gently press syringe plunger or pipette bulb to deliver a single drop of blood to the inlet port.

Blood must reach fill mark on cartridge. Add a second small drop to inlet port if necessary. Some blood may be on outside of port - this will not affect result.



5. Hold cartridge side edges between thumb and index finger away from the inlet port. Use thumb of other hand to slide the plastic closure clip to the right until it locks into place. Keep fingers away from other side of clip to avoid getting blood on gloves.



6. Push cartridge into analyzer port until cartridge clicks into place. The analyzer will first display "Identifying Cartridge," then a time-to-result bar. Results will be shown in 10 minutes.

The analyzer must remain on a level surface with the display facing up during testing. A level surface includes running the analyzer in the downloader/recharger. Motion of the analyzer during testing can increase the frequency of suppressed results or quality check codes.

OBS! Omgjøre ug/L (ng/mL) til ng/L: Gange med 1000.

7.3 Matematisk sammenheng mellom kurvene i Figur 3.2 og 3.3 (Vedlegg 3)

Matematiske beregninger:

$$\ln I = a + b * \ln T$$

$$I = e^{(a+b*\ln T)}$$

$$I = e^a * e^{(\ln T)^b}$$

$$I = e^a * T^b$$

Hvor $I = cTnI$ og $T = cTnT$. Verdier for a og b er hentet fra resultater av Passing-Bablok-regresjon figur 3.1.

For 99-persentilen til troponin $T = 14$ ng/L

$$\ln I = -2,39 + 1,79 * \ln(14)$$

$$\ln I = 2,33$$

$$I = 10,32 \text{ ng/L}$$

7.4 Rådata fra analyseringen i ambulansen (Vedlegg 4)

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Prøve nr	troponin T (ng/L)	Troponin I (ng/mL) i ambulansen	Troponin I (ng/mL) på lab	Gjennomsnitt	%avvik mellom parallellene	Dato for analysering	Observasjoner	Lot testkasset	Utløpsdato
1	11 208,2	0,62	0,63	0,625	-1,60% 21. mars	21. mars		B22304	01.06.23
2	12 26,65	0,02	0,02	0,02	0,00% 21. mars	21. mars		B22304	01.06.23
3	13 416,1	5,27	5,04	5,155	4,46% 21. mars	21. mars		B22304	01.06.23
4	14 16,07	0,02	0,02	0,02	0,00% 21. mars	21. mars		B22304	01.06.23
5	15 17,14	0,01	0,01	0,01	0,00% 21. mars	21. mars	noe hemolyse	B22304	01.06.23
6	16 189,3	Feilet				21. mars		B22304	01.06.23
7	17 89,69	Feilet kode 50, kode 8				21. mars		B22304	01.06.23
8									
9									

7.5 Rådata fra metodesammenligningen (Vedlegg 5)

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Analyse av troponin I på i-Stat							
2	Prøve nr	troponin T (ng/L)	Troponin I (ng/mL)	Troponin I (ng/L)	Dato for analysering	Observasjoner	Lot testkasset	Utløpsdato
3	1	7,82	0,00	-	20.mars	noe blakket	B22304	01.06.23
4	2	9,53	0,01	10.00	20.mars		B22304	01.06.23
5	3	13,66	0,01	10.00	20.mars		B22304	01.06.23
6	4	15,05	0,02	20.00	20.mars	Hemolyse	B22304	01.06.23
7	5	15,58	0,01	10.00	20.mars		B22304	01.06.23
8	6	42,95	0,08	80.00	20.mars		B22304	01.06.23
9	7	110,4	0,22	220.00	20.mars		B22304	01.06.23
10	8	117,1	0,28	280.00	20.mars		B22304	01.06.23
11	9	142,3	1,20	1,200.00	20.mars		B22304	01.06.23
12	10	157,0	1,41	1,410.00	20.mars		B22304	01.06.23
13	11	208,2	0,63	630	21.mars		B22304	01.06.23
14	12	26,65	0,02	20	21. mars		B22304	01.06.23
15	13	416,1	5,04	5040	21.mars		B22304	01.06.23
16	14	16,07	0,02	20	22. mars		B22304	01.06.23
17	15	17,14	0,01	10	21.mars	noe hemolyse	B22304	01.06.23
18	16	189,3	1,12	1120	21.mars		B22304	01.06.23
19	17	89,69	0,38	380	21.mars		B22304	01.06.23
20	18	60,90	0,14	140	21.mars		B22304	01.06.23
21	19	459,9	0,27	270	21.mars		B22304	01.06.23
22	20	46,35	0,17	170	21.mars		B22304	01.06.23
23	21	35,76	0,01	10	22-Mar		B22304	01.06.23
24	22	38,99	0,01	10	22-Mar		B22304	01.06.23
25	23	206.30	0,94	940	22-Mar		B22304	01.06.23
26	24	393.80	3,02	3020	22-Mar		B22304	01.06.23
27	25	486.90	5,95	5950	22-Mar		B22304	01.06.23
28	26	93.83	0,67	670	22-Mar		B22304	01.06.23
29	27	135.10	0,74	740	22-Mar		B22304	01.06.23
30	28	41.88	0,02	20	22-Mar	noe hemolyse	B22304	01.06.23
31	29	18.79	feilet, kode 123 (kassetffeil)		22-Mar		B22304	01.06.23
32	30	17.88	0,05	50	23. Mars	Sterk hemolyse	B22304	01.06.23
33	31	257.50	1,94	1940	23.Mars		B22304	01.06.23
34	32	74.84	0,32	320	23. Mars		B22304	01.06.23
35	33	81.50	0,05	50	23.Mars		B22304	01.06.23
36	34	19.13	0,02	20	23. Mars		B22304	01.06.23
37	35	44.60	0,05	50	23. Mars	noe hemolyse	B22304	01.06.23
38	36	232.30	1,45	1450	23.Mars	noe hemolyse	B22304	01.06.23
39	37	107.90	0,39	390	23. Mars	Hemolyse	B22304	01.06.23
40	38	195.30	1,13	1130	23.Mars	noe hemolyse	B22304	01.06.23
41	39	24.26	0,03	30	23. Mars		B22304	01.06.23
42	40	409,5	0,58	580	24. mars		B22304	01.06.23
43	41	261,2	2,38	2380	24. mars		B22304	01.06.23
44	42	270,9	0,44	440	27-Mar		B22304	01.06.23
45	43	323,3	3,54	3540	27-Mar		B22304	01.06.23
46	44	548,7	7,65	7650	27-Mar		B22304	01.06.23
47								

7.6 Rådata fra presisjonsanalysen (Vedlegg 6)

Presisjonsdata (ng/mL)

Vurdere avvik fra fasit

Prinsipp

Et prøvemateriale med kjent fasit analyseres mange ganger med en bestemt metode. Gjennomsnittsnivået for denne metoden er tilstrekkelig riktig hvis 90% konfidensintervallet til gjennomsnittet i sin helhet ligger i akseptområdet, som er fasit +/- tillatt systemisk avvik (bias)

Analyse

Fasit

Tillatt bias %

Analyseresultater

0,22
0,2
0,22
0,22
0,24
0,2
0,21
0,21
0,2
0,21
0,21
0,2
0,22
0,2
0,19
0,18
0,19
0,17
0,2

Antall resultater	19			
Gjennomsnitt	0,2047			
Varians	0,0003			
Standardavvik	0,0161	90% konfidensintervall for SD:	0,0127	0,0223
CV	7,8704 %	90% konfidensintervall for CV:	6,2146	10,8966 %
SEM	0,0037			
t (alfa1= 0,05)	1,7341			

90% konfidensintervall for gjennomsnittet: 0,1983 0,2111 **Ikke akseptabelt**
 Akseptområdet for gjennomsnittet:

