

NILAI DIAGNOSTIK UJI TROPONIN I KUANTITATIF METODE IMMUNOKROMATOGRAFI

(Diagnostic Value of A Quantitative Immunochromatography Assay for Troponin I)

Siti Fatonah*, Anik Widiyanti*, Tinny Endang Hernowati*

ABSTRACT

Cardiac troponins are the most sensitive and specific biochemical markers of myocardial damage but there is no standardization of WHO for cardiac troponin I, resulting in a variability for diagnostic value. It is necessary to determine diagnostic value for a new kit of troponin I. To evaluate a new quantitative immunochromatography assay for troponin I at a various cut off level. A cross sectional study was conducted in 64 patients with acute myocardial infarction (AMI) and 55 non-AMI as control from February to September 2007. The level of cardiac troponin I (cTnI) was measured and determined its diagnostic value at a various cut off level. The sensitivity, specificity, PPV and NPV of this assay were 91%, 91%, 92% and 89% at cut off level of 1,0 ng/ml (according to the kit), respectively. The cut off of cTnI were divided into five levels: 0.8, 1.0, 1.2, 1.5, and 2.0 with the area under curve were 0.923, 0.908, 0.912, and 0.897, respectively. The sensitivity were 94%, 91%, 86%, 81% and 72%, respectively, the specificity were 91%, 91%, 96%, 98% and 98%, respectively. This rapid diagnostic test is sensitive and specific to diagnose an acute coronary syndromes.

Key words: sensitivity, specificity, AMI, a quantitative cTnI assay

PENDAHULUAN

Sindroma koroner akut (SKA) mulai dari *Unstable angina* sampai *miokard infark*. *Miokard infark* ada 2 yaitu *Non-ST elevation miocard infark (NON-STEMI)*, *ST-elevation miocard infark (STEMI)*. Angka kejadian SKA semakin hari semakin meningkat, di dunia penyebab kematian nomor satu di dunia dan RS di Indonesia no. 5 adalah penyakit jantung koroner.^{1,2} Diagnosis SKA menggunakan kriteria WHO adalah didapatkan 2 atau lebih dari 3 kriteria: nyeri dada, perubahan EKG dan pertanda biokimia. Pertanda biokimia meliputi mioglobin, enzim kreatin kinase total (CK total), laktat dehidrogenase (LDH), kreatin kinase isoensim (CK-MB), kardiaktroponin I dan T (cTnI & cTnT). Mioglobin, CK total & LDH tidak spesifik untuk otot jantung, sedangkan CK-MB tidak dapat mendeteksi jejas yang kecil/lama, juga sedikit meningkat pada trauma otot.^{3,4} cTnI & cTnT spesifik untuk otot jantung dengan sensitivitas tes tinggi, di mana sudah meningkat pada nekrosis otot jantung yang kecil. Selain itu cTnI dan cTnT kuantitatif dapat dipakai untuk stratifikasi risiko mortalitas kejadian kardial dan mengikuti perjalanan penyakit. cTnT sudah distandarisasi WHO sehingga variasi sensitivitas dan spesifisitas antar produk relatif kecil, namun dipengaruhi oleh trauma otot dan gagal

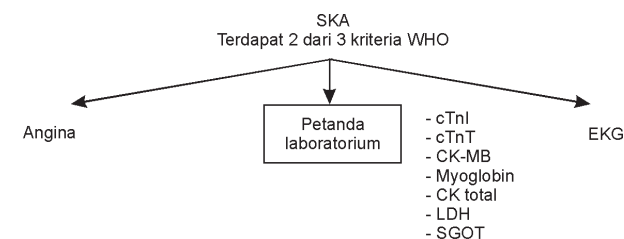
ginjal. cTnI belum distandarisasi WHO sehingga masing-masing produk mempunyai sensitivitas dan spesifisitas bervariasi, tapi tak dipengaruhi gagal ginjal dan trauma otot.⁵⁻⁹ Di Indonesia banyak beredar kit cTNI kualitatif namun tak dapat dipakai untuk mengikuti perjalanan penyakit dan stratifikasi risiko mortalitas. Baru-baru ini diperkenalkan kit uji cepat cTNI kuantitatif dengan bahan serum dan alat kecil.¹⁰ Metode fluorometri untuk cTNI cukup cepat namun membutuhkan alat fluorometer, sedangkan pengukuran cTnI kuantitatif metode *enzyme immuno assay* membutuhkan waktu lama.^{8,10-13} Karena variasi sensitivitas dan spesifisitas tes cTnI maka dibutuhkan suatu penelitian tersendiri.

Apakah uji imunokromatografi troponin I kuantitatif yang akan kita pakai mempunyai nilai diagnostik (sensitivitas dan spesifisitas) yang baik?

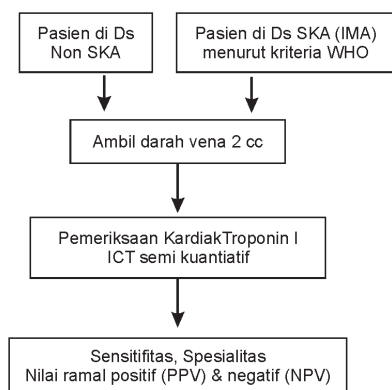
Tujuan penelitian ialah untuk mengukur nilai diagnostik uji cTNI kuantitatif, sehingga dapat memperbaiki pelayanan penderita penyakit jantung di rumah sakit. Manfaat penelitian ialah untuk mengetahui nilai diagnostik uji cTnI kuantitatif secara pasti, sehingga bila nilai diagnostiknya baik dapat dipakai untuk menunjang penatalaksanaan dan meningkatkan kualitas pelayanan penderita (pasien) penyakit jantung (IMA).

* Laboratory of Clinical Pathology Medical Faculty of Brawijaya University/ Dr. Saiful Anwar General Hospital Malang

Teori:



ALUR PENELITIAN



Gambar 1. Bagan teori dan alur penelitian

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah jenis observasional analitik dengan rancangan penelitian *cross sectional*. Penderita dengan nyeri dada yang datang ke rumah sakit dengan diindikasikan memenuhi kriteria WHO sebagai IMA (klinisi) dan juga diperiksa penderita lain dengan atau tanpa keluhan nyeri dada yang disebabkan karena penyakit lain dan berdasarkan kriteria WHO bukan IMA. Kedua kelompok diukur kadar cTnI (gambar 1).

Penderita atau keluarganya yang setuju mengikuti penelitian akan dimasukkan, sedangkan yang menolak tidak dilibatkan dalam penelitian ini.

Kriteria inklusi untuk penderita IMA: 1) Penderita (pasien) yang datang ke rumah sakit dengan nyeri dada khas untuk jantung dan di Dx IMA sesuai kriteria WHO; 2) Belum mendapat IMA; 3) Sampel diambil antara 3–120 jam sesudah serangan nyeri dada; 4) Bersedia mengikuti penelitian.

Kriteria inklusi untuk penderita non IMA: 1) Penderita (pasien) non IMA dengan umur yang sebanding yang datang ke rumah sakit; 2) Tanpa keluhan nyeri dada yang spesifik untuk otot jantung; 3) Tak memenuhi kriteria WHO untuk diagnosa IMA; 4) Hal yang dapat memberikan hasil positif palsu misalnya *rematoid factor*; 5) Bersedia mengikuti penelitian.

Perhitungan jumlah sampel dapat dilakukan dengan menggunakan rumus sesuai desain penelitian, uji kurve normal yang dapat dilakukan dengan melihat distribusi data yang terbentuk lonceng atau pun dengan menghitung Z score data yang telah di kumpulkan.¹⁴

Sampel darah diambil sebelum intervensi apapun, sampel berupa serum, di mana darah disentrifugasi pada 3000 g selama 15 menit. Uji cTnI kuantitatif ini merupakan uji kromatografi yang dikemas sedemikian rupa sehingga dengan satu langkah hasil sudah dapat diketahui dalam 20 menit berupa nilai titer.¹⁵ Metode pemeriksaan troponin pada penelitian ini adalah *Sandwich immuno chromatography*.

Sampel serum 5 tetes ($\pm 150 \mu\text{L}$) diteteskan pada *sample pad*, yang bergerak melalui konjugasi dan menggerakkan konjugasi anti-cTnI yang dilapiskan pada *pad conjugate*. Campuran bergerak diantara membran secara kapiler dan bereaksi dengan antibodi anti cTnI yang dilapiskan pada daerah uji. Jika kadar cTnI $\geq 1,0 \text{ ng/mL}$ menyebabkan terbentuknya pita warna pada daerah uji, tetapi jika tidak ada cTnI pada serum sampel daerah uji tetap tak berwarna. Sampel terus bergerak ke arah kontrol dan membentuk warna merah, menunjukkan uji yang valid. Pembacaan hasil menggunakan *STRATUS-DADE ANALYSER* (AIM), memberikan nilai kadar (titer) dalam satuan nanogram per ml ($\text{ng/mL}/\mu\text{g/L}$), hasil dibaca 15–0 menit, jangan membaca hasil setelah 20 menit. Perhitungan statistik dilakukan dengan program Catmarker dan SPSS 11.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Februari–September 2007, diperoleh 64 kasus IMA (11 wanita dan 53 pria) dan 55 non IMA, sedangkan penderita non IMA (23 wanita dan 32 pria). Pada 64 kasus IMA terdapat *non ST elevasi myocard infarction* (NSTEMI) 4 orang, IMA dan diabetes mellitus (DM) 3 orang, IMA dan hipertensi 3 orang, IMA dengan OMI (*Old Myocard Infarction*) 2 orang, IMA dan *Atrio Ventricular (AV) block* 2 orang, IMA dan kecelakaan lalu lintas 1 orang, IMA dan *cerebrovaskular accident* (CVA) 1 orang.

Pada non IMA terdiri dari OMI tanpa serangan akut 9 orang, gagal jantung 9 orang, riwayat penyakit jantung koroner 6 orang, normal 5 orang, ventrikel ekstrasistol 4 orang, penyakit obstruksi paru kronik (COPD) 3 orang, ventrikel hipertropi kanan 3 orang, RBBB (*right bundle branch block*) 2 orang, lain-lain 14 orang. Kelompok lain-lain masing-masing 1 orang terdiri dari penyakit ginjal akut, penyakit ginjal kronik, patah tulang leher, karsinoma paru, asthma, AV blok, perubahan ST V1-V2, fibrilasi ventrikel, fibrilasi atrial, *sinus arrest*, hipertensi, penderita

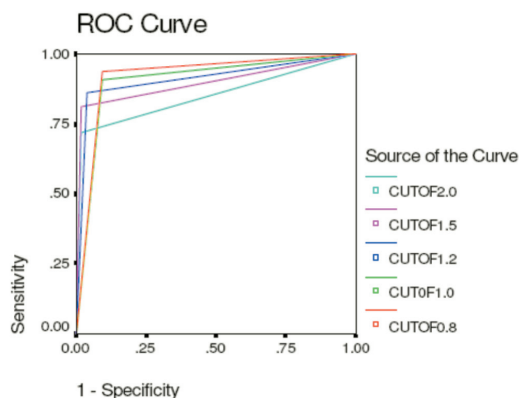
Tabel 1. Perbandingan data kasus IMA dan kontrol (non IMA)

	Ket	N	Minimal	Maksimal	Mean	SD	Nilai p
Troponin I (ng/ml)	P	64	0,04	67,07	12,70	13,45	0,000
	K	55	0,00	3,63	0,34	0,55	
CKMB (U/L)	P	56	1,10	1282,00	194,10	271,16	0,000
	K	36	6,00	83,00	28,64	18,89	
SGOT (U/L)	P	31	12,70	512,00	119,74	121,20	0,001
	K	34	7,00	166,00	37,75	47,30	
SGPT (U/L)	P	29	7,00	109,00	42,71	24,23	0,041
	K	33	9,00	139,00	42,71	24,23	
Usia (tahun)	P	64	28	99	57,75	12,13	0,110
	K	55	36	87	61,36	12,28	
Onset nyeri (jam)	P	64	4	120	30,30	26,69	-

P: penderita IMA K: kasus non IMA Derajat kemaknaan: p = 0,05

Tabel 2. Sensitivitas, Spesifisitas, PPV, NPV pada troponin dengan berbagai *cut off*

Cut off Troponin I (ng/ml)	0,8	1,0	1,2	1,5	2,0
Sensitivitas (%)	94	91	86	81	72
Spesifisitas (%)	91	91	96	98	98
Nilai ramal positif (PPV) (%)	92	92	96	98	98
Nilai ramal negative (NPV) (%)	93	89	85	82	75
Area under curve	0,923	0,908	0,912	0,897	0,850

**Gambar 2.** Kurve ROC troponin I pada berbagai nilai *cut off*

(pasien) dengan RA faktor positif, aritmia, ulkus lambung.

Hasil penelitian cTNI pada IMA $12,70 \pm 13,45$ ng/ml (mean $\pm$ SD), sedangkan non IMA $0,34 \pm 0,55$ ng/ml. Ini sesuai dengan penelitian sebelumnya di mana pada orang normal sehat kadar cTNI pada kurang dari $0,5 \mu\text{g/L}$.¹¹⁻¹³ Perhitungan sensitivitas, spesifisitas, PPV dan NPV dari *cut off* 1,0 ng/ml sesuai dengan petunjuk kit mendapatkan nilai sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV dan *area under curve* berturut turut adalah 92%, 91%, 92%, 89% dan 0,908. Hasil di atas cukup bagus untuk membantu diagnosa IMA. *Cut off* cTNI antar kit sangat bervariasi mulai dari $1 \mu\text{g/L}$, $1,2 \mu\text{g/L}$, $1,5 \mu\text{g/L}$, $2,0 \mu\text{g/L}$ bahkan ada yang

sampai $2,5 \mu\text{g/L}$.^{2,5,10-12,16} Berdasarkan perbedaan *cut off* cTnI antar kit yang bervariasi maka kami mencoba menggunakan berbagai nilai *cut off* untuk menghitung sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV dan *area under curve* dengan berbagai *cut off* yaitu 0,8; 1,0; 1,2; 1,5; 2,0 ng/ml dengan hasil yang terdapat pada tabel 2 dan gambar 1. Ternyata dari perhitungan di dapatkan *cut off* terbaik untuk cTnI penelitian kami adalah pada *cut off* 0,8 dan 1,0 ng/ml, di mana *cut off* 1,0 ng/ml sesuai dengan petunjuk kit nya. Meskipun demikian jika digunakan *cut off* 1,2; 1,5 dan 2,0 ng/ml nilai sensitivitas, spesifisitas masih cukup baik, di mana makin tinggi nilai *cut off* sensitivitas makin turun namun spesifisitas makin meningkat.

Waktu yang diperlukan untuk pemeriksaan troponin I dengan menggunakan berbagai metode misalnya fluorometri, imunokromatografi dan immunoassay (ELISA) sangat bervariasi yaitu mulai dari tes waktu yang cepat (*rapid test*) di mana waktu hanya 10–20 menit sampai ELISA dengan waktu lama yaitu membutuhkan waktu keseluruhan lebih dari 24 jam. Sampel pemeriksaan juga bervariasi dapat berupa serum, plasma, atau *whole blood*.^{8,10,16} Pada penelitian ini kami menggunakan sampel serum, waktu tes sekitar 20 menit, hal ini sangat menguntungkan karena sampel serum mudah didapatkan (bersama pemeriksaan kimia klinik rutin), juga waktu yang dibutuhkan cukup cepat untuk dapat segera menegakkan diagnosa penderita akut. Jika sampelnya membutuhkan bahan tertentu misalnya plasma heparin lebih susah didapatkan karena hanya pemeriksaan gas darah yang menggunakan sampel

darah heparin, di mana pemeriksaan gas darah lebih jarang dilakukan dibandingkan dengan kimia klinik secara rutin. Sehingga uji cepat cTNI ini cukup praktis dilaksanakan dilihat dari segi waktu cepat, sampel serum, sensitivitas, spesifisitas, PPV dan NPV, *area under curve* yang tinggi dan alat yang digunakan kecil, sehingga mudah dibawa ke tempat lain.

SIMPULAN DAN SARAN

Uji Cepat cTNI kuantitatif ini cukup praktis untuk dipakai secara rutin dalam menunjang diagnosa IMA karena cepat, bahan/sampel dapat bersama pemeriksaan kimia rutin yang lain, alat kecil dan bisa di bawa, dengan nilai diagnostik yang cukup tinggi. Tes ini dapat digunakan secara rutin untuk menunjang pelayanan di rumah sakit, sehingga membantu klinisi untuk melakukan diagnosa lebih cepat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Boestan IN, Akbar H. Sindroma koroner akut. Pada naskah lengkap pendidikan kedokteran berkelanjutan XVII Ilmu Penyakit Dalam FK Unair Surabaya. 2002; 206–9.
2. Andi Wijaya. Parameter biokimiawi untuk sindroma koroner akut. Forum Diagnosticum Prodia 2000; 2: 1–15.
3. Mair J, Morandel D, Genser N, Lechleithner P, Dienstl F, Puscheadorf B. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponins i and t for acute myocardial infarction. Clin Chem. 1995; 41: 1266–72.
4. Del Rey JM, Madrid AH, Valino JM. Cardiac troponin I and minor cardiac damage: biochemical markers in a clinical model of myocardial lesions. Clin Chem. 1998; 44: 2270–6.
5. Anonymous. The best biochemical markers of myocardial infarction (review). Scripps news 1996; 10: 2.
6. O'Brien PJ, Landt Y, Landeson JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. Clin Chem. 1997; 43: 2333–8.
7. Mc Laurin MD, Apple FS, Voss EM, Herzog CA, Sharkey SW. Cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatinekinase MB in dialysis patients without ischemic heart disease: evidence of cardiac troponin T expression in skeletal muscle. Clin Chem. 1997; 43: 976–8.
8. Bhayama V, Gougoulis T, Cohoe S, Henderson R. Discordance between results for serum troponin T and troponin I. Clin Chem. 1995; 41: 312–7.
9. Fahie-Wilson MN, Carmichael DJ, Delaney MP, Stevens PE, Hall EM, Lamb EJ. Cardiac troponin T circulates in the Free, Intact Form in Patients with Kidney Failure. Clin Chem. 2006; 52: 414–20.
10. Cristenson RH, Duh SH, New by K, Ohman EM, Califf RM, Granger CK. Cardiac Troponin I: Relative values in short term risk stratification of patients with acute coronary syndromes, Clin Chem. 1998; 44: 1198–208.
11. Zaninotto M, Altinier S, Lanchin M, Carraro P, Plebani M. Fluorometric method to measure cardiac troponin I in sera of patients with myocardial infarction. Clin Chem. 1996; 42: 1460–6.
12. Heesch C, Goldmann BU, Langenbrink L, Matschuck G, Hamm CW. Evaluation of rapid whole blood elisa for quantification of troponin I in patients with acute chest pain. Clin Chem. 1999; 45: 1789–96.
13. Apple FS, Masuren AJ, Mullins RE, Painter PC, Pessin-Minsley MS, Webster RA. Multicenter clinical and analytical evaluation of the axsym troponin I immunoassay to assist in diagnosis of myocardial infarction. Clin Chem. 1999; 45: 206–12.
14. Puspongoro HD, Wirya AGN Wila, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnaen Siti Z. Uji diagnostik. In Satroasmoro S, Ismail S. Edisi ke-2. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta, Sagung Seto. 2002; 166–84.
15. Package Insert AIM Troponin-I Q RAPID TES (AIM).
16. Package insert troponin-I for the qualitative assesment of cardiac troponin I in: Human Serum (PANBIO).