

# Due casi di incremento spurio di troponina I in pazienti con anticorpi eterofili

Matteo Cassin, Piero Cappelletti\*, Daniela Rubin\*, Martina Zaninotto\*\*, Franco Macor, Gian Luigi Nicolosi

U.O. di Cardiologia, \*U.O. di Patologia Clinica, A.O. Santa Maria degli Angeli, Pordenone, \*\*U.O. di Medicina di Laboratorio, Policlinico Universitario, Padova

*Key words:*  
Cardiac enzymes;  
Chest pain.

Cardiac troponin T and I are highly sensitive and specific biochemical markers for the detection of myocardial damage and they are now considered the preferred markers for the diagnosis of myocardial infarction.

Despite this, in some cases elevations in the serum levels of cardiac troponin T and I are not associated with a final diagnosis of cardiac necrosis.

These false-positive results are to be related to different interferences in immunometric assays.

We report 2 cases of false-positive troponin I results due to heterophilic antibodies. Two women admitted to the Emergency Department with acute chest pain persistently showed, in serial blood samples, elevated and constant values of troponin I serum levels. The results were confirmed as being false positives by treatment of the samples with heterophilic blocking reagent (Scantibodies Laboratory, Santee, CA, USA). Coronary artery disease was excluded at coronary angiography and at stress testing in the first case and at stress myocardial perfusion imaging in the second case.

In clinical practice, in case of persistently elevated but constant values of cardiac troponin without the time interval of release characteristic of acute syndromes, it is important to bear in mind the possible occurrence of false-positive cardiac troponin results due to the presence of heterophilic antibodies.

(Ital Heart J Suppl 2002; 3 (2): 235-238)

© 2002 CEPI Srl

Ricevuto l'8 agosto 2001;  
nuova stesura il 10 ottobre  
2001; accettato il 17  
ottobre 2001.

*Per la corrispondenza:*

Dr. Matteo Cassin

U.O. di Cardiologia  
A.O. Santa Maria  
degli Angeli  
Via Montereale, 24  
33170 Pordenone  
E-mail: mat54@iol.it

## Introduzione

Le troponine cardiache sono marcatori altamente sensibili e specifici di danno miocardico, più efficaci del CK-MB, e consentono il rilievo anche di minime lesioni miocardiche<sup>1-4</sup>. L'utilità delle troponine nell'approccio diagnostico e nella stratificazione del rischio dei pazienti con dolore toracico acuto è un dato provato<sup>5-7</sup>. Nel recente documento congiunto dell'European Society of Cardiology e dell'American College of Cardiology le troponine vengono considerate i marcatori preferenziali nella diagnosi biochimica di infarto miocardico<sup>8</sup>. Nello stesso documento viene inoltre sottolineato che l'incremento dei marcatori cardiaci è indicativo di danno miocardico, ma non necessariamente da causa ischemica. Inoltre vengono segnalati casi di incremento spurio delle troponine cardiache legati ad interferenze di diversa natura (fibrina, prodotti di degradazione, anticorpi eterofili)<sup>9-13</sup>.

Gli anticorpi eterofili sono anticorpi endogeni a debole avidità e multispecifici, prodotti durante il naturale processo di generazione della diversità anticorpale, in

grado di riconoscere come antigeni molteplici immunoglobuline animali. Alcuni autori distinguono, tra questi, degli anticorpi specifici anti-immunoglobuline umane provenienti dall'immunizzazione da proteine animali susseguenti a vaccini, terapie, contatti occupazionali o con animali da compagnia. Al di là della semantica e delle diversità di origine e classe immunoglobulinica (IgM o IgG), gli anticorpi eterofili, legandosi agli anticorpi di produzione animale utilizzati nei dosaggi immunologici, sono in grado di produrre risultati falsamente positivi nelle determinazioni analitiche<sup>14</sup>.

Riportiamo 2 casi di falso incremento di troponina I legato ad interferenze da anticorpi eterofili in pazienti giunti al Dipartimento di Emergenza con dolore toracico acuto.

## Metodologia di laboratorio

Nel nostro laboratorio il dosaggio della troponina I viene effettuato con un dosaggio immunometrico enzimatico basato sul principio "sandwich" (RxL Dade Behring,

Newark, DE, USA) in cui il campione viene incubato con particelle (fase solida) rivestite con un primo anticorpo monoclonale specifico per la troponina I cardiaca ed un secondo anticorpo monoclonale specifico per la troponina I coniugato con il marcatore enzimatico fosfatasi alcalina per formare un immunocomplesso (sandwich) fase solida-primo anticorpo/troponina I/secondo anticorpo-coniugato.

Dopo separazione magnetica e lavaggio, che rimuove analita e coniugato non legato al sandwich, successive reazioni chimiche permettono di misurare l'attività enzimatica della fosfatasi alcalina che è direttamente proporzionale alla concentrazione della troponina I cardiaca presente nel campione.

Il livello decisionale utilizzato per discriminare i pazienti negativi dai pazienti con danno miocardico è di 0.13 ng/ml.

La presenza di anticorpi eterofili è stata invece verificata con un metodo che utilizza un agente bloccante attivo costituito da un insieme di immunoglobuline dirette verso gli anticorpi eterofili (heterophilic blocking reagent, Scantibodies Laboratory, Santee, CA, USA).

Gli anticorpi eterofili interferiscono con le determinazioni analitiche che utilizzano come reagenti immunoglobuline di provenienza animale, ed in particolare nei metodi sandwich, in quanto hanno la capacità di legarsi a ponte tra l'anticorpo legato alla fase solida e l'anticorpo legato al coniugato, mimando la presenza dell'analita. L'agente bloccante è costituito da un insieme di immunoglobuline dirette contro gli anticorpi eterofili che legandosi ad essi ne elimina l'attività per impedimento sterico.

L'analisi del campione prima e dopo trattamento può dimostrare la presenza di anticorpi eterofili<sup>14</sup>.

## Descrizione dei casi

**Caso 1.** T.A.M., donna di 64 anni, con storia di ipertensione arteriosa in terapia, ipercolesterolemia, embolia polmonare nell'agosto 1998 trattata in fase acuta con eparina e quindi cronicamente con warfarin. La paziente veniva ricoverata il 10/2/1999 per dolore toracico a riposo seguito da sincope. L'obiettività cardiovascolare all'ingresso era negativa. L'emogasanalisi arteriosa mostrava pO<sub>2</sub> 96%, pCO<sub>2</sub> 35%, saturazione arteriosa di O<sub>2</sub> (SO<sub>2</sub>) 98%. L'ECG all'arrivo nel Dipartimento di Emergenza e anche successivamente era nei limiti di norma mentre il dosaggio della troponina I era patologico in due controlli successivi, a distanza di 6 e 12 ore (0.23 e 0.30 ng/ml) con valori di CK-MB massa nella norma.

L'ecocardiogramma era compatibile con lieve ipertrofia ventricolare sinistra senza alterazioni della cinetica segmentaria e con normale funzione globale di pompa ventricolare sinistra. Non erano presenti segni di sovraccarico ventricolare destro.

All'ECG dinamico non venivano rilevate aritmie ipocinetiche o ipercinetiche. Negativo il massaggio del seno carotideo.

La paziente nei giorni seguenti veniva sottoposta a coronarografia con documentazione di coronarie normali e dimessa in trattamento anticoagulante, betablocante ed antiaggregante con aspirina a basse dosi.

Il 3/4/1999 la paziente veniva nuovamente ricoverata per dolore gravativo in sede toracica anteriore, accentuato dagli atti respiratori e digitopressione. L'obiettività cardiovascolare era negativa e la SO<sub>2</sub> 97%.

L'ECG all'ingresso e in numerosi successivi controlli era sempre nei limiti di norma.

Venivano eseguiti i controlli seriatati dei marcatori di danno miocardico, CK totale (per motivi tecnici in questa occasione non era stato possibile dosare il CK-MB) e troponina I.

Il primo prelievo di CK risultava patologico (273 U/l, v.n. 20-230 U/l) mentre i successivi erano normali. La troponina I risultava sempre al di sopra del livello decisionale del nostro laboratorio, con valori oscillanti da 0.2 a 0.43 ng/ml, senza cinetica di incremento-decremento, anche a distanza di 20 giorni dall'ingresso. L'ecocardiogramma era sovrapponibile a quello del precedente ricovero. Un test da sforzo massimale risultava negativo per ischemia inducibile. Negative erano anche le ricerche di autoanticorpi, anticorpi antivirus, *Chlamydia* e fattore reumatoide. L'ormone tireotropo era nella norma.

La discrepanza fra i dati clinici e quelli di laboratorio ha fatto sospettare che l'incremento costante della troponina I fosse spurio. Utilizzando il metodo precedentemente descritto, è stata documentata la presenza di anticorpi eterofili. L'analisi del campione dopo trattamento ha dimostrato il ritorno alla normalità dei valori di troponina I.

Alla dimissione il dolore veniva interpretato come di origine parietale e la sincope di natura vasovagale indotta dallo stimolo doloroso.

**Caso 2.** S.M., donna di 64 anni con storia di tabagismo, dislipidemia, diabete mellito non insulino-dipendente, intervento per nodulo tiroideo, embolia polmonare (marzo 1999), sindrome depressiva in trattamento con farmaci antidepressivi. La paziente veniva ricoverata il 9/9/2000 per episodi di dolore toracico anteriore, insorto a riposo e associato a cardiopalmo tachicardico.

L'obiettività all'ingresso non era significativa, a parte il rilievo di polso tachicardico e di obesità (peso 87 kg, altezza 160 cm).

L'ECG mostrava tachicardia sinusale 100 b/min, ingrandimento atriale destro, alterazioni non specifiche della ripolarizzazione. L'emogasanalisi arteriosa evidenziava pH 7.48, pCO<sub>2</sub> 33%, pO<sub>2</sub> 99%, SO<sub>2</sub> 98%. L'ecocardiogramma era compatibile con normale funzione sistolica globale e regionale del ventricolo sinistro e non erano presenti segni di sovraccarico ventricolare destro.

Marcatori di danno miocardico (dosaggi seriatati ogni 4 ore nelle prime 24 ore): CK nei limiti di norma, CK-MB elevato all'ingresso (16 ng/ml, v.n. < 5 ng/ml) con persistenza di valori elevati durante la degenza, troponina I persistentemente elevata con valori variabili da 0.19 a 0.36 ng/ml. Nei limiti di norma il dosaggio di fT3, fT4, ormone tireotropo.

La scintigrafia miocardica con dipiridamolo non evidenziava ischemia miocardica. Il dosaggio della troponina I, dopo il trattamento con l'agente bloccante attivo costituito da immunoglobuline dirette verso gli anticorpi eterofili, risultava nella norma.

La paziente veniva dimessa con diagnosi di dolore toracico di verosimile natura parietale e l'incremento del CK-MB interpretato di probabile origine muscolare scheletrica. Al follow-up a 6 mesi non ci sono stati eventi.

## Discussione

Il ruolo diagnostico dei marcatori biochimici di danno miocardico è importante, in modo particolare, nei pazienti con dolore toracico ed ECG non diagnostico. Tra questi le troponine cardiache T e I sono attualmente considerate marcatori cardiaci preferenziali, vista l'elevata sensibilità e specificità diagnostica, superiore a quelle del CK-MB e degli altri marcatori tradizionali. Dai dati pubblicati risulta chiaro inoltre che, nella pratica clinica, la troponina I è comparabile alla troponina T, sia per quanto riguarda l'efficacia diagnostica che prognostica<sup>15</sup>.

Un concetto importante è che la diagnosi di infarto miocardico viene posta quando vi è un aumento analiticamente significativo di troponina purché venga ottenuto uno degli altri due criteri indicati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, cioè ECG e sintomatologia clinica.

L'incremento dei marcatori biochimici è indicativo di lesione miocardica ma non è sinonimo di meccanismo ischemico. Perciò un valore elevato di troponina cardiaca in assenza di evidenza clinica di ischemia deve indurre la ricerca di altre cause di danno miocardico<sup>8</sup>.

Negli ultimi anni sono stati documentati incrementi delle troponine cardiache in varie situazioni: scompenso cardiaco e shock cardiogeno, aritmie ipercinetiche o ipocinetiche, embolia polmonare, insufficienza respiratoria severa, stati settici, miocardite, traumi cardiaci, terapia antitumorale, cardioversione elettrica, terapia ablativa, interventi dei defibrillatori cardiaci impiantabili, neoplasie, emorragia subaracnoidea, sindrome ipereosinofila, insufficienza renale<sup>16-22</sup>.

In tutti questi casi si ammette una necrosi miocardica parcellare rilevabile biochimicamente per l'elevata sensibilità dei marcatori disponibili.

Sono stati segnalati, peraltro, casi caratterizzati da incrementi spurii di troponina dovuti alla presenza di

fattore reumatoide e di anticorpi eterofili<sup>13,23-25</sup>. Questi ultimi si riscontrano in circolo molto raramente con un'incidenza, nella popolazione normale, intorno al 3.1-15%<sup>23</sup> e quando presenti, interferiscono nei dosaggi immunometrici in una bassa percentuale di casi < 10%, variabile a seconda dello strumento utilizzato<sup>25</sup>.

Di fronte dunque a valori di troponina I elevati ma costanti nel tempo, cioè che non mostrano un picco di attività e in assenza di evidenza clinica di ischemia miocardica, si può ipotizzare la possibilità di un problema analitico e in particolare un incremento spurio dovuto alla presenza di anticorpi eterofili che l'uso di specifici reagenti può facilmente confermare.

È importante sottolineare che queste conclusioni, riferite al dosaggio della troponina I con metodo RxL Dade Behring, non possono essere trasposte automaticamente alla troponina T e nemmeno ad altri metodi di dosaggio della troponina I in quanto ogni sistema adotta precauzioni differenti per neutralizzare gli anticorpi eterofili.

In conclusione, il cardiologo ha attualmente a disposizione strumenti altamente efficaci nella diagnostica biochimica del danno miocardico. È però fondamentale la conoscenza che incrementi patologici delle troponine cardiache si possono rilevare in numerose situazioni patologiche non legate al meccanismo ischemico e che, seppur più raramente, si possono avere anche incrementi spurii legati ad interferenze analitiche. Ne consegue da una parte la necessità di un appropriato utilizzo di questo marcatore (nel sospetto di sindrome coronarica acuta) e dall'altra l'avvio di un percorso appropriato mediante controlli seriatati, secondo tempistiche protocollate per documentare la caratteristica curva di incremento-decremento temporale caratteristica della sindrome coronarica acuta<sup>26</sup>.

Nella validazione clinica dei dati biochimici di danno cardiaco la collaborazione cardiologo/medico di laboratorio appare in questo contesto di fondamentale importanza.

## Riassunto

Le troponine cardiache, marcatori altamente sensibili e specifici di danno miocardico, consentono il rilievo anche di minime lesioni miocardiche, e vengono attualmente considerate come marcatori preferenziali nella diagnosi biochimica di infarto miocardico. In letteratura sono stati segnalati casi di falsa positività delle troponine cardiache legati ad interferenze di diversa natura.

Vengono riportati 2 casi di incremento spurio di troponina I legato ad interferenze da anticorpi eterofili. Si trattava di 2 donne giunte in Dipartimento di Emergenza per dolore toracico con documentazione, nei controlli seriatati, di valori patologici di troponina I, che però rimanevano costanti nel tempo. La presenza di anticorpi eterofili è stata verificata mediante specifico metodo

di laboratorio (heterophilic blocking reagent, Scantibodies Laboratory, Santee, CA, USA). Gli accertamenti eseguiti (coronarografia e test da sforzo nel primo caso e scintigrafia miocardica con dipiridamolo nel secondo) escludevano la presenza di malattia coronarica.

Il cardiologo in presenza di valori di troponina cardiaca elevati e costanti nel tempo, ovvero che non mostrano la curva di incremento-decremento temporale tipica della sindrome coronarica acuta, deve considerare anche la possibilità di un problema analitico e in particolare un incremento spurio dovuto alla presenza di anticorpi eterofili.

*Parole chiave:* Dolore toracico; Enzimi cardiaci.

## Bibliografia

1. Antman EM, Grudzien C, Mitchell RN, Sacks DB. Detection of unsuspected myocardial necrosis by rapid bedside assay for cardiac troponin T. *Am Heart J* 1997; 133: 596-8.
2. Apple FS, Falahati A, Paulson PR, Miller E, Sharkey SW. Improved detection of minor ischemic myocardial injury with measurement of serum cardiac troponin I. *Clin Chem* 1997; 43: 2047-51.
3. Apple FS. Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine kinase MB. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 151-8.
4. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase MB, troponin I, and troponin T with cardiac pathology. *Clin Chem* 2000; 46: 338-44.
5. Hartmann F, Kampmann M, Frey N, et al. Biochemical markers in the diagnosis of coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998; 19: N2-N7.
6. Amsterdam EA, Lewis WR. Identification of low-risk patients with chest pain in the emergency department: another look of cardiac troponins. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 15-6.
7. Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreyman G, Berger J, Meinertz T. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *N Engl J Med* 1997; 337: 1648-53.
8. Myocardial infarction redefined - A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000; 21: 1502-13.
9. Roberts WL, Calcote CB, De BK, Holmstrom V, Narlock C, Apple FS. Prevention of analytical false-positive increases of cardiac troponin I on the Stratus II analyzer. *Clin Chem* 1997; 43: 860-1.
10. Katrukha AG, Bereznikova AV, Filatov VL, et al. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection. *Clin Chem* 1998; 44: 2433-40.
11. Yeo KT, Storm CA, Li Y, et al. Performance of the enhanced Abbot AxSYM cardiac troponin I reagent in patients with heterophilic antibodies. *Clin Chim Acta* 2000; 292: 13-23.
12. Covinsky M, Laterza O, Pfeifer JD, et al. An IgM lambda antibody to *Escherichia coli* produces false-positive results in multiple immunometric assays. *Clin Chem* 2000; 46: 1157-61.
13. Fitzmaurice TF, Brown C, Rifai N, et al. False increase of cardiac troponin I with heterophilic antibodies. *Clin Chem* 1998; 44: 2212-4.
14. Kaplan IV, Levinson SS. When is a heterophile antibody not a heterophile antibody? When it is an antibody against a specific immunogen. *Clin Chem* 1999; 45: 616-8.
15. Maynard SJ, Menown IBA, Adgey AAJ. Troponin T or troponin I as cardiac markers in ischaemic heart disease. *Heart* 2000; 83: 371-3.
16. La Vecchia L, Mezzana G, Ometto R, et al. Detectable serum troponin I in patients with heart failure of nonmyocardial ischemic origin. *Am J Cardiol* 1997; 80: 88-90.
17. Giannitis E, Muller-Bardoff M, Kurowski V, et al. Independent prognostic value of cardiac troponin T in patients with confirmed pulmonary embolism. *Circulation* 2000; 102: 211-7.
18. Roppolo LP, Fitzgerald R, Dillow J, Ziegler T, Rice M, Maisel A. A comparison of troponin T and troponin I as predictors of cardiac events in patients undergoing chronic dialysis at Veteran's Hospital: a pilot study. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 448-54.
19. Laurer B, Niederau C, Kuhl U, et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1354-9.
20. Spies C, Haude V, Fitzner R, et al. Serum cardiac troponin T as a prognostic marker in early sepsis. *Chest* 1998; 113: 1055-63.
21. Sato Y, Taniguchi R, Yamada T, et al. Measurement of serum concentrations of cardiac troponin T in patients with hyper-eosinophilic syndrome: a sensitive non invasive marker of cardiac disorder. (letter) *Intern Med* 2000; 39: 350.
22. Sato K, Masuda T, Izumi T. Subarachnoid hemorrhage and myocardial damage clinical and experimental studies. *Jpn Heart J* 1999; 40: 683-701.
23. Ward G, McKinnon L, Badrick T, Hickman PE. Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 417-21.
24. Ng SM, Krishnaswamy P, Morrissey R, Clopton P, Fitzgerald R, Maisel AS. Mitigation of the clinical significance of spurious elevations of cardiac troponin I in settings of coronary ischemia using serial testing of multiple cardiac markers. *Am J Cardiol* 2001; 87: 994-9.
25. Schiffman RB, James SH, Sadrzaden SMH. Between-assay variation in false positive troponin I measurements in patients on renal dialysis or with positive rheumatoid factor. (abstr) *Clin Chem* 1999; 45 (Suppl): 516.
26. Panteghini M, Dolci A, Galvani M, et al. I marcatori biochimici di danno miocardico nelle sindromi coronariche acute. Premesse e suggerimenti per un loro uso ottimale nella pratica clinica. *G Ital Cardiol* 1999; 29: 810-5.