

ARTICOLO ORIGINALE

Il problema dei falsi positivi e falsi negativi di troponina. Parte II: dati e riflessioni dalla IV indagine del GdS MM SIPMeL

The issue of false positive and false negative results of troponin. Part II: data and reflections from the IV survey of GdS MM SIPMeL on cardiac markers in Italy

Francesca VENEZIANI ¹ *, Gianni A. GALLI ², Lucia MALLOGGI ³,
Marco MORETTI ⁴, Margherita MORANDINI ⁵, Massimiliano MANNO ⁶, Maria A. BURGIO ⁷,
Elisabetta STENNER ⁸, Giulio MARINO ⁹, Dina DI MARIA ¹⁰, Deborah MAZZEI ³, Daniela RUBIN ¹¹,
Matteo CASSIN ¹², Alessio GAMBONI ¹³, Piero CAPPELLETTI ¹⁴, a nome del Gruppo di Studio sui Marcatori
Miocardici (GdS MM) della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (SIPMeL)

¹SOS Laboratorio Analisi, Ospedale S. Maria Nuova, USL Centro Toscana, Firenze, Italia; ²Estote Misericordes, Firenze, Italia; ³Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliero Universitaria di Pisa, Pisa, Italia; ⁴Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliero Universitaria Ospedali Riuniti Ancona, Ancona, Italia; ⁵Struttura Complessa Laboratorio Analisi, AAS5, Pordenone, Italia; ⁶Laboratorio Analisi, GVM Care&Research, Ospedale di Lecce, Lecce, Italia; ⁷Dipartimento di Patologia Clinica, Ospedale Barone Lombardo, Canicatti, Agrigento, Italia; ⁸Struttura complessa Patologia Clinica, ASUITS, Trieste, Italia; ⁹Laboratorio Analisi, AUSL Bologna, Vergato, Bologna, Italia; ¹⁰Laboratorio Analisi Polimedica, Ravanusa, Agrigento, Italia; ¹¹Laboratorio Analisi AULSS2, Conegliano Veneto, Treviso, Italia; ¹²Dipartimento di Cardiologia, Casa di Cura San Giorgio, Pordenone, Italia; ¹³Unità di Medicina d'Urgenza, ASL2 Foligno, Perugia, Italia; ¹⁴SIPMeL, Castelfranco Veneto, Treviso, Italia

*Autore di contatto: Francesca Veneziani, Laboratorio Analisi, Ospedale S. Maria Nuova, piazza S. Maria Nuova 1, 50122 Firenze, Italia.
E-mail: francesca.veneziani@uslcentro.toscana.it

RIASSUNTO

Premesse: Il problema dei risultati falsi positivi (FP) e falsi negativi (FN) di troponina (cTn) è presente in letteratura con continuità, anche nell'era della troponina ad alta sensibilità (hs-cTn). La IV Indagine sull'uso dei marcatori miocardici del Gruppo di Studio sui Marcatori Miocardici (GdS MM) di SIPMeL ha voluto verificare la percezione del problema e le azioni di contenimento e risoluzione nei Laboratori italiani.

Metodi: Centoventidue laboratori da venti regioni italiane hanno risposto a un questionario con 62 domande posto nel sito web della SIPMeL da maggio a dicembre 2017. Tre domande erano rivolte a valutare la percezione del numero di FP/FN di cTn e le azioni correttive conseguenti.

Risultati: Il 35% dei rispondenti all'indagine segnala di conoscere il problema e il 26% descrive il metodo di misurazione (quantificazione 53%, stima 47%). Il 35% di chi conosce il problema ne stima/misura meno di 6/anno, il 47% tra 10 e 50/anno e solo il 18% più di 100/anno, indipendentemente dalla quantità totale di cTn eseguite per anno e dal tipo di strumentazione utilizzata.

Le azioni di prevenzione e risoluzione mostrano un'attenzione rivolta principalmente alla fase preanalitica (61.5%) e in seconda battuta alla fase analitica (30%). Protocolli interni per le cause più frequenti (anticorpi eterofili) e rapporto con il clinico sono scarsamente rappresentati (8%).

Conclusioni: Il problema dei FP/FN di cTn riguarda un numero assai piccolo di campioni (<1%) e tuttavia può rappresentare una difficoltà importante nella classificazione dei pazienti con sospetta sindrome coronarica acuta. Il tema è poco percepito e le azioni per fronteggiarlo disperse e farraginose. Sono necessarie azioni delle Società Scientifiche per sensibilizzare laboratoristi e clinici ad azioni condivise ed *evidence-based*.

(Per citare questo articolo: Veneziani F, Galli GA, Malloggi L, Moretti M, Morandini M, Manno M, *et al.*; Gruppo di Studio sui Marcatori Miocardici (GdS MM) della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (SIPMeL) Il problema dei falsi positivi e falsi negativi di troponina. Parte II: dati e riflessioni dalla IV indagine del GdS MM SIPMeL. Riv Ital Med Lab 2019;15:140-3. DOI: 10.23736/S1825-859X.19.00017-3)

Parole chiave: Troponina; hs-cTn; Interferenze; Falsi positivi; Falsi negativi.

ABSTRACT

Background: The scientific literature highlights the issue of false positive (FP) and false negative (FN) results of troponin (cTn) also in the era of high sensitivity troponin (hs cTn). The IV survey on the use of cardiac markers in Italy, made by Working Group on Cardiac Markers of Italian Society for Clinical Pathology and Laboratory Medicine (GdS MM SIPMeL) in 2017, investigated the problem in Italian Laboratories.

Methods: One hundred twenty-two colleagues from 20 Italian Regions answered a 62-items Questionnaire on the SIPMeL website in summer and fall 2017. Three questions were dedicated to the perception and the corrective actions of the FP/FN results of cTn.

Results: Thirty-five per cent of responders were aware of FP/FN issue in cTn measuring and 26% described the method of measurement (53% registration, 47% estimation). Among those aware of the issue, 35% measures <6 events/year, 47% 10-to-50/year and 18% >100/year, regardless of the total quantity of cTn performed per year and the method/equipment used. The actions for prevention and correction of FP/FN cTn paid attention mainly to the preanalytic (61.5%) and secondly to the analytical phase (30%). Internal protocols for the most frequent causes (*i.e.* heterophilic antibodies) and relationship with the clinicians are under-represented (8%).

Conclusions: The issue of FP/FN cTn is present in a small number of samples of cTn measuring (<1%); nevertheless, it could determine an important misclassification of patients with suspected acute coronary syndromes (ACS). The theme is poorly perceived and corrective actions are usually not well defined in the Italian Laboratories. Interventions by the Scientific Societies are needed to raise awareness of clinical laboratories for actions evidence-based and shared with clinicians.

Key words: Troponin; False positive reactions; False negative reactions.

Introduzione

Il problema dei risultati falsi positivi (FP) e falsi negativi (FN) di troponina (cTn) è presente in letteratura con continuità, anche nell'era della troponina ad alta sensibilità (hs-cTn). In una recente ricerca quasi-sistematica¹ è emerso che il numero di segnalazioni non diminuisce nell'era della troponina ad alta sensibilità (hs-cTn) ma piuttosto è caratterizzato dall'aumento di articoli dedicati all'aspecificità clinica, intesa come specificità nel diagnosticare le sindromi coronariche acute (SCA) e cioè il danno di origine ischemica, e alla specificità tissutale (hs-cTn in malattia renale cronica e miopatie). Sul versante delle interferenze analitiche si assiste al predominio dei FP da anticorpi eterofili e l'emergere di nuovi interferenti come la biotina, gli autoanticorpi antitroponina e (potenzialmente) gli anticorpi monoclonali somministrati al paziente per scopi diagnostici o terapeutici.¹ Negli ultimi cinque anni, inoltre, sono comparse almeno sette revisioni critiche del

problema che si sono concluse con proposte più o meno complete di azioni preventive e correttive.²⁻⁸ Tuttavia, la prevalenza delle interferenze analitiche nella vita reale non è universalmente riconosciuta, oscillando tra dati inferiori o intorno all'1% fino a valori a due cifre, e non esistono dati circa la reale percezione degli operatori e le caratteristiche delle azioni preventive e correttive.

Alla luce di tale problematica, la IV Indagine sull'uso dei marcatori miocardici del Gruppo di Studio sui Marcatori Miocardici (GdS MM) di SIPMeL ha voluto verificare, tra l'altro, la percezione e le azioni di contenimento e risoluzione del problema dei FP/FN di cTn nei Laboratori italiani.⁹

Materiali e metodi

La IV indagine sui marcatori miocardici è stata condotta attraverso la compilazione di un questionario, accessibile su piattaforma SurveyMonkey® dal 15 maggio al 15

dicembre 2017 sul sito della Società all'indirizzo <http://www.sipmel.it/it/comunicazione/notizie/109706>.

I dettagli metodologici del Questionario, costituito da 62 quesiti con opzioni multiple e risposte aperte, e i risultati generali derivati dai 122 questionari validati, sui 152 così raccolti, sono descritti in altra sede.⁹ Tre item erano dedicati ad esaminare la percezione del problema dei FP/FN di cTn e le azioni conseguenti.

Risultati

Il 27% dei rispondenti non sa se esistono misurazioni e azioni per FP/FN di cTn nel proprio Laboratorio e il 38% dichiara che non sono presenti, mentre il 35% risponde affermativamente e il 26% descrive il metodo di misurazione (53% quantifica, 47% stima), il numero registrato e le misure correttive.

Il 35% di coloro che conoscono il problema ne stima/misura meno di 6 per anno, il 47% tra 10 e 50 per anno e solo il 18% più di 100 per anno, indipendentemente dalla quantità totale di cTn eseguite e dal tipo di metodo/strumentazione utilizzati. Un solo rispondente cita un valore di interferenze pari al 10% per anno. Gli altri percepiscono un'incidenza $\leq 0.1\%$ (Figura 1).

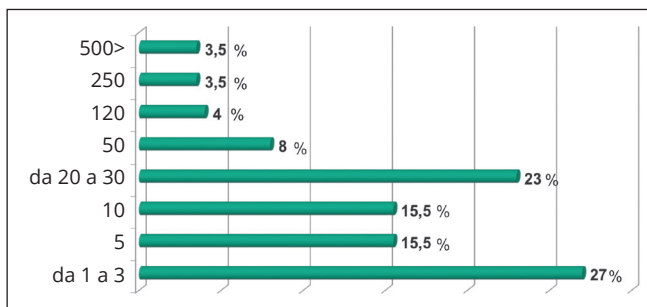


Figura 1.—Numero di casi di FP/FN di troponina stimati/misurati per anno (dati a sinistra) e percentuali di rispondenti nella IV Indagine GdS MM che li indicano.

Le azioni di contenimento e soluzione descritte dai rispondenti sono riassunte in Tabella I, e mostrano un'attenzione rivolta principalmente alla fase preanalitica (61.5%) (in particolare il prelievo) percepita come il punto più debole del *total testing process* della determinazione di cTn e solo in seconda battuta alla fase analitica (30.5%). Protocolli interni per le cause più frequenti e un rapporto codificato con il clinico sono scarsamente rappresentati (8% protocollo anticorpi eterofili; 4% colloquio diretto con il clinico; 4% note sul referto).

Discussione

I dati della IV Indagine del GdS MM offrono lo spunto per una riflessione sulla dimensione del problema, la sua percezione, le misure di contenimento e soluzione.

Innanzitutto il problema è largamente sottovalutato: solo un terzo circa degli intervistati conosce il problema e solo un quarto ha definito misure preventive e correttive, molto spesso non ben strutturate e poco condivise con i clinici di riferimento.

La determinazione di quanti siano nella realtà di tutti i giorni i FP/FN di cTn non è facile. Infatti, se consultiamo le recenti revisioni di letteratura sulle diverse cause di FP/FN,²⁻⁸ dovremo concludere che la dimensione del problema dovrebbe essere rappresentata da una percentuale a 2 cifre per anno, dato che le cause principali per FP (emolisi, fibrina, interferenze immunologiche) e per FN (emolisi, fibrina, autoanticorpi) assommate raggiungerebbero un'incidenza superiore al 10%. In Laboratori con un'attività tra 5000 e 50.000 cTn/anno, che rappresentano l'83% del campione della IV Indagine sui Marcatori Miocardici di GdS MM SIPMeL, ci dovrebbero essere da 500 a 5000 casi di interferenza/anno, dati ben distanti da quelli forniti dai rispondenti. Nella pratica italiana, dunque, le interferenze di rilevanza clinica paiono essere rare. E, in effetti, anche in letteratura si trovano indicazioni di sintesi di FP/FN inferiori o vicini all'1%.^{2, 7, 10, 11}

TABELLA I.—Azioni di contenimento e risoluzione dei FP/FN cTn secondo i rispondenti la IV Indagine sui Marcatori Miocardici in Italia del GdS MM SIPMeL.

Fase analitica	30.5%	Ripetizione 15.5% (3% su tutti i positivi non noti) Manutenzione interna (aghi, circuiti) ed esterna; verifica strumentale 12% Verifica CQI e calibrazioni 8% Misura cTn su diverso strumento/metodo 10% Protocollo per anticorpi eterofili 8%
Fase preanalitica	61.5%	Qualità del campione: attenzione alla centrifugazione (retrazione del coagulo 3%; fibrina 7%) e ai serum index 8%; ri-centrifugazione 12% Qualità del prelievo 3% Qualità della provetta/matrice (Li-eparina; agitazione) 12%
Fase postanalitica	8%	Protocolli condivisi con il clinico 4% Nota sul referto 4%

Quali possono essere le ragioni della discrepanza tra potenziali incidenze e reali criticità? Innanzitutto, la maggior parte delle possibili cause induce variabilità non clinicamente rilevanti o rilevate (cioè non mis-classificano i pazienti) e quindi il clinico non le segnala.² In secondo luogo, il miglioramento tecnico dei *kit* (sostanze protettive) e il disegno dei metodi ad alta sensibilità ha oggettivamente minimizzato l'impatto dei FP/FN⁵ e in terzo luogo, il corretto utilizzo di metodi e strumenti (manutenzioni, calibrazioni, controlli) e dei campioni (matrice adeguata; controllo dell'integrità e qualità) elimina alla base buona parte delle cause d'interferenza.⁷ La diversa incidenza del problema rilevata dai rispondenti alla IV Indagine potrebbe dipendere dal fatto che, mentre le interferenze anticorpali dipendono dal disegno del *kit* e sono uguali per produttore, quelle preanalitiche, dipendendo largamente dalle manovre di prelievo e di trattamento del campione, possono variare ampiamente da laboratorio a laboratorio. Infine, le cTn sono di solito richieste in serie per cogliere il *rise and fall* delle SCA e quindi l'eventuale valore singolo analiticamente anomalo viene valutato nel complesso dei prelievi ripetuti.² Nella diversa percezione delle dimensioni del problema nei Laboratori italiani pesa, altresì, la consapevolezza del problema e dei suoi determinanti.¹

Tuttavia, le interferenze vanno riconosciute perché potenzialmente pericolose.^{2, 5, 7} Nei dati della IV Indagine, l'attenzione dei Laboratori, quando presente (26% degli intervistati), è rivolta alla qualità del campione (fibrina, emolisi) con interventi prevalentemente tecnici (ri-centrifugazione; ripetizione del campione) e in numero minore strategici (formazione del personale, protocolli, politiche di prevenzione), solo talora inseriti in algoritmi gestionali più complessi. Poco rappresentate sono le ricerche e i protocolli per accertare specifici FP (anticorpi eterofili e fattore reumatoide) e il colloquio con il clinico per via diretta e/o con note esplicative sul referto. Inoltre l'attenzione si focalizza pressoché unicamente verso i FP, mentre i FN appaiono sostanzialmente misconosciuti.

Conclusioni

In conclusione, il problema dei FP/FN di cTn riguarda un numero assai piccolo di campioni (<1%) e tuttavia può rappresentare una difficoltà importante nella classificazione dei pazienti con sospetta SCA. Il tema è poco percepito e le azioni per fronteggiarlo sono spesso mal definite. Sono necessari interventi delle Società Scientifiche per sensibilizzare laboratori e clinici ad azioni condivise ed *evidence-based*.

Bibliografia

1. Veneziani F, Manno M, Stenner E, Moretti M, Morandini M, Galli GA, *et al.*; Gruppo di Studio sui Marcatori Miocardici (GdS MM) della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (SIPMeL). Il problema dei falsi positivi e falsi negativi di troponina. Parte I: revisione critica della letteratura. *Riv Ital Med Lab* 2019;15:000-000.
2. Mair J, Lindahl B, Müller C, Giannitsis E, Huber K, Möckel M, *et al.* What to do when you question cardiac troponin values. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2018;7:577-86.
3. Morton A. When lab tests lie... heterophile antibodies. *Aust Fam Physician* 2014;43:391-3.
4. Zaninotto M, Clerico A, Casagrande I, Galvani M, Plebani M. A false positive case of cardiac troponin I: which diagnostic approach? *Int J Cardiol* 2014;177:e42-3.
5. Vafaie M, Biener M, Mueller M, Schnabel PA, André F, Steen H, *et al.* Analytically false or true positive elevations of high sensitivity cardiac troponin: a systematic approach. *Heart* 2014;100:508-14.
6. Okyay K, Yıldırım A. The preanalytical and analytical factors responsible for false-positive cardiac troponins. *Anatol J Cardiol* 2015;15:264-5.
7. Herman DS, Kavsak PA, Greene DN. Variability and Error in Cardiac Troponin Testing: An ACLPS Critical Review. *Am J Clin Pathol* 2017;148:281-95.
8. Wu AH, Christenson RH, Greene DN, Jaffe AS, Kavsak PA, Ordóñez-Llanos J, *et al.* Clinical Laboratory Practice Recommendations for the Use of Cardiac Troponin in Acute Coronary Syndrome: Expert Opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2018;64:645-55.
9. Galli GA, Malloggi L, Moretti M, Morandini M, Veneziani F, Burgio MA, *et al.*; Gruppo di Studio sui Marcatori Miocardici (GdS MM) della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (SIPMeL). La IV indagine del GdS MM SIPMeL: i marcatori miocardici di "necrosi" in Italia. *Riv Ital Med Lab* 2018;14:87-96.
10. Ungerer JP, Marquart L, O'Rourke PK, Wilgen U, Pretorius CJ. Concordance, variance, and outliers in 4 contemporary cardiac troponin assays: implications for harmonization. *Clin Chem* 2012;58:274-83.
11. Li Y, Wang X, Xu L, Wen X. Rapid identification of falsely elevated serum cardiac troponin I values in a stat laboratory. *Lab Med* 2014;45:82-5.

Conflitti di interesse.—Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.

Studi condotti su esseri umani e animali.—Per questo tipo di studio non è richiesto l'inserimento di alcuna dichiarazione relativa agli studi effettuati su esseri umani e animali.

Consenso informato.—Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i pazienti inclusi nello studio.

Pubblicato online: 1 luglio 2019. - Accettato: 15 marzo 2019. - Ricevuto: 14 febbraio 2019.