

RASSEGNA

Lipemia: un'interferenza dimenticata? Considerazioni e Raccomandazioni. GdS VEA SIPMeL

Lipemia: an overlooked interference? Some considerations and recommendations. Extra-analytical Variability Working Group of Italian Society for Clinical Pathology and Laboratory Medicine (GdS VEA SIPMeL)

Margherita MORANDINI *

Laboratorio Analisi, ASFO, Pordenone, Italia

*Autore di contatto: Margherita Morandini, via B. d'Alviano, 33170 Pordenone, Italia. E-mail: margherita.morandini@gmail.com

RIASSUNTO

La "lipemia", definita come accumulo di lipoproteine che determinano torbidità del campione, è causa d'interferenza analitica, con meccanismi molteplici. La frequenza dell'interferenza è eterogenea perché le cause sono diverse in aree geografiche diverse, tra ricoverati ed ambulatoriali, e risentono del metodo di rilevazione (visuale, determinazione dei trigliceridi, determinazione automatica degli "indici del siero") e di criteri di valutazione non standardizzati. Per dimostrare l'effetto della lipemia sugli esami di laboratorio si può agire sul campione, con la determinazione di analiti prima e dopo la rimozione dei lipidi con metodi diversi (ultracentrifugazione, centrifugazione spinta, estrazione), oppure sul paziente, con infusione endovenosa di emulsione di lipidi in pazienti o pasto di prova in soggetti sani. Il metodo più fisiologico è il pasto di prova, che ha mostrato effetti clinicamente significativi sugli esami più comuni ematologici e biochimici. Sono stati dimostrati importanti effetti anche su ormoni e farmaci. Tuttavia, la lipemia è spesso trascurata, anche se può rappresentare un rischio di errore analitico e di danno al paziente. Si raccomanda, pertanto, che i Laboratori pongano maggior attenzione al problema e procedure standardizzate per l'identificazione e il trattamento dei campioni sospetti e per la gestione dei risultati. Poiché la ragione principale di lipemia, almeno nei pazienti ambulatoriali, è il mancato digiuno, si raccomanda che le linee guida insistano ancora nel rispetto delle indicazioni del digiuno per la "normale" attività di prelievo, con eccezione per specifici pazienti (cardiovascolari, pediatrici, diabetici e in condizioni di emergenza).

(Per citare questo articolo: Morandini M. Lipemia: un'interferenza dimenticata? Considerazioni e Raccomandazioni. GdS VEA SIPMeL. Riv Ital Med Lab 2020;16:26-33. DOI: 10.23736/S1825-859X.20.00052-3)

Parole chiave: Lipemia; Interferenza analitica; Prelievi a digiuno.

ABSTRACT

Lipemia is the result of increased serum or plasma concentrations of lipoproteins, which may cause interference by many mechanisms, mainly light scattering, volume displacement, and absorption of hydrophobic analytes. The real frequency is heterogeneous in different populations and in different times, also depending on methods of detection (visual, by triglycerides concentration measurement, automatic L-index) and on non-standardized interference criteria. For demonstrating the Lipemia effects, two principal methods can be applied: on the sample by the determination of analytes before and after the lipids removal (by ultracentrifugation, high speed centrifugation, or extraction) or in the patients after intravenous emulsion lipid administration or after a standardized meal. The last one is the most physiologic method and demonstrated significant effects on common biochemical and hematologi-

cal tests for moderate assumption of lipids. Significant effects were demonstrated also for hormones and drugs. Nevertheless, the Lipemia interference appears as an overlooked issue. Consequently, Laboratories must have more attention to the problem and a written procedure for identifying and treating the samples and managing the results in presence of Lipemia. Since the principal cause of Lipemia interference, at least in outpatients, is non-fasting blood sampling, guidelines must confirm the need of fasting state before blood sampling in every patients, except in some specific disease and setting (emergency, risk of hypoglycemia, pediatric patients, cardiovascular patients).

Key words: Lipemia; Analytical interferences; Fasting blood sampling.

Lipemia come interferenza analitica

La “lipemia”, definita come accumulo di lipoproteine che determinano torbidità del campione, è causa d’interferenza analitica. Interferenza analitica è, per definizione, la deviazione dal valore “vero” dell’analita, causata dalla presenza di sostanze endogene o esogene, fonte rilevante di errore di laboratorio e di potenziale danno al paziente per errata diagnosi.¹

Nella “lipemia” la torbidità del campione è determinata dai livelli plasmatici di particelle sieriche di grande volume costituite dai trigliceridi (TG), trasportati prevalentemente dai chilomicroni, dai *chylomicron remnants* (RLP), formati dai TG per idrolisi dall’enzima endoteliale lipoprotein-lipasi dopo un pasto, e dalle *very low-density lipoprotein particles* (VLDL), rilasciate nel sangue dal fegato che ha assemblato triacilgliceroli e esteri del colesterolo con Apo B-100 e idrolizzate dalla lipoprotein-lipasi per dare *VLDL remnants* o *intermediate-density lipoprotein* (IDL o VLDL M).² Anche se l’effetto interferente è dato dalla “torbidità” del campione determinata dalle particelle lipidiche, i due termini non vanno confusi perché la torbidità può essere determinata da diversi altri fattori: debris eritrocitari; aggregati di piastrine, leucociti e fibrina, e altre particelle contaminanti, comprese proteine monoclonali e mezzi di contrasto.³ Inoltre, il grado dell’interferenza dipende sia dal numero sia dalla grandezza delle particelle lipoproteiche presenti nel campione (le VLDL variano in dimensioni da 27 nm a 200 nm; i chilomicroni da 70 nm a 1000 nm). Poiché questi determinanti sono estremamente variabili nei pazienti e nei campioni, anche gli effetti sono molto variabili e difficilmente riproducibili, in particolare con preparazioni lipidiche artificiali.⁴ Tuttavia, una standardizzazione è stata tentata dal documento CLSI C-56, che indica una scala semi-quantitativa correlata a concentrazioni di Intralipid® al 20% (1+ a 125 mg/dl, 2+ a 250 mg/dl, 3+ a 500 mg/dl, 4+ a 1000 mg/dl).⁵

Meccanismi d’interferenza

I meccanismi d’interferenza da lipemia sono molteplici.¹ Il principale è l’aumento dell’assorbimento nei metodi spettrofotometrici, con incremento dei valori degli analiti così determinati. In dettaglio, l’interferenza spettrofotometrica dipende dalla diminuzione di trasmissione della luce a lunghezze d’onda tra 300 nm e 700 nm, con un massimo a 340 nm, cioè nell’area in cui si legge la reazione NAD(P)+ NAD(P)H + H+, utilizzata per molti esami biochimici comuni se eseguiti con metodi spettrofotometrici di tale natura (es. per il glucosio i metodi basati sull’uso di esochinasi/glucosio-6-fosfato-deidrogenasi). Questo meccanismo d’interferenza è presente anche nei metodi immunoturbidimetrici e nefelometrici.⁶ Fattori della grandezza dell’interferenza, ulteriori alla lunghezza d’onda, sono la direzione della reazione e l’utilizzo del bianco nel metodo analitico, ma anche l’architettura del kit. Ciò rende ragione delle differenze d’interferenza tra Produttori, strumenti e kit nominalmente simili.⁷ Il secondo effetto importante è lo spiazzamento del volume tra parte acquosa e non del campione. Per gli analiti presenti nella fase acquosa, tipicamente gli elettroliti, la lipemia determina valori inferiori al “vero” (la più evidente è la pseudoiponatremia),⁸ nei metodi che richiedono diluizione come la fotometria a fiamma e la potenziometria indiretta (metodo ISE indiretto). Nei metodi ISE diretti l’effetto negativo non dovrebbe essere presente. Tuttavia recentemente Sen *et al.*⁹ hanno confermato con 2 diversi strumenti che anche la potenziometria diretta è affetta dall’interferenza da lipemia, in modo progressivo e statisticamente rilevante per valori elevati di lipidi (TG>650 mg/dL). Effetti di compartimentazione del campione (sopranatante/infranatante) sono stati segnalati, dopo centrifugazione, per sostanze idrofobiche che si situano nell’area ricca di lipidi, come per esempio i farmaci idrofobici.¹ Sono stati, inoltre, segnalati anche effetti fisici strumentali in elettroforesi capillare con aumento delle alfa-2-globuline¹⁰ ed effetti chimici aspeci-

fici in metodi immunometrici.^{11, 12} Infine, la non omogeneità del campione lipemico può interferire con i sensori automatici degli analizzatori, dando segnali erronei di “campione insufficiente”, e con i sistemi di pipettamento/aliquotazione.¹³

Oltre ad interferire con la valutazione del valore “vero”, la lipemia ha altri effetti negativi. Essa, infatti, peggiora in maniera importante la riproducibilità del dato in una lunga serie di analiti^{14, 15} e induce un tasso più elevato di emolisi. La ragione di tale effetto pro-emolitico della lipemia non è ben conosciuto, ma si suppone un effetto simil-detergente che faciliti la disgregazione della membrana eritrocitaria. Nello studio di Mainali *et al.*¹⁶ oltre il 70% dei campioni con un indice lipemico superiore a 300 erano emolizzati e il 40% aveva un indice di emolisi superiore a 300, cioè marcatamente emolitici.

Lipemia: un'interferenza sopravvalutata o trascurata?

Nonostante l'importanza degli effetti interferenti, agli inizi degli anni 2000 alcuni autori affermavano che la lipemia sarebbe stata un'interferenza sopravvalutata.¹⁷ Più recentemente, nonostante la diminuzione (apparente?) dell'incidenza,³ ci si lamenta che sia un'interferenza analitica trascurata, a differenza dell'emolisi.^{7, 13} In effetti, una ricerca su PubMed (dicembre 2019), per “*Lipemia interference, humans*” seleziona 294 articoli come “Most recent” e 516 come “Best matches”, mentre quella per “*Hemolysis interference, humans*” ne restituisce 417 come “Most recent” e 622 come “Best matches”.

La consapevolezza del problema da parte dei Laboratori è disomogenea ma tendenzialmente bassa. In ambito croato, particolarmente attivo nella problematica preanalitica, una *survey* ha mostrato come essa fosse presente solo nel 60% dei Laboratori intervistati; avvertenza minore è stata rilevata esclusivamente per l'errore accettabile (47.2%) e l'interferenza “ittero”.¹⁸ Un'altra indagine mostrava che solo il 55% dei Laboratori forniva informazioni adeguate sullo stato di digiuno.¹⁹ Anche in conseguenza di ciò, i pazienti, pur dichiarando di rispettare il digiuno nel 93% dei casi, non sapevano spiegarne esattamente il significato nel 61.3% dei casi.²⁰ Anche in ambito europeo, l'attenzione alla lipemia è limitata, come mostra un'ampia indagine recentissima del *Working Group for the Preanalytical Phase of European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (WG-PRE EFLM)*. Tra i 1416 rispondenti di 45 nazioni, solo il 2% blocca i risultati per lipemia (*vs.* l'8% per emolisi e il 4% per ittero), il 7% li rilascia senza interventi (*vs.* 3% per ittero e 1% per emolisi), il 25% li

rilascia con avvertenze generiche (*vs.* il 20% per ittero e il 10% per emolisi), il 60% li rilascia con interventi solo per specifici test (*vs.* il 70% per ittero e il 75% per emolisi).²¹ Le ragioni di questa sottostima del problema non sono chiare ma potrebbero dipendere dalla percezione di una bassa frequenza dell'interferenza e di un basso impatto clinico della stessa.

La consapevolezza del problema da parte dei clinici, peraltro, è messa in difficoltà dalla “traduzione” delle recenti indicazioni per determinazioni “*non-fasting*” dei soli lipidi nei pazienti cardiopatici, promosse dalle principali linee guida in tema di dislipidemie e rischio cardiovascolare,^{22, 23} in una “vulgata” che restringe la necessità del digiuno prima del prelievo esclusivamente per la determinazione della glicemia, insulinemia e C-peptide. Si veda, per esempio, il sito della Fondazione Veronesi, uno dei tanti esempi di enti ad alto impatto sociale, a metà tra la professione e la divulgazione.²⁴ A ciò si aggiunga che le indicazioni delle linee guida per il prelievo venoso, comprendenti la preparazione del paziente, sono molto eterogenee riguardo al digiuno, soprattutto per il tempo dello stesso (dalle 8 ore in Italia alle 16 dell'Australia), motivo per un tentativo europeo di standardizzazione.²⁵

In letteratura, come visto sopra, l'attenzione alla lipemia come interferenza analitica è in generale bassa. Per valutare la frequenza della lipemia, un esame critico dei lavori selezionati da PubMed con “*Lipemia interference, humans*”, eliminando quelli non riferibili specificamente agli aspetti caratteristici dell'interferenza analitica (cause, effetti, metodi di gestione), ha consentito di estrarre 69 lavori ai quali ne sono stati aggiunti 5 per conoscenza diretta.²⁶ Tuttavia, di questi 74 articoli, 35 sono relativi agli ultimi 7 anni (2012-2019) e 5 all'ultimo anno, segno che l'interesse per la fase preanalitica come condizione essenziale per la qualità dell'esame ha coinvolto anche l'aspetto specifico della lipemia. La ripresa d'interesse è stata spinta dal gruppo dell'Università di Verona (effetto di pasti di prova sui principali test), dalla Società croata di Biochimica Clinica (caratteristiche della lipemia; sistemi di gestione; sensibilità al tema) e dal *Working Group for the Preanalytical Phase of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (WG-PRE EFLM)*.

Frequenza dell'interferenza da lipemia

Le segnalazioni sulla prevalenza dei campioni lipemici nella routine sono sporadiche ed eterogenee. Storicamente, i campioni lipemici rappresentano una quota rilevante tra 0.5 e 2.5%;⁷ negli USA negli anni Ottanta del secolo scorso 4%²⁷ o addirittura 7.3%.²⁸ L'incidenza è stata se-

gnalata più elevata (4x) nei soggetti ambulatoriali rispetto ai pazienti ricoverati,²⁹ anche se quest'ultimo dato non sempre è stato confermato per tutti i tipi di campione.³⁰ La frequenza sarebbe maggiore (11%) nei campioni di sangue in toto per emogasanalisi (BGA),³⁰ dato non confermato più recentemente da Grieme *et al.* in un esteso studio sulle interferenze endogene ed esogene in BGA.³¹ Recentemente, le frequenze segnalate sono molto più basse: 0.7% in Australia;³² <0.5% in Croazia;^{20, 33} <0.1% USA¹⁶ e in Italia.²⁶ Le ragioni delle differenze di frequenza dipendono certamente dalle popolazioni e dalle loro diete in epoche diverse, dalle possibili cause nei diversi gruppi di popolazione, ma anche dal metodo di rilevazione (visuale o con i cosiddetti “indici del siero”, HIL) e dal metro di giudizio della definizione di lipemia. Tuttavia, è percepibile una diminuzione nel tempo dell'incidenza di lipemia, che, anche se contestuale all'introduzione di nuovi sistemi automatici di rilevamento, potrebbe essere riferita ad una miglior standardizzazione e rispetto delle regole della preparazione del paziente al prelievo.²⁶

Cause cliniche di lipemia

Le cause di possibile lipemia sono molteplici e diverse tra pazienti ospedalizzati e soggetti ambulatoriali e non tutte hanno un chiaro impatto clinico.

Nei pazienti ricoverati, secondo il recente lavoro di Mainali *et al.*,¹⁶ le cause principali sono le infusioni intravenose di lipidi come terapia per le intossicazioni acute da farmaci (principalmente Intralipid®, misto di olio di soia, fosfolipidi da tuorlo d'uovo, glicerina) o quelle associate alla somministrazione di farmaci liposolubili per migliorarne l'assorbimento — come il propofol anestetico ed ipnotico ad azione rapida nel cosiddetto “Milk of Amnesia”³⁴ — che danno tipicamente lipemie superiori a 9-10 mg/dL in termini di TG (47% e 7.4% dei casi rispettivamente), e in secondo luogo la prevalenza nei pazienti del diabete mellito tipo 2, principale patologia causa o concausa di ipertrigliceridemia (64.4% dei casi di ipertrigliceridemia oltre i 2000 mg/dL).¹⁶

Nei soggetti ambulatoriali, la prima causa è un inadeguato intervallo di digiuno per confuse indicazioni anche derivanti da Linee Guida contraddittorie e mal-comprensione da parte dei pazienti.^{19, 25} La seconda causa più importante è la prevalenza di malattie e terapie favorevoli alla lipemia. Il diabete mellito ha una prevalenza nella popolazione generale del 5.3%; tra le iperlipidemie primitive e secondarie, la Tipo IIa (ipercolesterolemia familiare) ha una prevalenza dello 0.5%, la Tipo IV (ipertrigliceridemia) una prevalenza dell'1%, la Tipo IIb (combinata) anch'essa

una prevalenza dell'1%. Farmaci iperlipidemizzanti come gli ipertensivi betabloccanti e tiazidici o gli estrogeni, sono utilizzati da oltre il 12% della popolazione. Altre patologie che danno ipertrigliceridemia sono l'ipotiroidismo, la CKD/nefrosi, la sindrome metabolica, l'alcolismo, ecc. Con la prevalenza sopra descritta per malattie e terapie favorevoli lipemia, ci si attenderebbe una ben più alta incidenza di lipemia nei soggetti ambulatoriali. Il basso tasso di rilevazione nei tempi recenti è ascrivibile all'attenzione al digiuno nel periodo precedente il prelievo.²⁶

Metodi di rilevazione della lipemia

I metodi per la rilevazione della lipemia sono essenzialmente tre: visivo, misurazione dei trigliceridi, determinazione automatica dei cosiddetti “indici del siero” (HIL).

Il metodo visivo, usato per molti decenni, è oggi in disuso per i limiti dimostrati di bassa riproducibilità tra operatori ($k=0.7$) e bassa confrontabilità con HIL ($k=0.56$)³⁵ e per l'impossibilità di utilizzarlo sulla mole dei campioni nei grandi laboratori. Il metodo dovrebbe consentire di rilevare torbidità superiori a 300 mg/dL (3.4 mmol/L) di TG nel siero ma non nel sangue in toto, come ad esempio in quello da prelievo arterioso per BGA.

Il metodo di determinazione dei TG come indicatori di lipemia non né sufficiente né adeguato, perché non vi è una necessaria correlazione tra TG e torbidità in quanto i trigliceridi sono variamente rappresentati nelle lipoproteine torbidogene (80-90% nei chilomicroni, 50% o meno nelle VLDL).³⁶ Inoltre, possono esserci pseudo-ipertrigliceridemie da aumento di glicerolo (nei metodi basati su questa sostanza) per esempio per assunzione di birra o per mutazioni della glicerol-chinasi.³⁷

La misura degli indici del siero (*haemolysis, icterus or lipaemia*; HIL) è oggi la più diffusa perché automatizzata, a basso costo, veloce, riproducibile, ben definita da standard internazionali come CLSI C-56 A.¹⁵ Si effettuano con una diluizione del campione in soluzione salina o tampone e misura dello spettro di assorbimento in un ampio ambito di lunghezze d'onda; per la lipemia tra 300 e 700 nm. Tuttavia, esistono false positività da torbidità non lipemica ma, soprattutto, vi è grande eterogeneità tra Produttori per le lambda utilizzate, le diluizioni e il diluente, l'espressione dei risultati e la loro interpretazione.^{35, 38}

In particolare, non c'è una definizione universalmente accettata di interferenza significativa, con una ampia variazione di limiti decisionali suggeriti per HIL. Molti produttori applicano il criterio arbitrario del 10% suggerito da Glick *et al.* 30 anni fa.²⁷ Alcuni autori suggeriscono di utilizzare dati di consenso tratti dalla performance anali-

tica nei risultati di valutazioni esterne di qualità;³⁹ altri, invece, indicano multipli dell'imprecisione analitica ($2.8 \times CVa/2$ o $2.8 \times CVa$)³² oppure combinazioni di CVi e di CVa sperimentali;¹⁵ altri ancora preferiscono le Specifiche Desiderabili di Imprecisione (*Desirable Specification for Imprecision*, DSI) sulla base della variabilità biologica.⁴⁰

Valutazione dell'effetto interferente

In generale, le interferenze analitiche possono essere presentate graficamente in un cosiddetto "Interferogramma": sull'asse X si pongono le concentrazioni incrementali dell'interferente e sull'asse Y i bias misurati; si definiscono così i criteri di accettabilità sulla base dei DSI.^{39, 41} Le interferenze sono spesso studiate con *spiked samples*, ma nel caso della lipemia il problema è proprio la scelta dell'interferente. Per la lipemia, infatti, si usa Intralipid® che però presenta trigliceridi in particelle di 200-600 nm con media a 345 nm, molto diverse da quelle naturali (chilomicroni fino a 1000 mg/dL e VLDL tra 35 e 200 mg/dL). Di conseguenza, l'interferente si può comportare in modo non identico alla lipemia naturale⁶ e in maniera non riproducibile,⁴² limitandone un'applicazione completamente valida. Tuttavia, questo è il metodo seguito per valutare l'interferenza da lipidi sui kit analitici da parte dei Produttori e ciò può essere fonte di discrepanze tra quanto contenuto nei *data sheet* dei metodi e la pratica analitica quotidiana.

Pertanto, per dimostrare in modo accurato e riproducibile l'effetto della lipemia sugli esami di laboratorio si può agire in due modi: sul campione, con la determinazione di analiti prima e dopo rimozione dei lipidi dal campione con ultracentrifugazione, centrifugazione spinta o con estrazione con solventi polari o Lipoclear®, oppure sul paziente, con pasto di prova ovvero con infusione endovenosa di emulsione di lipidi.

Per quanto riguarda la valutazione sul campione di dati prima e dopo rimozione dei lipidi, l'ultracentrifugazione è il metodo di scelta ma non è disponibile nella maggior parte dei laboratori. Nel lavoro di Calmarza e Cordero,⁴³ nel quale la lipemia appare causare interferenze clinicamente significative per il fosforo, il calcio, la creatinina, le proteine totali e l'ALT e, ovviamente, per TG e colesterolo, l'ultracentrifugazione risolve il problema. Anche una centrifugazione spinta ($10.000g \times 15 \text{ min}$) si è dimostrata sufficiente per i comuni parametri biochimici, ma non risolve l'interferenza per ormoni, farmaci ed altre sostanze idrofobiche che si distribuiscono nello strato lipidico.⁴⁴ L'estrazione con solventi polari (PEG, ciclodestrina, 1,1,2-triclorotrifluoroetano), suggeriti anche per POCT

(ciclodestrina), e Lipoclear®, un polimero non-ionico legante i lipidi ampiamente utilizzato dai Laboratori, non è apparsa adeguata a risolvere le interferenze per glucosio, sodio, potassio, cloro, fosfato, magnesio, CK-MB, ALP, GGT, proteine totali, albumina, CRP and troponina T.^{40, 43}

I metodi diretti sul paziente prevedono la misura degli stessi analiti, con lo stesso metodo, prima e dopo la somministrazione di emulsioni lipidiche in pazienti ricoverati oppure di pasto di prova in soggetti sani. Il lavoro più completo sugli effetti dell'infusione lipidica terapeutica è la recente ricerca sistematica di Grunbaum *et al.*¹⁵ su 36 lavori di letteratura che analizzano l'effetto di Intralipid (per lo più al 20%), ma anche di altre emulsioni (Ivelip 20%, Clinic Oleic 20%, Lipofundin 20%, Tutolipid 20% e Lyposin), su 50 esami biochimici comuni e in oltre 30 piattaforme analitiche, dimostrando effetti significativi sulla maggior parte dei test con interferenza particolarmente gravi sia positive sia negative per alcuni, anche in dipendenza del metodo (albumina, bilirubina, cloro, D-dimero, GGT, glucosio, ferro, lattato, magnesio, parametri emocitometrici), ed eccetto solo per ALP, cistatina C, PTT e troponina. Il problema è particolarmente grave nei sistemi POCT, sia perché la rilevazione di lipemia è difficile nei campioni di sangue in toto, sia perché il personale può non essere adeguatamente addestrato a sospettare l'interferenza, sia per l'uso di metodi spettrofotometrici particolarmente pronti a questa interferenza.

La determinazione di analiti prima e dopo un pasto di prova è il metodo più fisiologico di valutazione dell'interferenza da lipemia, che riproduce gli effetti del mancato digiuno nei soggetti sani. Abbiamo a questo proposito soprattutto i lavori del gruppo dell'Università di Verona e di studiosi collegati, portati a termine nella seconda decade degli anni duemila. Il tipico pasto di prova "leggero" e "combinato", utilizzato negli esperimenti, è simile per calorie (563 kcal) e composizione (lipidi, glicidi) ad una buona colazione.⁴⁵ Questo metodo ha mostrato nessuno o limitati effetti su test coagulativi ed emogasanalisi ma significativi sugli esami ematologici e biochimici (Tabella I).^{15, 30, 45-47}

Per quanto riguarda i test coagulativi, la lipemia può dare interferenza analitica, basata sul confronto con DSI ottenuti da variabilità biologica, su APTT, PT, antitrombina III e proteina C, ma non su proteina S e fibrinogeno. Tuttavia, nessun test coagulativo ha mostrato variazioni clinicamente significative, sulla base del confronto con i *reference changes value* (RCV).⁴⁶ Per quanto riguarda gli effetti sul sangue in toto i dati sono contraddittori: nonostante nella ricerca di Salvagno *et al.*³⁰ ben l'11% dei cam-

TABELLA I.—*Sintesi delle principali interferenze da lipemia sui più comuni esami di Laboratorio, determinate con pasto di prova⁴⁵⁻⁴⁷ o con studi basati sulla infusione terapeutica di emulsioni iperlipidiche¹⁵ o sulla rimozione dell'interferenza.^{15, 30, 48}*

Interferenze da lipemia	
Dati ematologici	Globuli bianchi (neutrofili) ↑7-10%; linfociti ↓19%, eosinofili ↓23%; globuli rossi, emoglobina, ematocrito ↓2-4% (a 4h). ⁴⁷
Test coagulativi	Non alterazioni clinicamente significative ⁴⁶
Emogasanalisi	Non alterazioni clinicamente significative ³⁰
Test biochimici	Bilirubina ↓ 5-15% (a 4h); fosforo ↓ 5-10% (a 2h); AST, trigliceridi, CRP ↑15% (a 4h); ferro ↑10% (a 2h) ⁴⁵
Ormoni	Insulina, testosterone, cortisolo ed altri ⁴⁶
Farmaci	Acetaminofene, carbamazepina, ciclosporina, digossina, etanolo, gentamicina, lidocaina, litio, fenobarbital, fentoina, procainamide, salicilati, teofillina, tobramicina, valproato e vancomicina ¹⁵

pioni per BGA risultasse lipemico, in quella stessa ricerca e in altre successive, come quella di Grieme *et al.*,³¹ non sono state evidenziate differenze clinicamente significative riferibili all'interferenza della lipemia. Salvagno *et al.*³⁰ hanno suggerito, come metodo per la rilevazione delle interferenze nei campioni per emogasanalisi, la determinazione di HIL sul plasma ottenuto per centrifugazione delle stesse provette per BGA.

Viceversa, gli studi di Lippi *et al.*⁴⁷ hanno dimostrato che anche un pasto leggero può indurre importanti variazioni nel profilo ematologico di routine. I globuli bianchi aumentano del 7-10%, come noto da tempo, e i linfociti e gli eosinofili diminuiscono significativamente del 19% e 23%, rispettivamente e progressivamente nelle 4 ore successive al pasto. Inoltre significativi decrementi post-prandiali sono stati dimostrati per la conta dei globuli rossi, per l'emoglobina e l'ematocrito, con differenze che divengono clinicamente significative a 2 e 4 ore dopo il pasto, rispettivamente.

Gli effetti del pasto di prova sui test biochimici sono evidenti e marcati. Complessivamente, alle diverse ore e con andamenti diversi, risultano statisticamente significative sotto il profilo analitico (P=0.01) le variazioni di TG, albumina, BUN, acido urico, bilirubina totale, LDH e fosforo, calcio, ferro, sodio, magnesio, potassio, e clinicamente significative, sulla base dei DSI, TG, albumina, BUN, acido urico, bilirubina totale, bilirubina diretta, ALT, AST, fosforo, calcio, ferro, sodio, magnesio. La conclusione è che un'ampia percentuale, dal 33% a oltre il 50%, dei test biochimici più comuni può essere interferita dalla lipemia moderata conseguente al mancato digiuno.⁴⁵

Inoltre, esistono effetti importanti della lipemia sui test ormonali, non sono solo su quelli ovvi perché implicati nel metabolismo post-prandiale, come l'insulina, ma anche su testosterone e cortisolo, con una caduta simile alla normale differenza per la variazione di alimentazione durante l'arco del giorno.⁴⁸ Queste sono conseguenze "fisiologiche". Si tenga conto però, anche dell'effetto analitico

conseguente alla re-distribuzione nello strato lipidico dopo centrifugazione degli ormoni.¹ Lo stesso problema della diversa re-distribuzione tra fase idrofobica ed idrofila vale anche per i farmaci. Grunbaum *et al.*¹⁵ hanno prodotto una revisione sistematica di studi con emulsioni di lipidi con la sintesi delle ricerche che dimostrano quali e quanti farmaci possono essere interferiti in modo clinicamente significativo: acetaminofene, carbamazepina, ciclosporina, digossina, etanolo, gentamicina, lidocaina, litio, fenobarbital, fentoina, procainamide, salicilati, teofillina, tobramicina, valproato e vancomicina.

Raccomandazioni

La breve rassegna di letteratura ci mostra che la lipemia può essere spesso trascurata perché non se ne conoscono le conseguenze analitiche e cliniche e non appare frequente perché può sfuggire nei grandi processi automatizzati.²¹ Essa tuttavia può rappresentare un rischio di errore analitico e di danno al paziente considerevole e richiede una più diffusa consapevolezza.¹³

Poiché attualmente i sistemi di rilevazione diffusi sono quelli automatizzati, si raccomanda⁷ di valutare criticamente *L-index* in rapporto con il test richiesto, che potrebbe non essere interferito, e in rapporto alle cause di sua alterazione; di scegliere adeguatamente il metodo di rimozione della lipemia (per le difficoltà e limiti di centrifugazione ed estrazione, si suggerisce la diluizione x 2/3 del campione e rideterminazione);⁷ e di valutare criticamente i risultati dei test dopo trattamento, prima del loro definitivo rilascio.

Inoltre, la possibilità di ottenere un *L-index* in tutti i campioni di siero/plasma dovrebbe essere colta come un'opportunità clinica, non tanto in relazione allo screening e allo studio delle iperlipidemie, data la scarsa correlazione con trigliceridi e colesterolo, quanto in relazione alle alterazioni del metabolismo del glicerolo e dei trigliceridi e alle cause non iperlipidemiche di torbidità, valorizzando anche i valori negativi di HIL, fisicamente impossibili.⁴⁹

TABELLA II.—Raccomandazioni per la gestione dell'interferenza da lipemia.

1. Ricordare la possibilità dell'interferenza analitica da lipemia negli esami di laboratorio (Tabella I).
2. Utilizzare e valutare criticamente *L-index* ottenuto nell'applicazione routinaria degli indici del siero (HIL).
3. Scegliere adeguatamente, sulla base dell'organizzazione e della dotazione tecnologica, il metodo di rimozione della lipemia e/o del suo effetto (ultracentrifugazione; centrifugazione spinta; diluizione del campione).
4. Valutare criticamente i risultati del test dopo trattamento di rimozione dell'interferente ed utilizzare *L-index* per l'eventuale studio del metabolismo del glicerolo e delle cause non iperlipidemiche di torbidità.
5. Nell'attività di prelievo dei soggetti "normali" (non in prevenzione cardiovascolare o diabetici a rischio ipoglicemico; non soggetti pediatrici; non pazienti in emergenza) richiedere il digiuno secondo Linee Guida,²⁵ dato che il non digiuno è la principale causa di lipemia, almeno nei pazienti ambulatoriali.

Infine, poiché la ragione principale di lipemia, almeno nei pazienti ambulatoriali, è il mancato digiuno, anche in conseguenza della confusione nelle indicazioni per lo stesso e la mal-comprensione da parte dei pazienti, è necessario che le linee guida insistano ancora nel rispetto delle indicazioni del digiuno per la "normale" attività di prelievo.⁵⁰ Le indicazioni per la possibilità di utilizzare campioni non a digiuno per la valutazione del profilo lipidico in pazienti cardiovascolari andrebbero "rovesciate" rispetto a quanto oggi comunemente pubblicato. Si raccomanda, cioè, di ribadire la necessità di un usuale digiuno per tutte le analisi biochimiche ed emocromocitometriche,²⁵ consentendo un'eccezione per il profilo lipidico in particolari soggetti (in emergenza, pediatrici, a rischio di ipoglicemia, in prevenzione cardiovascolare) (Tabella II).²⁵

Bibliografia

1. Miller JJ, Levinson SS, Elin RJ. Interferences in Laboratory Tests. In: Ward-Cook RK, Lehmann CA, Schoeff LE, Williams RM, editors. Clinical Diagnostic Technology. The Total Testing Process. Volume 2: The Analytical Phase. Washington (DC): AACC Press; 2005. p. 37-76.
2. Nakamura K, Miyoshi T, Yunoki K, Ito H. Postprandial hyperlipidemia as a potential residual risk factor. *J Cardiol* 2016;67:335-9.
3. Kroll MH. Evaluating interference caused by lipemia. *Clin Chem* 2004;50:1968-9.
4. Park Y, Grellner WJ, Harris WS, Miles JM. A new method for the study of chylomicron kinetics in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;279:E1258-63.
5. CLSI. Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline. CLSI document C56-A. Wayne, PA, USA; 2012.
6. Bornhorst JA, Roberts RF, Roberts WL. Assay-specific differences in lipemic interference in native and intralipid-supplemented samples. *Clin Chem* 2004;50:2197-201.
7. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24:57-67.
8. Fortgens P, Pillay TS. Pseudohyponatremia revisited: a modern-day pitfall. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:516-9.
9. Sen S, Ghosh P, Ghosh TK, Das M, Das S. A Study on Effect of Lipemia on Electrolyte Measurement by Direct Ion-selective Electrode Method. *J Biomol Res Ther* 2016;5:142.
10. Bossuyt X, Schiettekatte G, Bogaerts A, Blanckaert N. Serum protein

electrophoresis by CZE 2000 clinical capillary electrophoresis system. *Clin Chem* 1998;44:749-59.

11. Steen G, Klerk A, Laan KV, Eppens EF. Evaluation of the interference due to haemoglobin, bilirubin and lipids on Immulite 2500 assays: a practical approach. *Ann Clin Biochem* 2011;48:170-5.
12. Hunsaker JJ, Wyness SP, Needham LL, Genzen JR. Evaluation of L-index interference limits on Roche cobas c502 and c702 immunoturbidimetric assays using endogenously lipemic specimens and intralipid spiking. *Clin Biochem* 2019;70:18-23.
13. Krasowski MD. Educational Case: Hemolysis and Lipemia Interference With Laboratory Testing. *Acad Pathol* 2019;6:2374289519888754.
14. Brady J, O'Leary N. Interference due to lipaemia in routine photometric analysis—survey of an underrated problem. *Ann Clin Biochem* 1994;31:281-8.
15. Grunbaum AM, Gilfix BM, Hoffman RS, Lavergne V, Morris M, Miller-Nesbitt A, et al. Review of the effect of intravenous lipid emulsion on laboratory analyses. *Clin Toxicol (Phila)* 2016;54:92-102.
16. Mainali S, Davis SR, Krasowski MD. Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests. *Pract Lab Med* 2017;8:1-9.
17. Delaney R. Lipaemia: an overrated interference. *Br J Biomed Sci* 2004;61:218.
18. Nikolac N, Celap I, Filipi P, Hemar M, Kocijancic M, Miler M, et al. Croatian laboratories have a good knowledge of the proper detection and management of hemolyzed, icteric and lipemic samples. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:419-25.
19. Nikolac N, Simundic AM, Kackov S, Serdar T, Dorotic A, Fumic K, et al. The quality and scope of information provided by medical laboratories to patients before laboratory testing: Survey of the Working Group for Patient Preparation of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chim Acta* 2015;450:104-9.
20. Kackov S, Simundic AM, Gatti-Drnic A. Are patients well informed about the fasting requirements for laboratory blood testing? *Biochem Med (Zagreb)* 2013;23:326-31.
21. Cadamuro J, Lippi G, von Meyer A, Ibarz M, van Dongen E, Cornes M, et al. European survey on preanalytical sample handling - Part 2: Practices of European laboratories on monitoring and processing haemolytic, icteric and lipemic samples. On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Biochem Med (Zagreb)* 2019;29:020705.
22. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al.; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* 2016;37:2999-3058.
23. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al.; European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Joint Consensus Initiative. Fasting Is Not Routinely Required for Determination of a Lipid Profile: Clinical and Laboratory Implications Including Flagging at Desirable Concentration Cutpoints—A Joint Consensus Statement from

the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2016;62:930–46.

24. Analisi del sangue: quando occorre farle a digiuno? [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.fondazioneveronesi.it/magazine/articoli/cardiologia/analisi-del-sangue-quando-occorre-farle-digiuno> [citato 13 marzo 2020]

25. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples: for the Working Group on Preanalytical Phase (WG-PA) of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chim Acta* 2014;432:33–7.

26. Morandini M, Cappelletti P. Lipemia: un'interferenza dimenticata? POS.011. Atti del 5° Congresso Nazionale SIPMeL [Internet]. Riva del Garda (TN) 8-10 ottobre 2019.

27. Glick MR, Ryder KW, Glick SJ, Woods JR. Unreliable visual estimation of the incidence and amount of turbidity, hemolysis, and icterus in serum from hospitalized patients. *Clin Chem* 1989;35:837–9.

28. Ryder KW, Glick MR, Glick SJ. Incidence and amount of turbidity, hemolysis, and icterus in serum from outpatients. *Laboratory Medicine* 1991;22:415–8.

29. Simundic AM, Nikolac N, Vukasovic I, Vrkic N. The prevalence of preanalytical errors in a Croatian ISO 15189 accredited laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:1009–14.

30. Salvagno GL, Lippi G, Gelati M, Guidi GC. Hemolysis, lipaemia and icterus in specimens for arterial blood gas analysis. *Clin Biochem* 2012;45:372–3.

31. Grieme CV, Voss DR, Davis SR, Krasowski MD. Impact of endogenous and exogenous interferences on Clinical Chemistry parameters measured on Blood Gas Analyzers. *Clin Lab* 2017;63:561–8.

32. Dimeski G, Jones BW. Lipaemic samples: effective process for lipid reduction using high speed centrifugation compared with ultracentrifugation. *Biochem Med (Zagreb)* 2011;21:86–92.

33. Simundic AM, Topic E. Quality Indicators. *Biochem Med (Zagreb)* 2008;18:311–9.

34. Walsh CT. Propofol: milk of Amnesia. *Cell* 2018;175:10–3.

35. Simundic AM, Nikolac N, Ivankovic V, Ferenc-Ruzic D, Magdic B, Kvaternik M, *et al.* Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: can we rely on a human eye? *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1361–5.

36. Twomey PJ, Don-Wauchope AC, McCullough D. Unreliability of triglyceride measurement to predict turbidity induced interference. *J Clin Pathol* 2003;56:861–2.

37. De Haene H, Taes Y, Christophe A, Delanghe J. Comparison of triglyceride concentration with lipemic index in disorders of triglyceride and glycerol metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:220–2.

38. Farrell CJ, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. *Ann Clin Biochem* 2016;53:527–38.

39. Fleming JJ, Swaminathan S. Interference in autoanalyzer analysis. *Indian J Clin Biochem* 2001;16:22–30.

40. Saracevic A, Nikolac N, Simundic AM. The evaluation and comparison of consecutive high speed centrifugation and LipoClear® reagent for lipemia removal. *Clin Biochem* 2014;47:309–14.

41. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470–5.

42. Ji JZ, Meng QH. Evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin, and lipids on Roche Cobas 6000 assays. *Clin Chim Acta* 2011;412:1550–3.

43. Calmarza P, Cordero J. Lipemia interferences in routine clinical biochemical tests. *Biochem Med (Zagreb)* 2011;21:160–6.

44. Castro-Castro MJ, Candás-Estébanez B, Esteban-Salán M, Calmarza P, Arrobas-Velilla T, Romero-Román C, *et al.*; *Commission on Lipoprotein and Vascular Diseases, Sociedad Española de Química Clínica*. Removing lipemia in serum/plasma samples: a multicenter study. *Ann Lab Med* 2018;38:518–23.

45. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Gelati M, Montagnana M, Danese E, *et al.* Influence of a regular, standardized meal on clinical chemistry analytes. *Ann Lab Med* 2012;32:250–6.

46. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Danese E, Gelati M, Montagnana M, *et al.* Could light meal jeopardize laboratory coagulation tests? *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24:343–9.

47. Lippi G, Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Montagnana M, Gelati M, Picheth G, *et al.* Influence of a light meal on routine haematological tests. *Blood Transfus* 2010;8:94–9.

48. Alleman RJ Jr, Bloomer RJ. Hormonal response to lipid and carbohydrate meals during the acute postprandial period. *J Int Soc Sports Nutr* 2011;8:19.

49. Gils C, Faarvang Thorsen A, Nybo M. Lipemia Index and screening for hyperlipidemia - A diagnostic opportunity? *Clin Chim Acta* 2020;501:83–4.

50. Guidi GC, Simundic AM, Salvagno GL, Aquino JL, Lima-Oliveira G. To avoid fasting time, more risk than benefits. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:e261–4.

Conflitti di interesse.—L'autore dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.

Studi condotti su esseri umani e animali.—L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.

Consenso informato.—Per questo tipo di studio non è richiesto il consenso informato.

Publicato online: 20 marzo 2020. - Accettato: 13 marzo 2020. - Ricevuto: 20 gennaio 2020.