

B-01

IL CONTEGGIO PIASTRINICO NEI SOGGETTI CON MICROCIITOSI DELLE EMAZIE: DIFFERENZA TRA CONTA OTTICA E IMPEDEZIOMETRICA.

PAPARO C., FIERRO G., LEMBO M., NICELLI A., VETTORETTO M.

Laboratorio Analisi, Ospedale Maggiore Chieri (To)

Scopo del lavoro: valutare la correlazione della conta piastrinica ottica e impedenziometrica nei soggetti con microcitosi delle emazie. **Materiali e metodi:** abbiamo utilizzato il sistema ematologico Abbott Cell-Dyn 4000 che fornisce un doppio conteggio, ottico e impedenziometrico. La conta piastrinica principale per il Cell-Dyn 4000 è quella ottica (PLTo) ottenuta tramite lo scatter luminoso bidimensionale (90° e 7°) con tre soglie dinamiche. La conta ad impedenza (PLTi) utilizza due valori soglia, un limite dinamico inferiore ed uno superiore posto a 35 fL. Dai dati impedenziometrici sono ottenuti il volume piastrinico medio (MPV) e l'ampiezza di distribuzione delle piastrine (PDW); un allarme specifico (PIC-POC Delta) è generato quando si verifica una differenza significativa tra le due conte. Abbiamo preso in esame 210 campioni microcitemici, non ulteriormente indagati, che hanno eseguito routinariamente un esame emocromocitometrico presso il nostro laboratorio e li abbiamo suddivisi in tre gruppi in base al valore dello MCV, e un gruppo di controllo di 150 campioni normocitici che hanno eseguito l'esame nello stesso periodo. I risultati dell'analisi statistica sono riportati in tabella.

Gruppi MCV (fL)	PLTi vs PLTo	PLTo/ μ L	PLTi/ μ L	PLTi-PLTo	PLTi-PLTo (%)	MPV(fL)
1° MCV 50-60 casi 70 Range PLT 126-578x10 ³ / μ L	r 0.90	Media 305.100	Media 356.428	Differenza # 51.328	Differenza % 16.8 %	Media 10.5
2° MCV 60-70L casi 70 Range PLT 116-665x10 ³ / μ L	0.92	245.286	273.029	27.743	11.3 %	11.1
3° MCV 70-80 casi 70 Range PLT 106-696x10 ³ / μ L	0.99	299.443	324.757	25.314	8,4 %	9.7
Controllo MCV 80-98 casi 150 Range PLT 153-406x10 ³ / μ L	0.99	246.633	253.160	6.527	2.6 %	9.3

Discussione e conclusioni: in condizioni normali i due conteggi mostrano scarsa differenza, la correlazione è ottima. In presenza di emazie microciticche, la conta ad impedenza è più elevata e l'aumento è inversamente proporzionale al volume delle emazie. Probabilmente nel conteggio vengono inclusi frammenti eritrocitari ed emazie molto piccole, con aumento anche del volume piastrinico medio. La conta ottica, forse perché utilizza due angoli di lettura, consente invece una migliore discriminazione.

B-02

IL CONTEGGIO DEI RETICOLOCITI NELLE SINDROMI MIELODISPLASTICHE

PAPARO C., CAMETTI G., Laboratorio Analisi, Medicina Interna, Osp. Maggiore Chieri (To)

Il conteggio dei reticolociti è uno dei mezzi diagnostici più semplici per distinguere le anemie con risposta midollare eritroide efficiente, con valori reticolocitari $> 40000/\mu$ L (1), da quelle iporigenerative. Il valore assoluto dei reticolociti per unità di volume (concentrazione) è direttamente correlato alla attività rigenerativa eritropoietica del midollo osseo (critrone) e rispetto alla percentuale grezza (numero di reticolociti su 100 eritrociti) non è influenzato dalla presenza di anemia e dalla sua gravità. Al contrario la percentuale grezza è indice inverso della vita media dei globuli rossi. Il conteggio automatizzato ha portato ad un netto miglioramento della precisione analitica e alla introduzione di nuovi parametri come la Frazione Reticolocitaria Immatura (IRF), sottopopolazione a più alto contenuto di RNA. **Scopo del lavoro:** valutare la concentrazione reticolocitaria e la frazione reticolocitaria immatura nelle Sindromi Mielodisplastiche (SMD secondo Gruppo FAB 1982 e WHO 1990).

Materiali e Metodi: i campioni sono stati analizzati con il contaglobuli Abbott Cell-Dyn 4000, che per il conteggio utilizza la citometria a flusso con impiego del colorante fluorescente CD4K530. La nostra casistica comprende 25 pazienti alla diagnosi. Per ogni paziente abbiamo preso in esame: numero di globuli rossi (RBC), emoglobina (Hb), volume corpuscolare medio (MCV), concentrazione e percentuale di reticolociti, IRF, e per questi dati abbiamo calcolato il valore medio, la mediana, il range e la correlazione dei reticolociti e dell'IRF verso l'emoglobina.

I risultati sono espressi in Tabella.

Casi N. 25	RBCx10 ⁶ / μ L	Hb(g/dl)	MCV(fL)	Ret x 10 ³ / μ L	%Ret	IRF
val.medio	2.65	8.9	102	49.16	1.90	0.353
mediana	2.52	8.7	102	44.60	1.62	0.333
Range	1.24 - 4.09	4.1 - 13.9	77.5 - 122	7.0 - 178	0.38 - 6.44	0.226-0.641
correlazione r	Hb vs Ret # 0.479	Hb vs %Ret 0.094	Hb vs IRF -0.384	Ret # vs IRF 0.232	%Ret vs IRF 0.388	

Discussione e conclusioni: la causa della anemia nelle SMD è di tipo centrale per alterazione qualitativa e quantitativa dello critrone, ma nel nostro lavoro abbiamo ottenuto valori $> 40000/\mu$ L in 15 campioni su 25 (60%); per questo motivo il valore soglia di $40000/\mu$ L non ci sembra adeguato per questo gruppo di patologie. Solo due casi avevano una conta % relativamente alta (6,44% e 5,56%). La frazione reticolocitaria immatura era aumentata in 17 campioni (68%) e indica probabilmente una intensa stimolazione eritropoietinica all'anemia con la produzione di reticolociti prematuri o da stress. (1) Cline JM, Berlin NI. The reticulocyte count as an indicator of the rate of erythropoiesis. American Journal of Clinical Pathology 1963, 39:121-127.

B-03

PROPOSTE PER LA VERIFICA DEL DATO ANALITICO IN EMATOLOGIA AUTOMATIZZATA**Doretto P., Bulian P., Cappelletti P.**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica, A.O. "S. Maria degli Angeli" Pordenone

Scopo del lavoro. Per valutare nel migliore dei modi il dato analitico emocromocitometrico abbiamo standardizzato le procedure per la verifica del dato analitico in ematologia automatizzata con l'obiettivo di diffondere un comportamento omogeneo e comune per il personale tecnico e medico che opera nel settore di Ematologia del nostro Laboratorio.

Materiali e metodi. Si tratta di criteri di selezione dei campioni e di validazione dei risultati a livello tecnico, medico e con sistemi esperti e prevedono:

1. informazioni cliniche orientative, anche sulla base di accordi specifici con i medici di reparto o con i medici di medicina generale, relative sia a pazienti specifici sia a gruppi per patologia
2. controllo del campione livello tecnico: verifica coaguli, controlli di qualità (interni ed esterni con sangue fresco, prodotti commerciali, medie mobili), dati strumentali (parametri analitici, allarmi, istogrammi e citogrammi) per l'accettazione dei dati e quindi la validazione tecnica oppure la ripetizione dell'analisi o il rifiuto o non idoneità del campione.
3. validazione strumentale sulla base di una griglia di parametri e allarmi stabilita a livello medico.
4. selezione medica dei campioni per la ripetizione dell'analisi (sullo strumento medesimo o a diversa filosofia analitica) o per il controllo microscopico ed eventualmente per l'approfondimento citochimico o immunofenotipico. La validazione medica prevede un primo step a livello strumentale: validazione diretta a video dei campioni che non hanno passato la convalida strumentale, seguendo dei criteri decisionali per eseguire lo striscio periferico (dati numerici di CBC e formula leucocitaria, allarmi morfologici per RBC e WBC), attenta valutazione di istogrammi e citogrammi, confronto coi precedenti (strumento, sistema informatico, archivio ematologico). Il successivo step prevede l'osservazione microscopica e la validazione dei campioni strisciati, seguendo delle procedure standardizzate in casi particolari (crioglobuline, agglutinati eritrocitari, aggregati piastrinici, satellitismo piastrinico, iperleucocitosi, eritroblastosi, MPOd).

Conclusioni. Con queste procedure nel 2002, con l'analizzatore elettro-ottico ADVIA 120 Bayer, da un totale di 133657 emocromi sono state eseguite 5,3% ripetizioni e 18,2% strisci periferici.

PARAMETRI RETICOLOCITARI IN ADULTI SANI CON XE-2100 E CONFRONTO CON ESAME MICROSCOPICO

B-04

L. Maccaroni, F. Panicari, L. Mazzei, E. Calamante, A. Braccacini.

Laboratorio Patologia Clinica, Ospedale Recanati (MC), ASL8 Civitanova Marche

Scopo del lavoro. Stabilire i range di riferimento per i reticolociti con XE2100 nel nostro laboratorio utilizzando una popolazione adulta sana e confrontare la lettura microscopica con quella citofluorimetrica automatizzata.

Materiali e metodi. Analizzatore automatico Sysmex XE-2100 (Sysmex Kobe, Japan). Lo strumento nel canale di lettura dedicato analizza i reticolociti con il principio della citofluorimetria a flusso con raggio laser ed uno specifico colorante polimetinico. Utilizza due segnali: lo scatter frontale (per la dimensione cellulare) e la fluorescenza laterale (per la quantità di RNA). I campioni (K2EDTA in Vacutainer) sono stati prelevati da 290 donatori di sangue idonei secondo i criteri della donazione. Per il conteggio con l'analizzatore automatico abbiamo seguito gli standard NCCLS H44-P del 1993 ed ICSH del 1994. Per il metodo microscopico (Micro) abbiamo seguito le linee guida NCCLS H16-P del 1985 e ICSH WHO /LBS92.3 del 1991.

Risultati. La tabella riassume i valori ottenuti differenziati per Maschi (M) e Femmine (F) con i due metodi:

M	Micro.		Analizzatore XE-2100		
	%%	%%	#x10 ³ /uL	IRF %	Ret Y
media	9.7	9.8	49.04	8.43	1826
95 P.I.E.	14.2	15.6	78.30	14.0	1888
5 P.I.E.	6.0	5.2	27.12	4.2	1760
Num.	141	141	141	141	141

F	Micro.		Analizzatore XE-2100		
	%%	%%	#x10 ³ /uL	IRF %	Ret Y
media	9.5	9.6	44.65	7.86	1823
95 P.I.E.	13.8	14.9	71.52	14.1	1887
5 P.I.E.	5.8	5.6	24.64	3.1	1754
Num.	149	149	149	149	149

Il confronto tra il metodo microscopico e quello automatizzato evidenzia i seguenti indici: Intercetta= 2,01 pendenza= 0,80 correlazione= 0,76. Tra i due operatori: correlazione=0,62, Intercetta=1,53 pendenza= 0,86

Discussione e conclusioni. Gli intervalli di riferimento ottenuti costituiscono una tappa fondamentale per l'implementazione del nuovo strumento automatico. E' noto infatti che le diverse strumentazioni in commercio, utilizzando metodi diversi, mostrano prestazioni non confrontabili tra loro. L'introduzione del nuovo analizzatore è avvenuta nel segno della continuità analitica. La conoscenza dei valori di riferimento sarà alla base di nuovi studi su pazienti con carenza di ferro, su pazienti con insufficienza renale di indagini di correlazione con altre strumentazioni che utilizzano principi diversi. Sarà inoltre interessante verificare l'utilità di combinare la conta assoluta con l'IRF per un preciso inquadramento dei pazienti anemici.

NUOVE TECNOLOGIE E STUDIO DELLE CELLULE EMATICHE: LA PERFORMANCE DI ABX PENTRA DX 120

B-05

B. Casolari^a, M. Maconi^b, A.M. Cenci^a^aLaboratorio di Patologia Clinica, Azienda AUSL Ospedale S.Agostino, Modena; ^bLaboratorio di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera O.I.R.M. - S.Anna, Torino.

Scopo del lavoro. Il presente studio valuta i risultati complessivi di ABX PENTRA DX 120 nello studio di campioni ematologici particolari e il conseguente apporto al miglioramento della qualità del servizio erogato.

Materiali e metodi. Questa valutazione focalizza, al momento, l'attenzione su campioni di pazienti affetti da malattie ematologiche, primitive e secondarie, comunemente afferenti alle sezioni di routine e urgenza del nostro laboratorio. Le patologie di maggior riscontro sono: anemie di varia natura ed entità, linfoproliferazioni, mieloproliferazioni, quadri reattivi, leucemia acute, displasie primitive e secondarie. Vista la assoluta novità in termini di tempo di introduzione sul mercato del sistema testato, i presenti dati risultano del tutto preliminari. L'esame emocromocitometrico è stato eseguito in doppia determinazione ed entro 2/6 ore dal prelievo in K₂EDTA, con due diversi sistemi ematologici: ABX Pentra 120 Retic (CBC + DIFF-RET) e Pentra DX 120 (CBC + DIFF + RET + ERB). Per la verifica microscopica, secondo i protocolli NCCLS H20-A (GB) e H44-A (Reticolociti), sono stati allestiti preparati con colorazione panottica automatizzata tipo Wright per la conta leucocitaria differenziale e con Blu Brillante di Cresile per i reticolociti. La valutazione statistica è stata effettuata secondo le metodologie di elaborazione e confronto comunemente applicate all'ematologia.

Risultati. Nella patologie studiate, i dati preliminari configurano una ottimizzazione della performance strumentale per sensibilità e specificità, confermato dalla revisione microscopica.

Discussione e Conclusione. Lo studio delle anemie risente positivamente del riconoscimento e della conta degli eritroblasti, che, nella nostra esperienza, correlano con la revisione microscopica per il range di concentrazione analizzato (2-95 %GB). Questo nuovo dato, base anche della correzione del numero dei leucociti nelle critroblastosi, contribuisce alla velocizzazione della refertazione oltre che al miglioramento della specificità e della sensibilità clinica. Tali risultati appaiono evidenti dal confronto con specificità e sensibilità degli allarmi della precedente serie strumentale. Lo studio dei globuli bianchi, con l'applicazione della fluorescenza, vede aumentare la capacità di definizione elementi immaturi e/o displastici presenti nelle principali patologie ematologiche.

RAPPORTO TRA PIASTRINE E PATOLOGIE IN GRAVIDANZA

B-06

M. Maconi^a, B. Casolari^b, S.Cardaropoli^c, A.M. Cenci^b^aLaboratorio di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera O.I.R.M. - S.Anna, Torino; ^bLaboratorio di Patologia Clinica, Azienda AUSL Ospedale S.Agostino, Modena; ^cDipartimento di Ginecologia ed Ostetricia, Università di Torino, Torino.

Scopo del lavoro. Durante la gravidanza normale, le piastrine sono soggette ad oscillazioni e cambiamenti di numero, volume e morfologia, ritenuti, ad oggi, comuni e fisiologici. L'incidenza di trombocitopenia, è circa l'8% di tutte le gravidanze, e correlata o non con patologie varie, risulta, per incidenza, il secondo disordine ematologico dopo l'anemia.

Materiali e metodi. Per lo studio presentato sono state reclutate 34 pazienti al terzo trimestre di gravidanza, con diagnosi clinica di: Pre-eclampsia 20 (59%); Diabete gestazionale 6 (18%); Malattie autoimmuni 5 (15%); Piastrinopenie autoimmuni 2 (6%); HIV 1 (2%). I campioni sono stati raccolti in K₂EDTA ed analizzati in doppia determinazione entro 1ora dal prelievo. Per l'esecuzione dell'esame emocromocitometrico sono stati utilizzati i sistemi Sysmex SE 9500 e XE 2100 (TOA Corp., Kobe, Japan). Di questi, il primo utilizza come metodo di rilevazione un canale impedenziometrico; il secondo associa un canale ottico, che può essere attivato anche automaticamente in casi dubbi e/o discrepanti. Per l'analisi statistica sono stati usati la Statistica Descrittiva e il t-test di Student. La significatività è stata assunta a $p < 0.005$.

Risultati. Non esiste differenza statisticamente significativa tra i valori dei parametri piastrinici ottenuti con entrambe le strumentazioni nei due gruppi studiati. Tuttavia l'osservazione del follow up dei singoli casi fa apprezzare alcuni cambiamenti nelle conte e nel volume dei trombociti. In particolare, le pazienti affette da pre-eclampsia presentano in genere una diminuzione del numero ed un aumento del volume delle piastrine apprezzabile sia rispetto alla media che rispetto ai loro valori di base.

Discussione e Conclusioni. Nella gravidanza normale i valori piastrinici differiscono da quelli delle donne adulte in età fertile. Scostamenti dagli intervalli di riferimento possono essere considerati come alterazioni correlate e/o complicanze in alcune fra le più frequenti patologie associate alle gravidanze. Tali situazioni richiedono costantemente una valutazione accurata e risposte tecniche di precisione da parte del laboratorio, i cui risultati possono mettere in evidenza e suggerire stati di patologia latenti e/o preclinici, contribuendo a far diagnosi precoce e ad evitare conseguenze a volte drammatiche per la madre e per il feto.

B-07

**Conteggio leucocitario differenziale al microscopio:
relazione fra variabilità analitica e numero di eventi analizzati.**

Gruppo di studio in Ematologia SIMeL (GdSE): M. BUTTARELLO¹, A. CENCI, V. MICONI, C. PICCININI, E. PIVA, P. BULIAN, B. BIASIOLI, P. DORETTO, L. PASINI, G. DA RIN, P. CAPPELLETTI.

¹Patologia clinica, Ospedale Geriatrico, Padova.

Scopo del lavoro

E' noto che la differenziazione leucocitaria al microscopio è affetta da tre principali cause d'errore: l'errore di campionamento connesso alla disomogeneità degli strisci, l'errore di identificazione legato all'esperienza dei singoli operatori e l'errore statistico dipendente dal numero complessivo di eventi analizzati. Scopo di questa presentazione è verificare fino a che punto a parità di altre condizioni (operatori di provata esperienza, campioni strisciati e colorati con sistemi automatici) la variabilità fra operatori si possa ridurre all'aumentare del numero complessivo di eventi analizzati.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati 50 campioni di sangue con differenti anomalie distribuzionali e con trascurabili anomalie morfologiche. Con il sistema automatico Sysmex SP 100, da ogni campione sono stati preparati e colorati con MGG 4 strisci. Ciascun preparato è stato assegnato in modo casuale a un operatore esperto che ha eseguito in cieco il conteggio differenziale a 100, 200, 300, 400 e 500 elementi.

L'imprecisione fra operatori è stata calcolata con l'ANOVA ripetuta su ogni multiplo di 100 elementi. La differenza fra operatori è stata misurata come differenza media e deviazione standard delle differenze per ogni multiplo di 100 confrontando i risultati di ciascun operatore con le medie complessive.

Risultati e conclusioni

L'imprecisione misurata come CV% diminuisce progressivamente all'aumentare del numero di eventi contati da ciascun operatore (passando da 200 a 500 cellule il CV% massimo scende da 6.73 a 4.88 per i neutrofilii, da 16.29 a 12.29 per i linfociti, da 36.58 a 31.27 per i monociti, da 39.99 a 27.4 per gli eosinofili e da 132.4 a 106.98 per i basofili). La differenza media di ciascun osservatore rispetto alla media complessiva non risulta peraltro mutata all'aumentare del numero di eventi analizzati.

B-08

**Stima delle componenti della variabilità biologica ed analitica dei parametri
ematologici (emocromo completo e reticolociti) misurati in parallelo su
ADVIA 120, CD4000, LH-750, PENTRA RETIC ed XE 2100.**

Gruppo di studio in Ematologia SIMeL (GdSE): P. BULIAN¹, M. BUTTARELLO, B. BIASIOLI, B. CASOLARI, A. CENCI, G. DA RIN, P. DORETTO, V. MICONI, L. PASINI, C. PICCININI, E. PIVA, P. CAPPELLETTI.

¹Patologia clinica, Azienda Ospedaliera, Pordenone.

Scopo del lavoro. La tecnologia ematologica subisce costanti aggiornamenti, con miglioramenti di precisione ed accuratezza. Scopo del lavoro è di verificare se il miglioramento tecnologico o le differenti filosofie analitiche abbiano effetto sulle stime delle componenti della variabilità biologica.

Materiali e metodi. Il campione analizzato era costituito da 20 soggetti normali che sono stati sottoposti a prelievi per quattro giorni consecutivi più un quinto controllo ad una settimana di distanza dall'ultimo; il primo giorno inoltre il prelievo è stato ripetuto il pomeriggio. Per ogni soggetto sono state raccolte due provette anticoagulate in EDTA; ciascuna provetta è stata assegnata casualmente ed a rotazione a ciascuno dei 5 analizzatori (ADVIA 120 Bayer, CD4000 Abbott, LH-750 Coulter, PENTRA RETIC ABX, XE 2100 Sysmex). Ogni strumento è stato calibrato secondo gli standard del costruttore e tutte le sedute analitiche sono state svolte da specialisti delle stesse case. I campioni sono stati analizzati in duplicato con una pausa di almeno 10 minuti tra le determinazioni, sono stati determinati emocromo completo e reticolociti. Tutti i dati sono stati controllati per la ricerca di outliers. Per ciascun parametro si sono eseguiti controlli della varianza tra duplicati (test di Cochran), della varianza tra le medie giornaliere di un soggetto (test di Cochran) e delle medie globali dei soggetti (test di Dixon). I duplicati sono stati utilizzati per la stima del CV analitico giornaliero (nella serie). Le medie dei duplicati sono state analizzate con ANOVA a due vie e le componenti della varianza stimate con un modello ad effetti casuali (modello II).

Risultati e conclusioni. Rispetto a stime analoghe per metodologia riportate in letteratura, misurate su strumenti di generazioni precedenti, risulta che per alcuni parametri (ad es. RBC, HB) le variabilità biologiche intra e interindividuali sono generalmente sovrapponibili, mentre per altri (ad es. WBC e formula differenziale) vi sono differenze di modesta entità in una o entrambe le componenti. Confrontando i risultati stimati sulle tecnologie attuali si nota in genere una buona sovrapponibilità ad eccezione dei parametri reticolocitari (reticolociti assoluti ed IRF), per i quali risultano differenze in tutte le componenti della varianza.

Distribuzione del RDW in donne sane, donatrici di sangue e in donne in stato di gravidanza**B-09**

Trabuio E., Marchesini A., Miconi V.

Laboratorio Patologia Clinica Ospedale di Valdagno ULSS n. 5 Ovest Vicentino

L'RDW è un indice eritrocitario che viene calcolato matematicamente per indicare la dispersione dei volumi dei globuli rossi, di norma l'ampiezza della curva dei volumi varia tra un 11% ed un 14%.

Con il nostro studio ci siamo prefissi di confrontare i valori del RDW, tra un gruppo di donne sane, idonee a donare il sangue e un gruppo di donne che avevano partorito nelle 24/48 ore precedenti. Nell'analisi statistica abbiamo preso in considerazione anche il tasso di emoglobina per cercare una correlazione tra l'RDW e il tasso di emoglobina.

Materiali e Metodi: Il gruppo di controllo sano è costituito da n.435 donne già donatrici di sangue con un tasso di emoglobina > di 12 gr/L. Il gruppo di studio è costituito da n. 159 donne che avevano partorito nelle 24/48 ore precedenti e che non erano state sottoposte a trasfusione di sangue nei mesi precedenti.

Tutti i dosaggi del RDW sono stati analizzati nello strumento SE 9500 Sysmex.

Risultati:

	RDW Gruppo di controllo	Hb Gruppo di controllo	RDW Gruppo di studio	Hb Gruppo di studio
MEDIA	13.15	13.3	14.2	11.4
MEDIANA	13.10	13.3	13.8	11.5
MODA	13.1	13.3	13.7	12
DEVIAZIONE ST.	0.76	0.74	1.26	1.2
PERCENTILI 2.5	12.7	12.8	12.6	8.4
PERCENTILI 97.5	15.2	15.0	17.8	13.7

Discussione: Da questi dati preliminari si può verificare che i valori del RDW del gruppo di controllo è in linea con gli intervalli di riferimento in uso, mentre nel gruppo di studio il valore RDW è superiore ai limiti, correlato al diverso grado di emoglobinizzazione tipico dello stato ferro-carenziale in gravidanza.

VALUTAZIONE E CONFRONTO DELL'ALLARME LUC (ADVIA 120) E OTHER (XE-2100) SU UNA CASISTICA EMATOLOGICA.**B-10**R. Longo², M. Maconi¹, A. Pilia², P. A. Accardo², F. Panichi², M. Brini¹.¹Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche, Azienda Ospedaliera "Arcispedale Santa Maria Nuova", Reggio Emilia.

Scopo del lavoro. La capacità di individuare i campioni patologici e di selezionarli tra i campioni normali è di importanza fondamentale per il laboratorio. L'uso nello stesso laboratorio di analizzatori ematologici a filosofia analitica differente e, quindi, con allarmi strumentali diversi, aumenta la capacità di evidenziare campioni che presentano cellule patologiche. L'allarme LUC dell'ADVIA 120 è associato a blasti, linfociti attivati e monociti con deficit di mieloperossidasi; l'allarme OTHER (parametro di ricerca) del contaglobuli Sysmex XE-2100 dovrebbe evidenziare analoghe popolazioni cellulari.

Scopo del nostro lavoro è la valutazione ed il confronto dei due allarmi osservati su una vasta casistica ematologica nella ricerca di blasti e linfociti atipici.

Materiali e Metodi. 1100 campioni provenienti dal reparto di Ematologia sono stati raccolti in K₃EDTA ed analizzati con i contaglobuli Sysmex XE-2100 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) e con ADVIA 120 (Technicon, Bayer). Sono stati considerati positivi i campioni con valori di LUC superiori a 4% e OTHER superiori a 0,5%. L'analisi al microscopio ottico è stata eseguita su tutti i campioni analizzati; per lo striscio e la colorazione con il metodo May-Grunwald-Giemsa è stato utilizzato lo strisciatore e coloratore automatico Sysmex SP-100.

Risultati. Sono stati selezionati 138 casi LUC positivi e tra questi sono stati osservati 63 campioni positivi all'allarme OTHER. La revisione al microscopio ottico ha messo in evidenza 52 casi negativi per la presenza di blasti o linfociti atipici su 138 LUC positivi e 14 casi negativi per la presenza di blasti o linfociti atipici sui 63 OTHER positivi. In 11 casi ematologici (8.0%) l'allarme OTHER è risultato essere l'unico allarme morfologico specifico per la selezione dei casi patologici.

Discussione e Conclusioni. I risultati ottenuti dal nostro studio dimostrano che l'allarme LUC è più sensibile e meno specifico nella rivelazione di blasti o linfociti atipici dell'allarme OTHER. Inoltre, i nostri dati preliminari dimostrano che l'allarme OTHER, attualmente in fase di sperimentazione, è in alcuni casi l'unico allarme specifico per la presenza di blasti e linfociti atipici, rivelandosi quindi utile nello screening della routine ematologica.

sTfR e gestione del paziente dializzato: marker del bilancio marziale o dell'eritropoiesi?**B-11**S. Passanante^a, M. Diquattro^a, G. Li Cavoli^b, V. Greco^a, B. Palma^a, S. Scola^a, I. Menozzi^a.^a Laboratorio Analisi Cliniche Ospedale Civico, A.R.N.A.S. Civico-Ascoli-Di Cristina, Palermo^b Divisione di Nefrologia, A.R.N.A.S. Civico-Ascoli-Di Cristina, Palermo

Scopo del lavoro. Il livello sierico del recettore solubile della transferrina (sTfR) ha un duplice valore diagnostico, esprime l'attività del midollo eritropoietico, ma presenta anche una forte relazione con la cinetica del ferro. Scopo del lavoro è descrivere due casi clinici nei quali sTfR è stato utilizzato in pazienti dializzati in terapia cronica con r-HuEPO, per valutare il bilancio marziale e/o la risposta all'r-HuEPO.

Materiali e Metodi. I pazienti sono stati monitorati mensilmente nel periodo settembre 2002/maggio 2003.

I parametri ematologici sono stati determinati con analizzatore ADVIA120 Bayer, sTfR con metodica immunoturbidimetrica Orion Diagnostica. L'analisi dei dati è stata eseguita mediante regressione lineare.

Risultati (tabella 1: parametri biochimici ed ematologici in esame)

tab.1	Hb	Ret#	IRF(H/M)	sTfR	CHr	%ipo	Frt	TSat
Paz.1	11.2±0.8	37.7±22.3	11.4±6.6	0.95±0.31	34.3±0.61	0.16±0.21	75.1±43.1	31.4±10.7
Paz.2	10.7±1.7	39.7±28.6	10.5±6.6	1.24±0.27	36.1±1.29	0.6±0.4	238±167	26.6±8.49

Il primo paziente, in terapia costante con darbopoiatina (20u.i./w, i.v.), supplementato saltuariamente con ferro i.v., presentava deplezione dei depositi, sTfR non si correlava con la conta reticolocitaria né con le IRF, ma esprimeva prevalentemente la carenza marziale assoluta, correlandosi con la ferritina e la saturazione della transferrina. Nel secondo paziente, in terapia con r-HuEPO β4000 i.v. (9777±2108u.i./w), le variazioni di dose esaltavano l'eritropoiesi determinando la risalita di Hb >1g (gennaio/maggio), sTfR si correlava con la conta reticolocitaria e con la saturazione della transferrina, ma non con la ferritina (tab.2).

tab.2	sTfR vs Ret#	sTfR vs IRF	sTfR vs Frt	sTfR vs TSat
Paz.1	r 0.571 n.s.	r 0.377 n.s.	r - 0.897 p<0.05	r - 0.757 p<0.05
Paz.2	r 0.782 p<0.05	r 0.486 n.s.	r - 0.058 n.s.	r - 0.746 p<0.05

Discussione e conclusioni. L'osservazione dei pazienti suggerisce la possibilità di utilizzare sTfR nel followup del paziente dializzato in terapia cronica con r-HuEPO sia per valutare la risposta al farmaco sia per monitorare il ferro tissutale disponibile per l'eritropoiesi. L'interpretazione deve essere guidata dal contesto clinico e dalla associazione con altri parametri di eritropoiesi e di monitoraggio del ferro.

Bibliografia. Beguin Yves. Interet du dosage du recepteur soluble de la transferrine (sTfR) pour l'evaluation de l'erythropoiesis et de l'etat du fer. Hematologie 2001; 7 (3):161-169.

VALUTAZIONE DI LABORATORIO DELL'EFFICACIA DI NUOVE TERAPIE ANTIAGGREGANTI PIASTRINICHE**B-12**A. Dardano, A. Scuteri, C. Spaccarotella^o, E. Campopiano^o, C. Indolfi^o, E. GullettaCattedra di Patologia clinica, Cattedra di Cardiologia^o, DMSC, Facoltà di Medicina, Catanzaro.

Scopo del Lavoro. L'aggregazione piastrinica è un parametro di laboratorio che, nei pazienti di pertinenza dei cardiologi interventisti, deve essere costantemente valutato, sia prima che dopo l'angioplastica e l'applicazione dello stent. Un'ulteriore appropriatezza alla richiesta diagnostica è data dal monitoraggio degli effetti dei farmaci, ad elevato effetto antiaggregante, che vengono somministrati con differenti modalità ed associazioni. Scopo del presente studio è quello di valutare il profilo di aggregazione piastrinica, indotta da ADP e da Collagene, in soggetti sottoposti a terapia antiaggregante con Clopidogrel (inibitore del legame tra ADP e recettore accoppiato a G-protein) associato o meno con una statina liposolubile (Atorvastatina).

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati, finora, in questo studio 19 pazienti affetti da cardiomiopatia ischemica. Tutti assumevano 300 mg/die di ASA, 9 erano in terapia cronica con Atorvastatina. Tutti i pazienti hanno ricevuto una dose di Clopidogrel (300 mg) e sono stati sottoposti a prelievo idoneo per la valutazione della aggregazione piastrinica a 0, 2, 6, 24 ore dalla somministrazione del farmaco. La percentuale di aggregazione massima (Max %) è stata misurata, dopo induzione con ADP (10 μM) e con Collagene (10 μg/ml), mediante la strumentazione Packs-4 (Helena Labs.). Elaborazione statistica ANOVA.

Risultati. Non sono stati riscontrati variazioni statisticamente significative della aggregazione piastrinica, in nessuno dei tempi valutati dopo somministrazione di Clopidogrel nei pazienti in terapia cronica con statine rispetto ai pazienti controllo che non ne assumevano.

Discussione e Conclusioni. Lo studio dell'aggregazione piastrinica è da considerare un cardine della valutazione dell'efficacia terapeutica dei farmaci somministrati ai pazienti miocardici ad alto rischio.

I risultati ottenuti suggeriscono che, nelle condizioni sperimentali adottate, la somministrazione cronica di Atorvastatina non modifica l'efficacia antiaggregante del Clopidogrel.

Bibliografia. 1) Serebruany VL, et al. Are antiplatelet effects of Clopidogrel inhibited by Atorvastatin? Circulation, 2003; 107:1568-1569. 2) Lau Wei C et al. Atorvastatin reduced the ability of Clopidogrel to inhibit platelet aggregation. Circulation 2003; 107:32-37.

DIAGNOSTICA DI SINDROME DA ANTICORPI ANTI-FOSFOLIPIDI E ANTICORPI ANTI-PROTROMBINA: LIEVE INCREMENTO DELLA PERCENTUALE DI DIAGNOSI**B-13****E. Marzot, M. Negri, D. Giavarina, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. Nella diagnostica della sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (APS) nuovi anticorpi sono oggi proposti per una migliore "detection rate". Scopo di questo lavoro è valutare l'effetto dell'introduzione di test per la ricerca di anticorpi anti-protrombina nella routine diagnostica del laboratorio.

Materiali e metodi. A 250 soggetti consecutivi che si sono presentati presso il laboratorio con richiesta di anticorpi anti-fosfolipidi e/o ricerca di lupus anticoagulante sono stati eseguiti: anticorpi anti-cardiolipina IgG e IgM (ACL) (Pharmacia Italia, Milano), anticorpi anti-β2glicoproteina I IgG e IgM (Pharmacia Italia, Milano), anticorpi anti-protrombina IgG/IgA/IgM (Orgentec, Mainz, D), ricerca del lupus anticoagulante mediante due test di screening (PTT-LA, Stago, France; DVVT, Ortho, Milano), test di mix e test di conferma con correzione con fosfolipidi.

Risultati. La tabella riassume i risultati. ACL: anticorpi anti-cardiolipina; LAC: ricerca lupus anticoagulante; AbPT: anticorpi anti-protrombina; Abβ2GPI: anticorpi anti-β2glicoproteina I. Su 250 richieste di diagnostica per sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi 219 sono risultate negative a tutti i test. Degli 11 casi di LAC positivo 1 era positivo per β2GPI, 3 per ACL. 6 soggetti hanno mostrato una positività singola per gli anticorpi anti-protrombina.

		ACL +		ACL -	
		AbPT +	AbPT -	AbPT +	AbPT -
LAC +	Abβ2GPI +		1		
	Abβ2GPI -			3	7
LAC -	Abβ2GPI +		2	1	1
	Abβ2GPI -	2	8	6	219

Discussione e Conclusioni. Esiste un elevato numero di risultati negativi rispetto alle richieste. Pur in presenza di associazioni tra i vari autoanticorpi non esiste una chiara dipendenza per cui un test possa essere di screening a test successivi. Gli AbPT sono risultati positivi da soli in 6 casi (2,4% del totale, ma 50% di tutte le positività da AbPT). Questa positività singola aumenta la "detection rate" dei positivi da 25 a 31 (+24%). Ulteriori studi sono necessari per la verifica dell'associazione di queste positività con la clinica.

AUTOMAZIONE IN ALLERGOLOGIA**B-14****M. Negri, E. Marzot, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo" - Vicenza

Scopo del lavoro. L'elevata prevalenza delle malattie allergiche nella popolazione, documentata da numerosi studi epidemiologici, e l'importanza di identificare i soggetti atopici hanno determinato un aumento del numero di dosaggi di IgE totali e specifiche rendendo sempre più difficoltoso l'utilizzo di metodi di determinazione che siano laboriosi e mai completamente automatizzati. Scopo del lavoro è riportare i miglioramenti ottenuti nel Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia dell'ospedale "S. Bortolo" di Vicenza in termini di tempo di esecuzione e di refertazione con l'introduzione di una strumentazione automatica.

Materiali e metodi. Dosaggio IgE totali e specifiche con metodo Pharmacia CAP System sul sistema CAP System (Pharmacia Italia) composto da Positioning Guide 96, AutoCAP e Fluorocount e su UniCAP1000 (Pharmacia Italia). Il primo è un sistema semi-automatico con caricamento batch che permette l'esecuzione contemporanea di 366 allergeni, il secondo è un sistema completamente automatico con caricamento continuo e randomizzato.

Risultati.

	CAP System	UniCAP1000
Tempo refertazione	4 - 8 giorni	2 giorni
Durata fasi pre/post-analitica	2 ore e 30 minuti	30 minuti
Durata fase analitica per 366 allergeni	4 ore e 30 minuti	3 ore e 10 minuti

Discussione e conclusioni. L'acquisizione della strumentazione automatica UniCAP 1000 ha rappresentato un sostanziale miglioramento del servizio verso l'utenza dato che il tempo che intercorre tra il prelievo e la refertazione si è ridotto a soli 2 giorni mentre con il precedente metodo poteva variare da 4 a 6/8 giorni. Vi è stato un miglioramento anche nella gestione del Laboratorio dato che per l'esecuzione di una seduta analitica con il metodo semi-automatico un operatore era impegnato per 2 ore e 30 minuti circa mentre con l'UniCAP 1000 tale tempo si riduce a circa 30 minuti. È importante ricordare che la durata della fase analitica strumentale è comprensiva del tempo necessario per l'esecuzione anche dei test di approfondimento, possibili con reflex test automatico in caso di positività per specifici allergeni, che precedentemente slittavano alla seduta analitica successiva, e che è sicuramente aumentata la affidabilità analitica poiché mancano i non rari errori grossolani dovuti alla manualità di alcune operazioni.

CONFRONTABILITÀ DELLA DETERMINAZIONE DI IGE SPECIFICHE AL LATTICE IMPIEGANDO ANALIZZATORI UNICAP, ALISEI ED IMMULITE 2000

B-15

M. Filippini, B. Caruso, N. Lerose, R. M. Dorizzi, P. Rizzotti

Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliera di Verona

Scopo del lavoro. La diffusione delle "Precauzioni universali" in ambito sanitario hanno fatto acquistare dimensioni "epidemiche" alla allergia al lattice^{1, 2} che a partire dagli anni 80 è stata riconosciuta con frequenza sempre maggiore (interessando in alcune casistiche fino al 17% degli operatori sanitari). Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare la confrontabilità dei risultati ottenuti con l'analizzatore impiegato in routine con quelli di due analizzatori automatici resisi recentemente disponibili.

Materiali e Metodi. La concentrazione di IgE contro il lattice è stata misurata in singolo utilizzando l'analizzatore e reagenti Unicap (Pharmacia, Uppsala, Svezia) (CAP); in duplicato impiegando l'analizzatore ed i reagenti Immulite 2000 (DPC, Los Angeles, USA) (DPC) e l'analizzatore Alisei (SEAC, Calenzano, FI, Italia) ed i reagenti Radim (Pomezia, Roma, Italia) (CARLA). Le determinazioni sono state eseguite da un operatore esperto.

Risultati. La concentrazione ottenuta con i tre analizzatori è risultata: CAP: intervallo= 0.35-13.9 KU/L; media = 1.56 KU/L (Intervallo di confidenza, IC 95%: 0.62-2.51); mediana= 0.35 KU/L (IC 95%: 0.35-0.35); CARLA: intervallo= 0.15-19.0 KU/L; media = 1.90 KU/L (IC 95%: 0.51-3.29); mediana= 0.15 KU/L (IC 95%: 0.15-0.24); DPC: intervallo= 0.15-71.4 KU/L; media = 3.53 KU/L (IC 95%: -0.257-7.32); mediana= 0.15 KU/L (IC 95%: 0.15-0.19). Correlazione e regressione di Passing Bablok risultano rispettivamente: DPC vs CAP; $r = 0.8969$ (IC95% 0.8123-0.9445); CARLA vs CAP; $r = 0.9500$ (IC95% -0.9068-0.9734); DPC vs CARLA; $r = 0.844$ (IC95% -0.723-0.915). DPC = -0.568 + 2.05 CAP; CARLA = -0.340 + 1.399 CAP; DPC = -0.01 + 1.066 DPC. Considerando i valori di cut-off raccomandati dai produttori (CAP: 0.35, CARLA: 0.5, DPC: 0.35 KU/L) la classificazione è uguale per 38/40 per CAP/DPC (due discordanze: CAP: 0.38; DPC: 0.22 KU/L; CAP: 0.51; DPC: 0.15 KU/L); 38/40 per CAP/CARLA (due discordanze: CAP: 0.38; CARLA: 0.22 KU/L; CAP: 0.51; CARLA: 0.15 KU/L) e per 39/40 per DPC/CARLA (una discordanza: DPC: 0.73; CARLA: 0.28 KU/L; CAP: 0.51; CARLA: 0.15 KU/L). La determinazione DPC appare più precisa rispetto a quella CARLA (CV medio: 2.66% vs 8.32%).

Discussione e conclusioni. Anche se la confrontabilità dei valori numerici non è molto elevata la classificazione dei soggetti appare soddisfacente considerato anche che il dato analitico deve comunque essere interpretato nell'ambito clinico tenendo conto della probabilità pre-test della diagnosi.

Bibliografia. 1) Agarwal S, Gawkrödger DJ. Latex allergy: a health care problem of epidemic proportions Eur J Dermatol 2002; 12: 311-5; 2) Zueher-Pinchoff B, Stadtmayer GJ. Latex allergy. Mt Sinai J Med 2002; 69:88-95

ANTICORPI ANTI-dsDNA NEL SIERO DI PAZIENTI CON SINDROME DI DOWN E DI ALZHEIMER

B-16

M.M. Corsi^a, A. Venditti^a, D. Passoni^a, L. Bet^b, G. Meola^b, M. Chiappelli^c, F. Licastro^c

^aLaboratorio di Patologia Clinica, Istituto di Patologia Generale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Milano;

^bCattedra di Neurologia, Dip. di Scienze Medico-Chirurgiche, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Milano;

^cCattedra di Immunologia, Dip. di Patologia Sperimentale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Bologna.

Scopo del lavoro. Gli anticorpi anti-dsDNA sono di gran lunga i markers patogenetici di una malattia autoimmune come il lupus eritematoso sistemico; inoltre Juby & Davis¹ hanno evidenziato la presenza di questi autoanticorpi in pazienti anziani, dimostrando che in questi pazienti sono elevati come conseguenza dell'immunosenescenza. Altri gruppi hanno studiato in pazienti con Sindrome di Alzheimer la presenza di anticorpi anti-dsDNA^{2,3}; è stata infatti riscontrata una relazione fra la presenza di tali anticorpi e lo stadio della demenza presente nella Sindrome di Alzheimer. Noi abbiamo voluto paragonare due patologie simili come la Sindrome di Alzheimer e la Sindrome di Down per quanto concerne il sistema immunitario, e valutare la presenza di anticorpi anti-dsDNA anche nei soggetti con trisomia del cr. 21.

Materiali e Metodi. Abbiamo considerato per il nostro studio 5 pazienti con Sindrome di Alzheimer, 27 con Sindrome di Down, 5 con connettiviti (controlli positivi), e 5 controlli (negativi). Abbiamo utilizzato per il dosaggio degli anticorpi anti-dsDNA il kit della DIASSTAT[™] (Bouty, Milano, Italia), un dosaggio immunoenzimatico quantitativo/qualitativo ELISA per la rilevazione degli autoanticorpi IgG e IgM specifici verso il DNA a doppia catena (dsDNA) nel siero umano. La lettura è stata effettuata con spettrofotometro a 550 nm. I nostri risultati hanno evidenziato, nei controlli positivi valori medi di 43.03 ± 2.3 (SD) IU/ml, ed in quelli negativi 5.23 ± 1.3 (SD) IU/ml. Nei pazienti con Sindrome di Alzheimer abbiamo avuto valori di 23.84 ± 1.6 (SD) IU/ml e nei soggetti con Sindrome di Down 12.48 ± 5.5 (SD) IU/ml con significatività statistica ($p < 0.02$).

Discussione e Conclusioni. I nostri risultati mostrano la presenza di variazioni della presenza di anticorpi anti-dsDNA in patologie come la Sindrome di Alzheimer e la Sindrome di Down; tali variazioni sono tuttavia inferiori al valore di 50 IU/ml al di sopra del quale c'è la positività per il lupus eritematoso sistemico (LES) ed altre connettiviti. Questi dati possono suggerire la possibile comparsa di fenomeni di autoimmunità correlata a fenomeni apoptotici in pazienti con immunosenescenza⁴.

Bibliografia. 1) Juby AG, Davis P. Prevalence and disease associations of certain autoantibodies in elderly patients. Clin Invest Med 1998; 21: 4-11. 2) Mecocci P, Ekman R, Parnetti L, Senin U. Antihistone and anti-dsDNA autoantibodies in Alzheimer's disease and vascular dementia. Biol Psychiatry 1993; 34: 380-5. 3) Serot JM, Bene MC, Gobert B, Christmann D, Leheup B, Faure GC. Antibodies to choroid plexus in senile dementia of Alzheimer's type. J Clin Pathol 1992; 45: 781-3. 4) Lorenz FM, Herrmann M, Winkler T, Gaipl U, Kalden JR. Role of apoptosis in autoimmunity. Apoptosis 2000; 5: 443-9.

ANALISI COMPARATIVA DI TRE METODI IMMUNOENZIMATICI PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI ANTI-CCP**B-17**

N. Bizzaro, G. Marcon, P. Pasini

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile, S. Donà di Piave (VE)

Introduzione. L'elevata specificità e l'alto valore predittivo positivo degli anticorpi anti-CCP, associati al significato prognostico per lo sviluppo di artrite progressiva erosiva, ne consentono l'impiego sia a scopo diagnostico che prognostico nei pazienti con artrite reumatoide (AR). Attualmente sono disponibili in commercio tre kit immunoenzimatici di seconda generazione. Benchè tutti utilizzino come substrato lo stesso peptide sintetico, la composizione dei kit differisce per il coniugato, i tamponi di diluizione e di lavaggio, i tempi di incubazione e i calibratori. Abbiamo ritenuto utile eseguire uno studio comparativo per valutare eventuali differenze nella accuratezza diagnostica dei tre metodi.

Materiali e metodi. Sono stati studiati 352 pazienti, di cui 118 con AR definita secondo i criteri ACR, 159 con altre patologie non autoimmuni e 75 soggetti sani. I kit ELISA analizzati sono prodotti da Eurodiagnostica (Arnhem, Paesi Bassi), Inova (S. Diego, CA) e da Axis Shield (Dundee, UK) e sono distribuiti in Italia rispettivamente da Diasorin, Menarini Diagnostics e Biot. I cut-off ottimali per ciascun kit sono stati determinati mediante l'impiego delle curve ROC.

Risultati. Sensibilità e specificità sono risultate sovrapponibili, con modeste e non significative differenze tra i tre kit in esame: sensibilità 62, 58 e 63% e specificità 99.1, 97.9 e 97.7% rispettivamente per Eurodiagnostica, Inova e Shield. Il valore medio della concentrazione anticorpale nei pazienti AR CCP-positivi, AR CCP-negativi e nei controlli è risultato rispettivamente: 1.100 ± 764 , 7.6 ± 6.7 e 6.8 ± 5.1 per Eurodiagnostica, 262 ± 207 , 5.7 ± 4.0 e 4.5 ± 4.0 per Inova e 117 ± 67 , 1.4 ± 0.8 e 1.1 ± 1.2 per Shield.

Conclusioni. L'analisi comparativa ha evidenziato come tutti i kit attualmente in commercio per la determinazione degli anticorpi anti-CCP siano dotati di pari accuratezza diagnostica e, in particolare, come tutti garantiscano un elevato livello di specificità. La differenza tra campioni anti-CCP positivi e negativi è risultata molto netta per tutti i kit esame, evidenziando la assoluta specificità degli alti titoli anticorpali. La disponibilità di più kit a così breve distanza dallo sviluppo di questo innovativo test, testimonia l'impegno delle aziende biomediche in questo settore diagnostico che porterà certamente nei prossimi anni ad una sempre più ampia diffusione del test e al suo probabile inserimento tra i criteri diagnostici di AR.

L'OUTCOME IN AUTOIMMUNOLOGIA: VALUTAZIONE DELLE RICADUTE DEI CORSI DI FORMAZIONE.**B-18**R. Tozzoli^a, G. Kodermaz^a, A.R. Perosa^a, N. Bizzaro^b, D. Villalta^c, E. Tonutti^d, F. Manoni^e, S. Valverde^f.

^aLaboratorio Analisi Chimico-cliniche, Ospedale di Latisana (Udine); ^bLaboratorio di Patologia clinica, Ospedale di S. Donà di Piave (Venezia); ^cServizio di Virologia ed Immunologia clinica, Ospedale di Pordenone; ^dIstituto di Chimica-clinica, Ospedale di Udine; ^eLaboratorio Analisi Chimico-cliniche, Ospedale di Monselice (Padova); ^fLaboratorio Analisi Chimico-cliniche, Ospedale di Chioggia (Venezia).

Scopo del lavoro. È stato la valutazione delle risposte al questionario sulle ricadute, da parte dei partecipanti ai corsi di diagnostica di Laboratorio delle malattie autoimmuni.

Materiali e metodi. Ai 450 partecipanti è stato consegnato, al termine del corso, un questionario da compilare e restituire alcuni mesi dopo la partecipazione.

Risultati. Sono pervenute 137 risposte (pari al 38%). Di queste, 99 (72.3%) provenivano da Medici e 38 (27.7%) da laureati in Scienze Biologiche. I partecipanti ai corsi provenivano, per la massima parte, da Laboratori generali (72.3%) e per la restante parte (27.7%) da Laboratori specializzati (Chimica-clinica ed Ematologia, Microbiologia, Centri Trasfusionali). Il volume di test di autoimmunità/anno eseguito presso i Laboratori dei partecipanti era per il 57.8% dei casi compreso tra 3000 e 5000 e per il 23.3% tra 5000 e 10000. Il rapporto tra Laboratorio e servizi clinici, rappresentati per il 69% da Ambulatori specializzati, era ottimale nell'11.6% dei casi, limitato ad alcuni nel 74.2% dei casi, assente nel 10% dei casi. Il corso ha migliorato le conoscenze dei partecipanti in misura elevata nel 48.2% dei casi, in misura soddisfacente nel 43.1% dei casi. Solo l'1.5% dei partecipanti ha dichiarato di non aver migliorato le proprie conoscenze. Tra le principali procedure operative modificate o introdotte dopo la partecipazione ai corsi, segnalate dal 77% dei partecipanti, si evidenziano: l'introduzione di nuovi test (22.9%), la variazione della soglia di positività del test ANA-IFI (20.1%), l'introduzione di un referto interpretativo (19.5%), l'introduzione di un algoritmo diagnostico (20.8%) e modifiche nella scelta dei metodi (16.7%).

Discussione e conclusioni. Il processo di formazione non è completo se manca la verifica dell'impatto a medio-lungo termine: è quindi fondamentale la verifica delle ricadute organizzative nell'attività del Laboratorio a seguito di corsi di formazione ed aggiornamento. In letteratura sono noti pochissimi studi al proposito: in particolare questo è il primo studio sull'outcome relativo a corsi di formazione SIMeL. Dall'analisi dei dati è possibile osservare l'elevata frequenza con cui sono state introdotte modifiche organizzative nell'attività di Laboratori di Immunologia clinica che eseguono test autoanticorpali.

ANTICORPI ANTI dsDNA POSITIVI IN ANA NEGATIVO : UN CASO CLINICO**B-19**

A. Montanelli, A. Vagni, E. Mainardi, E. Cancellieri, M.T. Romagnoli.
Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda Ospedale Maggiore di Crema

Scopo del lavoro. Varie sono le segnalazioni, anche in letteratura, di presenza di Ab anti DNA non accompagnati da positività ANA: scopo del nostro lavoro è l'approfondimento di un caso in cui tale difformità si manifestava con un titolo di Ab anti DNA molto elevato in presenza di ANA negativo.

Materiali e metodi. Una paziente di anni 43 con patologia tiroidea autoimmune (Ab anti Tg di 191 ed anti TPO di 3147 , valori di normalità inf. A 60 I.U. per ambedue) viene sottoposta per la prima volta dal curante a ricerca di ANA e DNA Ab per semplice check up. L'ANA viene effettuato con metodo IF (cellule Hep 2 ditta Euroimmun) e risulta negativo. Gli Ab anti DNA vengono determinati con l'Elisa QUANTA Lite ds-DNA su strumento Plato, tutto della Menarini: risulta un valore di 1269 LU, con positività del metodo a partire da 400. Ripetuta l'indagine ANA con IF a diluizioni scalari da 1:40 fino a superare 1: 5120 con risultato sempre negativo. Ripetuta l'indagine ds DNA su Crithidia Luciliae della Euroimmun: risultato negativo. Per dirimere la discrepanza tra Elisa positivo ed IF negativo riguardo agli Ab DNA abbiamo utilizzato una terza metodica, l'immunoblot della Euroimmun, per i seguenti parametri: ds DNA, nRNP, Sm, SSA, SSB, Scl 70, Jo 1, CENP B, Histon e ribosomal P-protein: tutto negativo. Per ulteriore scrupolo abbiamo inviato il campione ad altri 2 laboratori, uno con metodica Elisa e strumento della ditta Menarini, l'altro con metodica Elisa e strumento della ditta Delta. L'Elisa si è sempre confermato positivo. E' stata esclusa presenza di Ab anti endomisio con IF su esofago di scimmia della Euroimmun.

Discussione e conclusioni. Pur essendo noto che la metodica Elisa è più sensibile e meno specifica di altre, il caso in questione ci ha dato una uniformità di risultati tra gli Elisa ma una negatività di tutte le altre metodologie (immunofluorescenza ed immunoblotting). Vengono quindi poste le seguenti questioni: 1) quanto testato in Elisa sono veramente Ab anti ds DNA o sono ss DNA , ovvero Ab a bassa avidità? 2) vi è una qualche influenza legata alla presenza di Ab anti Tg ed anti TPO ? 3) E' possibile che il trattamento farmacologico per tiroiditi autoimmuni generi un assetto anticorpale lupus-like?

Bibliografia. 1) Loviselli A, Velluzzi F et al. Circulating antibodies to DNA-related antigens in patients with autoimmune thyroid disorders. *Autoimmunity* 1992; 14(1):33-6. 2) Inamo Y., Harada K. Antinuclear antibody positività in pediatric patients with autoimmune thyroid disease. *J. Rheumatol.* 1997 24 (3) : 576 B. 3) Bizzarro N, Tozzoli R et al. Variability between methods to determine ANA, anti ds-DNA and anti ENA auto-antibodies: a collaborative study with the biomedical industry. *J. Immunol. Methods.* 1998 1; 219 (1-2): 99- 107.

MALATTIA CELIACA: STUDIO SULLA DISTRIBUZIONE DEGLI ALLELI DQ IN UNA POPOLAZIONE PEDIATRICA CON MALATTIA CELIACA CONCLAMATA.**B-20**

C. di Natale, M.I. Fezzi, G. Dall'Alba, M.A. Fedeli, G. Marchiori.

Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale, Azienda Ospedaliera ULSS12 Veneziana, Venezia

Scopo del lavoro. La MC è strettamente associata ad alcuni genotipi del locus DQ del sistema HLA di classe II, i cui prodotti genici sono due catene polipeptidiche associate non covalentemente tra loro, la catena α e la catena β , formanti una tasca con la loro porzione amica extracellulare per il legame con gli antigeni da presentare ai linfociti T (nel caso della MC gli antigeni sono i peptidi dell' α -gliadina). Per convenzione gli alleli codificanti le catene α e β vengono chiamati rispettivamente DQA1* DQB1* seguito da 4 numeri che identificano quel particolare allele. La comparsa della MC è condizionata dalla presenza del fenotipo HLA DQ2 (alleli DQA1*0501 e DQB1*0201) e DQ8 (alleli DQA1*0301 e DQB1*0302). Scopo del nostro lavoro è stato identificare ed analizzarne la frequenza degli alleli che codificano le molecole DQ2 e DQ8 nella popolazione di soggetti pediatrici con malattia conclamata.

Materiali e metodi. Dal gennaio 2002 fino al maggio 2003 abbiamo tipizzato 48 pazienti, non correlati, provenienti dal reparto di Pediatria dell'Ospedale e dai distretti sanitari di competenza, di età compresa tra 2 e 14 anni (sintomi suggestivi per MC, positività per gli anticorpi anti tTG sia di classe IgA che IgG e per circa l'85% positività per gli EMA IgA) la cui diagnosi, in seguito, è stata confermata da biopsia. Abbiamo eseguito la tipizzazione degli alleli DQ con tecnica in biologia molecolare a bassa risoluzione (metodica: Dynal allset SSP DQ 'low resolution' della ditta Dynal Biotech) ed il test specifico per la MC ('Protrans Celiac Disease' della ditta Nuclear Laser).

Risultati. Dei 48 pazienti, 40 (83.5%) sono risultati positivi per l'antigene DQ2, 7 positivi per il DQ8 (14.5%) mentre solo uno (2%) non presentava alcun antigene specifico. Nei 40 pazienti DQ2 positivi, la tipizzazione con il test specifico ha rilevato che in 22 pazienti (55%) era presente l'allele DQB1*0201 associato al DQA1*0501, in 13 pazienti (32.5%) era presente l'allele DQB1*0202 associato al DQA1*0201, in 5 pazienti (12.5%) l'allele DQB1*0202 era associato al DQA1*0505. Nei 7 pazienti DQ8 positivi era presente l'allele DQA1*0301 associato a DQB1*0302.

Discussione e conclusioni. DQB1*0201 e DQB1*0202 si distinguono esclusivamente per la sostituzione di un aminoacido in posizione 135 localizzato nel dominio più prossimo alla membrana della catena β . Il riscontro del 45% dei soggetti DQ2 positivi con allele DQB1*0202 piuttosto che DQB1*0201, conferma che la presenza sulla membrana di eterodimeri DQA1*0501-DQB1*0201 oppure DQA1*0501-DQB1*0202 attribuisce alle cellule la stessa efficacia nel presentare gli antigeni.

Anticorpi anti-citrullina (anti-CCP) nel follow-up dell'Artrite Reumatoide**B-21*****M.Ruggeri, **C.Bancheri, *C.Maida, *T.Moro, *A.Pellegrinotti*****Azienda Ospedaliera S.Giovanni-Addolorata-Calvary; **Servizio di Reumatologia Ospedale S.Pertini**

Scopo del lavoro:

Utilità nel follow up di pazienti affetti da A.R. della determinazione degli anticorpi anti-CCP confrontata con quella di test tradizionali (Waalser Rose, FR) e CRP come indice di attività di malattia.

Materiali e metodi:

In quattro pazienti con diagnosi certa di A.R. ed in trattamento con FANS e methotrexate da oltre 2 anni (2 maschi e 2 femmine di età compresa tra 42 e 65 anni) sono stati monitorati per un anno a cadenza trimestrale (v.tabella) gli analiti su indicati. Gli anticorpi anti-CCP sono stati determinati con un test ELISA di seconda generazione (Inova), il FR con un test al lattice turbidimetrico così come la CRP (Alpha Wasserman), mentre per la Waaler Rose è stata utilizzata una tecnica di cmoagglutinazione (Bouty)

Risultati e Conclusioni:

M.L. (m)	FR	717 UI/mL	1024 UI/mL	979 UI/mL	916 UI/mL
	WR	5120 UI/mL	2024 UI/mL	1024 UI/mL	512 UI/mL
	CCP	119 Unità	129 Unità	172 Unità	114 Unità
	CRP	2.04 mg/dL	1.32 mg/dL	1.92 mg/dL	1.62 mg/dL
D.F. (f)	FR	75 UI/mL	80 UI/mL	103 UI/mL	96 UI/mL
	WR	258 UI/mL	126 UI/mL	4 UI/mL	4 UI/mL
	CCP	205 Unità	150 Unità	161 Unità	155 Unità
	CRP	0.15 mg/dL	0.11 mg/dL	0.20 mg/dL	0.22 mg/dL
G.G. (m)	FR	158 UI/mL	101 UI/mL	76 UI/mL	115 UI/mL
	WR	512 UI/mL	320 UI/mL	128 UI/mL	64 UI/mL
	CCP	119 Unità	154 Unità	120 Unità	122 Unità
	CRP	1.18 mg/dL	1.0 mg/dL	0.62 mg/dL	0.95 mg/dL
S.T. (f)	FR	144 UI/mL	108 UI/mL	207 UI/mL	160 UI/mL
	WR	256 UI/mL	126 UI/mL	64 UI/mL	126 UI/mL
	CCP	125 Unità	120 Unità	117 Unità	120 Unità
	CRP	0.12 mg/dL	0.18 mg/dL	0.10 mg/dL	0.16 mg/dL

I valori degli anticorpi anti-CCP sono risultati costantemente elevati in tutte e quattro le determinazioni contrariamente agli altri parametri di confronto (in particolare la WR). Pertanto la determinazione degli anticorpi anti-CCP, utilissima per la diagnosi di A.R. per la sua elevata specificità e per l'alto valore predittivo, sembrerebbe in questi casi di scarso valore nel follow-up non apparendo influenzata dalle fasi di malattia.

AUTOIMMUNITA' NEI BAMBINI CON FAMILIARITA' PER DIABETE MELLITO DI TIPO 1**B-22****Faricelli R.¹, Moha A², Di Michele S², Tumini S², Di Luzio R², Chiarelli F², Troiano S¹, Gioia S¹, Filippi G¹, Rabottini S¹, Speranzini P¹, Petruzzellis D¹, Martinotti S¹****¹ Dipartimento di Medicina di Laboratorio, ² Clinica Pediatrica, Università di Chieti.**

Introduzione. Negli ultimi anni si è assistito ad un progressivo aumento della frequenza di patologie autoimmuni. In particolare è noto da tempo che i bambini e adolescenti con diabete mellito di tipo 1 (T1DM) hanno un aumentato rischio di sviluppare altre malattie autoimmuni, come tiroidite e malattia celiaca e per questo la maggior parte dei Centri di Diabetologia ha attivato programmi di screening. In virtù della comune predisposizione genetica, potrebbero costituire una categoria a rischio anche i fratelli dei bambini con diabete mellito di tipo 1. Per testare questa ipotesi abbiamo offerto lo screening della funzionalità tiroidea e della malattia celiaca ai fratelli dei nostri pazienti con T1DM.

Metodi. Mediante un unico prelievo ematico abbiamo effettuato il dosaggio di TSH, FT3, FT4, anticorpi anti-tireoperossidasi e gli anticorpi anti-endomisio e anti-transglutaminasi. I fratelli sono stati confrontati con 140 controlli sani di stessa età e sesso, senza familiarità per T1DM. I pazienti con positività dei markers sierologici di malattia celiaca sono stati sottoposti a biopsia.

Risultati. La nostra popolazione comprendeva un totale di 151 bambini (70 M, 81 F). Hanno aderito allo screening 79 bambini (39 M, 50 F), asintomatici, di età compresa tra i due e i diciotto anni. Di questi, cinque bambini presentavano anticorpi diretti anti-perossidasi tiroidea, di cui uno con ipotiroidismo compensato (TSH= 8.45 U/ml con FT3=4.58 pg/ml e FT4=13 pg/ml). Due bambini con familiarità presentavano anticorpi anti-transglutaminasi. La biopsia, eseguita in uno dei due, ha confermato la malattia celiaca. Cinque bambini inoltre hanno presentato anticorpi correlati al T1DM. Nella popolazione di controllo non sono stati identificati anticorpi anti-perossidasi tiroidea né alterazioni della funzione tiroidea.

Conclusioni. La prevalenza di autoanticorpi nel campione da noi esaminato di bambini e adolescenti con diabete mellito di tipo 1 è risultata più alta rispetto alla popolazione generale. Data l'efficacia della dieta priva di glutine nel prevenire le complicanze della malattia celiaca e della terapia sostitutiva nell'ipotiroidismo subclinico, è evidente il beneficio di poter individuare un gruppo di bambini a rischio. Anche se sono necessari studi più ampi, si potrebbe consigliare uno screening della funzionalità tiroidea e della malattia celiaca anche ai bambini con familiarità al T1DM, che potrebbe essere combinato con quello degli anticorpi associati al T1DM.

ANTICORPI ANTI- α FODRINA NELLA DIAGNOSI DELLA SINDROME DI SJÖGREN. INSUFFICIENTE SENSIBILITÀ ANALITICA O BASSA SENSIBILITÀ NOSOGRAFICA?

B-23

N. Bizzaro¹, D. Villalta², E. Tonutti³, R. Tozzoli⁴, A. Ruffatti⁵, P. Grypiotis⁵, P.A. Ostuni⁵.

Laboratori di ¹S. Donà di Piave; ²Pordenone; ³Udine; ⁴Latisana; ⁵Reumatologia, Università di Padova.

Introduzione. Gli anticorpi anti- α fodrina sono uno dei marcatori sierologici proposti di recente per la diagnosi di sindrome di Sjögren (SS). In questo studio abbiamo confrontato due gruppi di pazienti con SS primaria, uno classificato secondo i criteri europei che non includono necessariamente la biopsia delle ghiandole salivari minori e l'altro in accordo con i più restrittivi criteri nordamericani che prevedono obbligatoriamente la positività dell'esame istologico.

Materiali e metodi. Sono stati studiati 174 pazienti con SS primaria per valutare la sensibilità del test e 141 pazienti con altre malattie del connettivo o infettive virali e 40 soggetti sani, per valutarne la specificità. Dei 174 soggetti con SS, in un sottogruppo di 123 la malattia era stata classificata secondo i criteri europei e in un sottogruppo di 51 con i più restrittivi criteri nordamericani. Gli anticorpi anti- α fodrina sono stati ricercati con due metodi immunoenzimatici in fase solida, con i kit prodotti da Aeskulab (Wandelshheim, Germania) e da Orgentec (Mainz, Germania), sia per gli anticorpi di classe IgA che IgG.

Risultati. Complessivamente la sensibilità del test per gli anticorpi di classe IgA e IgG, è risultata 22.9% e 15.5% per il metodo Aeskulab e 19.8% e 12.7% per il metodo Orgentec. Nel sottogruppo di 51 pazienti la cui diagnosi includeva tra i criteri classificativi la biopsia, le sensibilità per IgA e per IgG sono risultate 17.6% e 9.8% per Aeskulab e 13.7% e 11.8% per Orgentec. La specificità è risultata del 91.5% per il metodo Aeskulab e del 90% per quello Orgentec. La concordanza globale tra i due metodi è stata del 73% per IgA e del 71.8% per IgG, ma molto più bassa (24% IgA, 5% IgG) quella relativa ai soli casi positivi.

Discussione. Al buon valore di specificità, gli anticorpi anti- α fodrina non associano un'accettabile sensibilità. È possibile che tale dato sia imputabile ad una bassa sensibilità nosografica (come avviene per esempio per gli anticorpi anti-Sm nel LES o anti-sintetasi nella polimiosite), oppure che le attuali formulazioni antigeniche non siano dotate di tutti gli epitopi rilevanti (bassa sensibilità analitica). Considerata la scarsa concordanza tra i due metodi impiegati, è più probabile la seconda ipotesi e sarà necessario attendere l'eventuale introduzione di metodi di seconda generazione prima di poter valutare l'efficacia di questo nuovo parametro anticorpale per la diagnosi di Laboratorio della sindrome di Sjögren.

PREVALENZA DI AUTOANTICORPI NON-ORGANO-SPECIFICI ED ORGANO-SPECIFICI IN PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA LINFATICA CRONICA.

B-24

M. Tampoia¹, M. Delia², A. Fontana¹, S. Capalbo², D. Centonze¹, N. Pansini¹, V. Liso²

¹U.O. Patologia Clinica I, Policlinico di Bari.

²Dipartimento di Ematologia, Università degli Studi di Bari.

Introduzione. È noto che in corso di emopatie maligne, soprattutto linfoproliferative, possono essere rilevati autoanticorpi circolanti. La leucemia linfatica cronica (LLC) può occasionalmente associarsi alla presenza di anemia e piastrinopenia autoimmune. Tuttavia in tali pazienti, poco studiati risultano i fenomeni autoimmuni connessi con autoanticorpi non diretti contro elementi figurati e cellule ematiche.

Scopo del lavoro. Scopo del nostro lavoro è stato quello di ricercare alcuni autoanticorpi non-organo specifici ed organo specifici nel siero di 115 pazienti affetti da LLC e di riportare eventuali positività autoanticorpali a parametri biologici e clinici.

Pazienti e metodi. Abbiamo studiato 190 sieri: 115 provenienti da pazienti affetti da LLC (44 femmine e 71 maschi, di età media 68), 86 in stadio A, 15 in stadio B, 14 in stadio C di malattia e 75 da soggetti sani (30 femmine e 45 maschi, di età media 65). In tutti i sieri sono stati ricercati gli autoanticorpi anti-nucleo (ANA), anti-mitocondrio (AMA), anti-muscolo liscio (ASMA), anti-LKM, anti-cellule parietali della mucosa gastrica (APCA) con metodica di immunofluorescenza indiretta (IFI), autoanticorpi anti-tireoperossidasi (TPO) ed anti-tireoglobulina (TG), con metodica in chemiluminescenza, autoanticorpi anti-cardiolipina (ACA) con metodica immunoenzimatica (EIA) ed anticorpi anti-fattore reumatoide (FR) con metodica nefelometrica.

Risultati. Ventidue sieri (19%) di pazienti affetti da LLC e 6 sieri (8%) dei controlli sono risultati positivi al test ANA con titolo = o > 1:80, con una differenza statisticamente significativa ($p < 0.05$) e con una più alta prevalenza di positività nel sesso maschile (16 pazienti) rispetto al sesso femminile (6 pazienti). Non abbiamo trovato differenze statisticamente significative tra i due gruppi riguardo la positività ad altri autoanticorpi. Quattro pazienti (3%) avevano una componente monoclonale nel siero, ma nessuno di questi presentava una positività per ANA, sette pazienti (6%) presentavano patologie autoimmuni, anemia emolitica e piastrinopenia, ma solo uno di questi pazienti mostrava positività per ANA a titolo 1:80.

Conclusioni. I nostri dati mostrano una maggiore prevalenza di ANA nei pazienti affetti da LLC rispetto ai soggetti normali. Resta tuttavia incerto il loro effettivo significato biologico e clinico, che andrebbe indagato con studi prospettici adeguatamente protratti nel tempo.

B-25

ELEVATA PREVALENZA DI CELIACHIA IN PAZIENTI AFFETTI DA EPATITE AUTOIMMUNE
D. Villalta,^{1,2} D. Girotami,¹ M. Reitano,¹ S. Platzgummer,² M. Tampoia,² M. Liguori,² N. Bizzaro,² D. Bassetti,² A. Antico,² E. Tonutti,² M. Pradella.²

¹ Immunologia Clinica e Virologia, Azienda ospedaliera "S. Maria degli Angeli", Pordenone

² Gruppo di Studio in Autoimmunologia (GdSAI) della Società Italiana di Medicina di Laboratorio.

Scopo dello studio. L'associazione tra celiachia e altre malattie autoimmuni, quali il diabete mellito insulino dipendente, le tireopatie autoimmuni, il morbo di Addison, l'anemia perniciosa e l'alopecia, è già stata ampiamente dimostrata. Per quanto riguarda l'associazione con l'epatite autoimmune (EAI), esiste in letteratura solo un lavoro che ha dimostrato un'elevata prevalenza di celiachia (4%) in pazienti affetti da EAI. Scopo del nostro studio è stato quello di verificare tali dati, tramite uno studio policentrico.

Materiali e metodi. 50 sieri di pazienti affetti da EAI, formulata secondo i criteri internazionali, raccolti consecutivamente in 9 diversi centri (42 EAI di tipo I; 8 EAI di tipo II; età media 51 aa; range 17-83 aa; ratio m/f = 1/3.5) sono stati testati per IgA anti-transglutaminasi (IgA-tTG) (Celikey, Pharmacia, Freiburg, Germania), IgG anti-transglutaminasi (IgG-tTG) (Recombinant Transglutaminase IgG, Pharmacia, Freiburg, Germania). Gli stessi dosaggi sono stati eseguiti in una popolazione di controllo, composta da 100 soggetti sani e 77 pazienti con infezione cronica da HCV. Il protocollo di studio prevedeva che i sieri positivi per IgA-tTG e/o IgG-tTG (> 5 U/ml) venissero testati per la presenza degli anticorpi anti-endomisio (EMA) di classe IgA e/o IgG. I pazienti positivi per entrambi i test dovevano essere successivamente sottoposti a biopsia per la diagnosi definitiva di celiachia. I pazienti positivi al solo dosaggio di IgA-tTG e/o di IgG-tTG sarebbero stati sottoposti a biopsia solo qualora portatori di aplotipo HLA compatibile per celiachia (DQ2, DQ8).

Risultati. 3 dei 50 pazienti affetti da EAI (6%) sono risultati positivi per IgA-tTG e nessuno per IgG-tTG. Tutti e 3 sono risultati positivi anche EMA-IgA positivi e la biopsia ha confermato la diagnosi di celiachia. Nessuno dei controlli è risultato positivo per IgA-tTG e solo un paziente affetto da HCV ha evidenziato una positività a basso titolo (6 U/ml) per IgG-tTG. Non essendo però HLA DQ2/DQ8 positivo, non è stato sottoposto a biopsia e il dato è stato considerato come falso positivo.

Discussione e conclusioni. La prevalenza stimata della celiachia nella popolazione generale è fra lo 0.5 e lo 0.8% e i dati del nostro studio indicano che nella EAI essa è da 7.5 a 12 volte più elevata. I pazienti con EAI, quindi, dovrebbero essere sempre indagati per la presenza degli anticorpi anti-tTG e, dopo conferma con test EMA o dopo verifica della presenza dell' HLA DQ2/DQ8, sottoposti a biopsia intestinale.

B-26

PROGETTO DI SCREENING PER LA CELIACHIA - RISULTATI PRELIMINARI

S. Vaccarella^a, N. Dodaro^b, V. Mancini^a, P. Rocca^a, E. Nicoletti^a, N. Elia^a, M. Candusso^b

^a Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Servizio di Virologia e Microbiologia, Ospedale della Annunziata - Azienda Ospedaliera di Cosenza

^b Dipartimento Materno-infantile, Unità Operativa di Pediatria, Ospedale dell' Annunziata - Azienda Ospedaliera di Cosenza

Scopo del lavoro: Da una analisi dei dati riguardanti i pazienti con celiachia nella provincia di Cosenza, si è riscontrato una notevole differenza della prevalenza di questa patologia rispetto ai dati riportati dalla letteratura (prevalenza = 1/100 - 1/200). Il numero di diagnosi è risultato notevolmente inferiore rispetto all'atteso. Abbiamo attribuito tale situazione ad una scarsa attenzione verso la celiachia in passato soprattutto negli adulti ma anche al non aver ricercato la celiachia nei pazienti paucisintomatici. Sappiamo, oggi, che non sempre i sintomi gastrointestinali rappresentano la modalità principale di presentazione della patologia. Scopo del nostro screening è trovare celiaci paucisintomatici su pazienti selezionati da una scheda d'ingresso al programma.

Materiali e metodi: Abbiamo predisposto una scheda di raccolta dati che prevede, oltre a dati anagrafici del paziente, 23 criteri clinico-anamnestici. Il riscontro, nel soggetto valutato, di almeno uno di questi criteri, permette l'inclusione allo screening. Su questi pazienti abbiamo eseguito, come test iniziali, il dosaggio delle IgA totali e delle IgA verso la Transglutaminasi.

Discussioni e conclusioni: Abbiamo analizzato 185 soggetti, di cui 104 di età inferiore ai 12 anni e 81 con età superiore, 85 maschi e 100 femmine. Abbiamo diagnosticato la Celiachia, in 12 soggetti, 5 con età inferiore a 12 anni e 7 superiore, 4 maschi e 8 femmine, con una prevalenza della malattia celiaca nel campione analizzato pari al 6.5%. Considerando che la prevalenza della malattia, nella popolazione generale è descritta essere dall' 0.5% all' 1%, questi dati preliminari sembrano dimostrare la validità dei criteri d'inclusione. Infatti hanno permesso di trovare 12 celiaci in un campione di 185 persone. Nella popolazione non selezionata, per ottenere gli stessi risultati (cioè trovare 12 celiaci), sarebbe stato necessario analizzare da 1200 a 2400 soggetti!

DIAGNOSTICA DELLE NEUROPATIE PERIFERICHE : RILIEVO DI IMMUNOGLOBULINE MONOCLONALI IgM E DI ANTICORPI ANTI-MIELINA

B-27

C.Bonaguri^a, R.Aloc^a, L.Battistelli^a, A.Russo^a, L.Craviotto^b, L.Marchesi^a, M.Ferrari^a, C.Monica^a

^aDipartimento di Diagnostica di Laboratorio, Lab Analisi Chimico Cliniche, Azienda Ospedaliera Parma;

^bDipartimento di Medicina 2, Servizio di Clinica e Terapia medica, Azienda Ospedaliera Parma

Scopo del lavoro. Neuropatie periferiche sono di frequente riscontro nei pazienti affetti da gammopatie monoclonali. La frequenza risulta più elevata nelle gammopatie monoclonali IgM definite "benigne" o di natura indeterminata. Recentemente è stato ipotizzato che in questi pazienti le IgM monoclonali esplichino una attività anticorpale verso alcuni costituenti del nervo periferico (epitopi glicosilati espressi su glicoproteine o su glicosfingolipidi)¹.

Scopo del lavoro è stato valutare l'espressione di anticorpi anti-Mielina in un gruppo di pazienti affetti da gammopatie monoclonali IgM "benigne" con sintomatologia neurologica di differente gravità.

Materiali e Metodi. Sono stati valutati in questo studio 17 pazienti affetti da gammopatie monoclonali "benigne" IgM e con polineuropatie a differente presentazione clinica (es. formicolio,tremore, ecc.) i cui sieri sono afferiti al Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche dell'Azienda Ospedaliera di Parma nel periodo Gennaio-Maggio 2003. Su tutti i campioni sierici è stata valutata l'espressione di anticorpi anti-Mielina (anti-MAG) ed è stata eseguita l'identificazione delle componenti monoclonali. La ricerca e la tipizzazione di anticorpi monoclonali IgM è stata eseguita mediante Immunofissazione su gel di agarosio (HYDRASYS SEBIA). La presenza di anticorpi anti-Mielina è stata valutata in Immunofluorescenza indiretta su sezioni di nervo periferico di primate (ALIFAX-IMMCO Diagnostics).

Risultati. La percentuale di positività per anticorpi anti-MAG nei pazienti da noi studiati è risultata del 41.1% (7/17) confermando i dati di letteratura circa l'attività autoimmune verso costituenti del nervo periferico di numerose IgM monoclonali "benigne"². I titoli di positività in fluorescenza sono risultati variabili (da 1:10 a 1:160) e non correlati in una analisi preliminare con la gravità della sintomatologia. La valutazione dei preparati in fluorescenza ha mostrato nei pazienti positivi una marcatura evidente delle guaine mieliche con elevata specificità per il tessuto nervoso.

Discussione e Conclusioni. L'associazione da noi osservata fra positività per componenti monoclonali IgM e presenza di anticorpi anti-MAG in pazienti con gammopatie monoclonali "benigne" supporta la tesi che l'attività anticorpale delle IgM monoclonali abbia un ruolo nella eziopatogenesi delle neuropatie spesso associate.

Bibliografia. 1) Quarles RH, Weiss MD. Autoantibodies associated with peripheral neuropathy. Muscle & Nerve 1999; 22:800-22. 2) Meucci M, Baldini L, Cappellari A. Anti-Myelin associated glycoprotein antibodies predict the development of neuropathy in asymptomatic patients with IgM monoclonal gammopathy. Ann Neurol 1999; 46:119-22.