

Riassunti delle Comunicazioni Poster e delle Comunicazioni Orali Selezionate

GRUPPO A:	Diagnostica ematologica	A-01 – A-17	144
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	A-18 – A-22	152
	Diagnostica della coagulazione	A-23 – A-28	155
GRUPPO B:	Diagnostica microbiologica	B-01 – B-11	158
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	B-12 – B-15	163
	Diagnostica del sistema nervoso centrale	B-16	165
	<i>Comunicazione Orale Selezionata</i>		
	Malattie genetiche	B-17	166
	<i>Comunicazione Orale Selezionata</i>	B-18	166
	Medicina molecolare	B-19	167
	Biologia molecolare	B-20 – B-23	167
	<i>Comunicazione Orale Selezionata</i>	B-24	169
GRUPPO C:	Automazione	C-01 – C-02	170
	Informatica – Telematica	C-03 – C-05	171
	Organizzazione – Gestione	C-06 – C-17	172
	Standardizzazione - Controllo di qualità	C-18 – C-20	178
	<i>Comunicazione Orale Selezionata</i>	C-21	180
	Qualità - Accredimento - Certificazione	C-22	180
	Malattie metaboliche	C-23 – C-31	181
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	C-32 – C-33	185
	Biochimica e patologia cellulare	C-34 – C-39	186
	Enzimi - Ormoni - Proteine - Lipidi - Lipoproteine	C-40 – C-52	189
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	C-53 – C-54	196
	Indicatori di lesione d'organo	C-55 – C-64	197
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	C-65 – C-67	202
	Indicatori di metabolismo osseo	C-68 – C-71	203

GRUPPO D:	Diagnostica immunologica	D-01 – D-28	205
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	<i>D-29 – D-33</i>	219
	Diagnostica allergologica	D-34 – D-39	222
	Diagnostica nelle infiammazioni	D-40 – D-42	225
	Valutazione metodi	D-43 – D-53	226
	<i>Comunicazioni Orali Selezionate</i>	<i>D-54 – D-55</i>	232
	Valutazione sistemi	D-56 – D-62	233
	<i>Comunicazione Orale Selezionata</i>	<i>D-63</i>	236

*Le Comunicazioni Orali Selezionate sono state segnalate all'Editorial Board di
 "La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio – Italian Journal of Laboratory Medicine"
 (RIMeL/IJLaM)*

BLASTIC NATURAL KILLER CELL LEUKAEMIA/LYMPHOMA: QUADRO MORFOLOGICO ED IMMUNOFENOTIPICO

A-01

S. Dazzi, D. Tava, L.G. Menghini, P. Vivaldi¹, S. Cerù¹, P. Caciagli

U.O. Patologia Clinica, Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari, Ospedale S. Chiara, Trento.

¹U.O. Medicina-Struttura semplice di Ematologia, Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari, Ospedale S. Chiara, Trento.

Scopo del lavoro: NK-cell leukaemia viene classificata nel gruppo “mature T-cell and NK-cell neoplasm” (classificazione WHO 2000/2008). Tuttavia vi è ancora la discussione se la trasformazione maligna derivi dalle cellule plasmocitoidi dendritiche (blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm). La rarità di questa patologia ci ha spinto a presentare questo caso sotto l’aspetto morfoimmunofenotipico.

Materiali e metodi: Paziente maschio di 74 anni ricoverato in dermatologia per dermatite (noduli eritematosi). E’ stato eseguito un emocromo con formula leucocitaria sullo strumento ADVIA 2120 della ditta Siemens e di fronte agli allarmi “blasti e LUC” è stato eseguito uno striscio periferico (colorazione May Grünwald- Giemsa). L’approfondimento diagnostico è stato condotto tramite l’analisi citofluorimetria a flusso (FACScalibur, ditta Becton Dickinson).

Risultati: L’esame strumentale dell’emocromo ha evidenziato anemia normocitica Hb 8,3 g/dl, globuli rossi $2.99 \times 10^6/\mu\text{l}$, piastrinopenia $48 \times 10^3/\mu\text{l}$, granulocitopenia $0.77 \times 10^3/\mu\text{l}$, globuli bianchi $5.6 \times 10^9/\mu\text{l}$, e gli allarmi morfologici LUC 13.8% e blasti 3. All’esame microscopico del sangue periferico si rileva la presenza di blasti e la seguente formula leucocitaria: neutrofili 9%, linfociti 88%, monociti 3%; commento: presenza di linfociti morfologicamente ad abito blastico, con alto rapporto nucleo citoplasmatico, di taglia medio-grande, nucleolati; tali elementi rappresentano circa il 30% della cellularità totale. Si è proceduto alla tipizzazione delle cellule blastiche con il commento: all’esame dell’immunofenotipo si evidenzia una popolazione di linfociti, pari a circa il 30% della cellularità totale, che si distingue dai restanti linfociti in base ai parametri fisici ed immunologici (bassa espressione del CD45). Essi appartengono alla linea NK (CD16/56+), sono positivi per CD4, CD7 e HLA-DR e negativi per CD8, CD5, CD3 e CD2.

Discussione e conclusioni: La biopsia della cute e i conseguenti esami, microscopia, istochimica e immunofenotipo su sospensione cellulare avevano suggerito all’anatomopatologo la diagnosi di neoplasia delle cellule plasmocitoidi dendritiche. Il riscontro successivo di elementi blastici NK nel sangue periferico ha indirizzato il clinico di trattare questo caso come una leucemia acuta.

PSEUDOPIASTRINOPENIA EDTA-DIPENDENTE: L’UTILIZZO DI ANTICOAGULANTI DIVERSI DALL’EDTA NON FORNISCE DATI ACCURATI NEL CONTEGGIO DELLE PIASTRINE

A-02

T. Michelutti, A. Mazzillis, F. Pesente, N. Bizzaro

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Tolmezzo (UD)

Obiettivo. La pseudotrombocitopenia (PTCP) è un fenomeno dovuto alla presenza di anticorpi anti-piastrine ad attività agglutinante che si verifica in campioni di sangue anticoagulati con EDTA. In questi casi il conteggio delle piastrine risulta artificialmente più basso del reale numero di piastrine in vivo. Scopo del presente studio è stato quello di verificare l’attendibilità di anticoagulanti alternativi all’EDTA nel conteggio delle piastrine in presenza di PTCP.

Metodi. Campioni di sangue sono stati raccolti da 4 soggetti sani con 3 diversi tipi di provette contenenti come anticoagulante EDTA (Becton-Dickinson), CPT (FAR srl) e un anticoagulante la cui formulazione è coperta da segreto industriale, prodotto da Sarsted (Milano) e commercializzato in provette specificamente designate al conteggio piastrinico in caso di PTCP. Dopo aver determinato su tutti i campioni il numero delle piastrine su contaglobuli automatico ADVIA 2120 (Siemens), 250 μl di sangue prelevati da ciascuna delle 3 provette per ognuno dei 4 soggetti sani, sono stati mescolati con 250 μl di siero ottenuto da 6 soggetti con PTCP. Dopo incubazione per un’ora a temperatura ambiente, i campioni sono stati analizzati sul contaglobuli automatico e gli strisci di sangue esaminati al microscopio ottico per la ricerca di agglutinati piastrinici. In un secondo studio, 3 campioni di sangue (uno per ciascun anticoagulante) sono stati prelevati a 20 donatori di sangue e processati sull’analizzatore ematologico per valutare la conta piastrinica.

Risultati. Tutti i campioni dei 4 soggetti sani in cui l’anticoagulante era costituito da EDTA hanno evidenziato la presenza di agglutinati piastrinici quando sono stati mescolati e incubati con il siero di soggetti PTCP positivi. Viceversa, il fenomeno di PTCP non si è verificato nei campioni con CPT o con anticoagulante Sarsted, ma in questi stessi campioni il numero delle piastrine non è risultato attendibile, essendosi registrata una significativa riduzione del loro numero con punte fino al 90% rispetto al valore basale. Anche nei campioni raccolti da 20 donatori di sangue, il conteggio piastrinico è risultato nettamente inferiore nel sangue raccolto in CPT (valore medio di sottostima rispetto all’EDTA -31%; range, 7-44%) e con l’anticoagulante Sarsted (-23%; range, 9-37%).

Conclusioni. L’utilizzo di CPT e dell’anticoagulante Sarsted, pur abolendo in tutti i casi la comparsa di agglutinati piastrinici, ha evidenziato un conteggio delle piastrine sottostimato rispetto a quello rilevato con l’EDTA. Per questi motivi, questi anticoagulanti non sono in grado di fornire un dato accurato nel conteggio piastrinico né in condizioni di routine né in presenza di PTCP da agglutinazione piastrinica.

OSTEOCALCIN AND FREE LIGHT CHAIN SERUM LEVELS IN AMYLOIDOSIS

A-03

P. Cardelli¹, A. Proietti¹, R. D'Urso¹, G. Ferranti¹, G. Salerno¹, M.T. Corsetti¹, S. Riccioni¹, A. Moscetti², F. Saltarelli², G. La Verde², G. Bruno³

¹Azienda Ospedaliera S. Andrea Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare - Università Sapienza di Roma; ²U.O.S Discrasie plasmacellulari, Azienda Ospedaliera S. Andrea; ³Medicina Interna, II Facoltà di Medicina e Chirurgia, Sapienza Università di Roma, Policlinico Sant'Andrea

Aim of the study. Primary amyloidosis (AL amyloidosis), a plasmacellular discrasia, is characterised by the deposition of light chains fibrils (FLC- κ or FLC- λ) that infiltrate tissues leading to multi systemic organ involvement. The study was focused to identify possible anomalies in the bone remodeling in relationship to the FLC levels in systemic or localized amyloidosis. Serum levels of FLC and osteocalcin (gamma-carboxyglutamic acid-containing protein-BGLAP) were detected. Osteocalcin is a non collagenous protein secreted by osteoblasts only and seems to play a crucial role in the bone's metabolic regulation of calcium (Ca²⁺) and phosphorus (P).

Methods. Blood samples were collected from 6 patients with systemic amyloidosis (GR1) and from 4 patients with localized amyloidosis (GR2). FLC- κ and FLC- λ (The Binding Site/Radim), osteocalcin (Elecys-Roche), calcium and phosphorus (Vitros Fusion 5.1, Ortho Clinic-Diagnostics, USA) were detected. Mann-Whitney test and non-parametric Spearman correlations were used to analyze results.

Results. GR1 had FLC- λ and osteocalcin serum values significantly ($p < 0.05$) higher than GR2 (Fig. 1). In systemic amyloidosis FLC- λ serum levels were significantly related ($r^2 = 0.943$; $p < 0.01$) to osteocalcin.

Conclusion. Bone normal homeostasis is the resulting of events able to keep skeletal integrity. Normally the process is controlled by teams of osteoclasts (which resorb bone) and osteoblasts (which lay down new bone in resorbed areas). The whole process is well balanced, or coupled. In systemic amyloidosis, the significant higher FLC- λ levels, could be related to an excessive neoplastic activation of the plasma cell clone. Moreover, the higher osteocalcin serum levels and the significant relation with FLC- λ serum values, is in favor of an activation of osteoblast's metabolism. In patient with systemic amyloidosis AL, osteocalcin and FLC- λ detection could be the markers of progression of the disease.

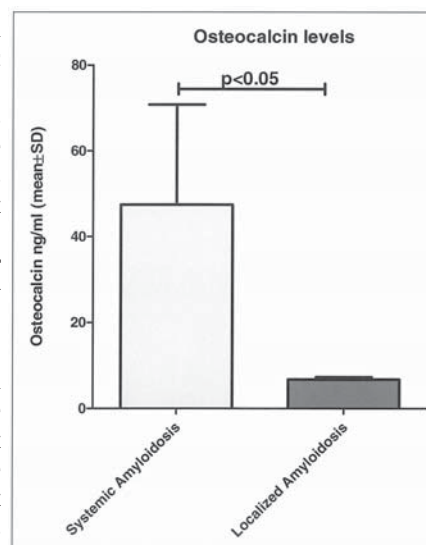


Fig.1 Osteocalcin serum levels in systemic and localized amyloidosis

SYSMEX XE 2100: INTERVALLI DI RIFERIMENTO DI RET-HE IN ETÀ PEDIATRICA

A-04

S. Buoro, A. Crippa, P. Dominoni, R. Gustinetti, C. Ottomano

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche AO "Ospedali Riuniti Bergamo"

Scopo del lavoro. L'esame emocitometrico corredato dal conteggio dei Reticolociti totali (RET) con indici maturativi (LFR, MFR, HFR, IFR) e dal contenuto medio di emoglobina dei RET (RET-He) concorre all'inquadramento e al monitoraggio dell'anemia. Per contestualizzare i risultati è necessario disporre dei relativi intervalli di riferimento (I.R.), che in letteratura risultano incompleti per l'età pediatrica. Questo studio si propone di valutare gli I.R. per i RET, le frazioni LFR, MFR, HFR e RET-He nella popolazione pediatrica Bergamasca.

Materiali e metodi. L'analizzatore SYSMEX XE2100 (Sysmex, Kobe, Japan) dotato di Software RET-Master, è utilizzato secondo le specifiche del Fornitore. 177 soggetti non consecutivi, di età compresa fra i 13 mesi e gli 80 anni suddivisi in 5 fasce d'età sono reclutati col criterio di selezione a priori per: assenza di malattie conclamate, valori di emocromo e formula, creatinina, AST, ALT, LDH, glucosio, PCR e Ferritina nella norma. I dati sono elaborati mediante il software Analyse-it vers.2.2; la significatività statistica è valutata con test di Kruskal-Wallis

Risultati. Nella popolazione pediatrica, in funzione delle classi di età, il valore mediano RET oscilla in valore assoluto (#) da 36.2 a 38.7x10³/mL, in percentuale (%) da 0.74 a 0.79; per le frazioni LFR da 93.9 a 96.4%, MFR da 3.5 a 5.9%, HFR da 0.0 a 0.2%, IFR da 3.6 a 6.0%. Analogamente il valore mediano di RET-He varia da 30.45 (IC 95% 29.90 a 31.30) a 31.6pg (IC 95% 30.90 a 32.30). Nella popolazione adulta, il valore mediano RET (#) è risultato 43.95x10³/mL, in percentuale (%) di 0.92, per le frazioni LFR 93.95%, MFR 5.55%, HFR 0.25%, IFR 6.05%. Il Valore mediano di RET-He è di 32.59pg (IC 95% 32.07 a 32.87).

Discussione e conclusione. I risultati concordano con i dati riportati in letteratura per gli I.R. relativi ai principali parametri emocitometrici nella popolazione pediatrica e adulta. L'aumento associato all'età per i conteggi RET (#) e (%), non è statisticamente significativo. Per le frazioni LFR, MFR, HFR e IFR non si osserva un trend costante; in particolare LFR aumenta fino a 73-120 mesi per poi diminuire, al contrario MFR e IFR. Per RET-He si osserva un trend in aumento al crescere dell'età con valore mediano significativamente più alto nell'adulto ($p < 0.05$) rispetto ai gruppi pediatrici. Concludendo I.R. e il valore mediano RET-He del bambino variano in funzione delle fasce di età e sono diversi dall'adulto. I dati necessitano di una più ampia conferma sul territorio italiano, ma fanno già supporre che le note modificazioni morfologiche dell'eritropoiesi associate all'età si riflettano bene nel parametro RET-He con una probabile maggiore emoglobinizzazione cellulare piuttosto che una aumentata produzione.

Bibliografia.

Garzia M et al. 2007 Lab. Hemat. 13-6-1.

LA RIGENERAZIONE MIDOLLARE DELLA LINEA B DOPO TRAPIANTO DI CELLULE EMPOIETICHE IN UNA CASISTICA PEDIATRICA

A-05

A. Falda¹, C. Capponi¹, S. Ottino¹, F. Capolunghi¹, M. Sinibaldi¹, R. Carsetti¹, M. Caniglia², R. Pinto², G. Palumbo², F. Locatelli², M. Muraca¹

¹Laboratorio Analisi; ²Dipartimento di Oncoematologia - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Scopo del lavoro: nel follow-up trapiantologico dopo l'iniziale valutazione della ripresa emopoietica su sangue periferico con la conta dei granulociti neutrofili e delle piastrine, è previsto il controllo a livello midollare che documenti l'assenza di malattia e la rigenerazione cellulare. Al fine di caratterizzare il ripopolamento del midollo nella sua componente leucocitaria nel nostro Ospedale è in corso uno studio citofluorimetrico di campioni di midollo osseo di bambini affetti da varie patologie oncoematologiche sottoposti a trapianto di cellule emopoietiche. In particolare il nostro interesse si è concentrato sullo studio dello sviluppo della linea B, poiché la ricostituzione dell'immunità umorale è tardiva e talvolta assente dopo trapianto. Questo fenomeno è stato attribuito al mancato engraftment dei linfociti B del donatore.

Materiali e metodi: da febbraio 2010 al giorno d'oggi sono stati studiati circa 120 campioni di midollo osseo. Nella nostra analisi citofluorimetrica sono previsti pannelli di immunostainings a 6 colori: vengono utilizzati marcatori per i B linfociti (pro-B, pre-B1, pre-B2, transizionali e mature) e le plasmacellule, per i T linfociti e le cellule NK e per le linee mieloide e monocitaria.

Risultati: nei midolli prelevati entro 6-8 settimane dal trapianto sono presenti gli stadi più immaturi della linea B, dai pro-B e pre-B alle cellule B immature e transizionali.

Discussione e conclusioni: i pazienti che sono stati sottoposti a trapianto di cellule emopoietiche hanno una aumentata incidenza di infezioni nel periodo di rigenerazione del tessuto emopoietico.

Poiché l'immunità umorale rimane compromessa per un periodo lungo, fino a due anni dal trapianto e talvolta per sempre, molti protocolli prevedono la somministrazione di una terapia sostitutiva con immunoglobuline. Sulla base del deficit umorale si è spesso discusso di un mancato attecchimento della linea B nel midollo. I nostri dati dimostrano invece che gli stadi precoci dello sviluppo dei linfociti B vengono rapidamente rigenerati fino alla produzione di cellule B immature e transizionali. Perciò l'engraftment della linea B avviene ed efficientemente procede attraverso gli stadi midollari. L'ostacolo allo sviluppo successivo sembra avvenire nella fase che porta le cellule B transizionali a svilupparsi in mature-naive e memory. Questo fenomeno avviene normalmente in periferia.

REGOLE DI VALIDAZIONE DELL'ESAME EMOCROMOCITOMETRICO PER L'INDIVIDUAZIONE DI PATOLOGIE ONCO-EMATOLOGICHE

A-06

A. Cappellani^{1,2}, B. Cremonesi¹, S. Acito², M. Casati², V. Perlangeli², L. Carati², G. Limonta¹, P. Brambilla¹

¹Servizio Universitario di Medicina di Laboratorio Ospedale di Desio, Desio (MB); ²Azienda ospedaliera San Gerardo di Monza (MB)

Scopo: grazie all'utilizzo di tecnologie strumentali sempre più evolute, dotate di sistemi di validazione informatici sofisticati l'interpretazione dell'esame emocromocitometrico può avvalersi di una serie di segnalazioni strumentali (flags) delle anomalie di conta e di morfologia. Sulla base di questi flags strumentali è stato costruito un filtro di regole di validazione in grado di selezionare i campioni patologici che richiedono un approfondimento diagnostico. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di definire delle regole di orientamento diagnostico per le patologie onco-ematologiche: leucemia linfatica cronica e linfomi leucemizzati (LLC), leucemia acuta (LA), Leucemia mieloide cronica (LMC), Trombocitemia essenziale idiopatica (TE), Policitemia vera (PV).

Materiali e metodi: sono stati valutati 69157 esami emocromocitometrici con o senza formula leucocitaria, eseguiti dai pazienti al momento del ricovero nel periodo compreso dal 1 gennaio 2005 al 31 Luglio del 2009. Le regole sono state implementate tenendo conto della casistica della popolazione afferente e dei dati presenti in letteratura. Mediante l'utilizzo del sistema informatico S.A.S 8.2 è stata valutata l'efficienza delle regole mediante il rapporto di verosimiglianza positivo (RV+) e negativo (RV-).

Risultati: i risultati ottenuti hanno evidenziato i seguenti valori di RV+: 470 per LMC, 232 per LLC, 117 per TE, 96 per LA, 32 per PV, mentre i valori di RV-: 0,04 per LA, 0,06 per LMC, 0,07 per LLC, 0,18 per TE e 0,24 per PV.

Conclusioni: i valori dei rapporti di verosimiglianza indicano che le regole usate sono adeguate sia per l'identificazione che per l'esclusione di LLC, LA e LMC, mentre per TE e PV risultano adeguati solo per l'identificazione.

Bibliografia:

BARNES P. W., MCFADDEN S. L., MACHINS. J., et al. The international Consensus Group for Hematology Review: Suggested Criteria for Action Following Automated CBC and WBC Differential Analysis. Laboratory Hematology, 11: 83-90 (2005).

IMPATTO SUL SETTORE DI EMATOLOGIA DELL'INTRODUZIONE DELL'ANALIZZATORE UNICEL DxH800

A-07

B. Casolari, C. Piccinini, B. Biasoli, L. Maggia¹

AOU di Trieste, ¹IL Milano

Scopo del lavoro: Valutazione dell'impatto organizzativo e qualitativo del nuovo analizzatore ematologico sull'operatività del Settore di Ematologia.

Materiali e metodi: Nel Settore di Ematologia sono presenti da alcuni mesi 3 analizzatori di ultima generazione DxH800. Tale strumentazione presenta nuove soluzioni che abbiamo valutato nell'attività di routine ed urgenza.

Risultati e conclusioni: Contenuto ingombro strumentale (m 4, 3) che sarà ulteriormente ridotto con l'introduzione, a breve, della soluzione modulare che connette tra loro più moduli analitici gestiti da unica interfaccia. Lo spazio guadagnato ci permetterà di aggiungere il modulo di striscio e colorazione integrabile in qualsiasi posizione della piattaforma. Ottimizzazione delle operazioni di revisione dei campioni (ripetizione, reflex test, invio alla OM) gestite in completa automazione sulla base di regole preimpostate dall'operatore. L'utilizzo di rack da 5 posti e la loro movimentazione bidirezionale rendono la gestione dei campioni veloce e precisa. A completamento della modularità i campioni verranno inviati al modulo in quel momento più libero accelerando ulteriormente l'esecuzione delle analisi. I campioni urgenti possono essere gestiti manualmente o automaticamente da posizione STAT dedicata, utilizzando la stessa linea fluidica della routine evitando l'allineamento tra le due modalità d'analisi. In caso di lettura di pochi eventi (citopenia o interferenza) i conteggi vengono estesi automaticamente riducendo il numero dei campioni inviati al rerun (dal 3% all'1%) e/o alla OM. La nuova tecnologia di lettura degli NRBC ha ridotto drasticamente il numero dei falsi positivi (dal 5% all'1%) e le conseguenti OM. La segnalazione di presenza di NRBC e la correzione automatica del numero dei WBC avvengono anche quando non è richiesta la formula leucocitaria. La nuova tecnologia Flow Cytometric Digital Morphology, che integra la lettura di 7 parametri (Volume, Opacità e 5 Scatter di luce laser) con la digitalizzazione ed analisi di tutte le informazioni derivanti dai singoli impulsi, migliora il riconoscimento delle popolazioni e sottopopolazioni cellulari riducendo il numero di falsi positivi. I grafici di distribuzione cellulare bi, tridimensionali e di superficie, per tutte le popolazioni cellulari, possono essere visti in infinite angolazioni e proiezioni nello spazio evidenziando in modo ottimale le singole popolazioni, che possono anche essere singolarmente sottratte, permettendo non solo la riduzione delle OM (dal 15% al 7%) ma anche evidenti correlazioni con diverse patologie (MDS, BCLL, Linfocitosi reattive, Linfomi). Un dato certo alla prima lettura, la ricchezza delle informazioni numeriche e grafiche, l'automazione delle operazioni di rerun e reflex testing, la riduzione dei falsi negativi e positivi hanno un impatto concreto sul TAT.

VALUTAZIONE PROGNOSTICA DELL'ERITROBLASTOSI IN PAZIENTI CRITICI

A-08

E. Fanni, P. Sitzia, L. Curreli, G. Meloni, M. Angius

Servizio di Medicina di Laboratorio AOB Cagliari

Scopo del lavoro: gli eritroblasti sono importanti indicatori di patologie e da recenti studi (Stachon A, et al. A laboratory-based risk score for medical intensive care patients. Clin Chem Lab Med. 2008;46 (6):855-62.) sono stati valutati come causa di incremento del rischio di morte in pazienti ricoverati nei reparti di terapia intensiva, poiché la loro concentrazione aumentava alcune settimane prima del decesso.

Materiali e metodi: casistica: su 157 pazienti il 33.10% proveniente dai reparti di degenza, 23.56% provenienti dai reparti critici, 43.41% falsi positivi. E' stato usato l'analizzatore ematologico ADVIA 2120, basato su misure di scatter, conduttività, densità nucleare e colorazione citochimica. La positività per gli eritroblasti è segnalata da un allarme legato alla presenza di eventi nella zona di transizione tra i linfociti e il rumore di fondo.

Risultati: sul totale dei campioni, il 16.57% è affetto da patologie cardiache, il 12.2% ha subito un intervento passando per la terapia intensiva e il 6.37% è deceduto.

Discussione e conclusioni: dal nostro studio non è stata trovata una correlazione tra l'aumento della concentrazione degli eritroblasti nel sangue periferico prima del decesso, concentrazione che nella fattispecie si è mantenuta nei valori del 15%. Questo è un lavoro preliminare che pone le basi nell'approfondimento delle modalità di intervento, in particolare nei casi in cui viene praticata l'ipotermia, in cui la temperatura corporea è abbassata a 28-32 gradi. Con la diminuzione della temperatura corporea diminuiscono le richieste metaboliche cellulari quindi si riduce il consumo di ossigeno, correlandolo con l'immissione in circolo degli eritroblasti.

IMPORTANZA DELLA CORRETTA INTERPRETAZIONE DEL REFERTO EMATOLOGICO IN DUE CASI PEDIATRICI: LE INFORMAZIONI DI UNICEL DXH 800

A-09

S. Scolozzi¹, G. Lobreglio¹, N. Di Gaetano², R. Rotondi²

¹Casa di Cura "Card. G. Panico", Tricase (LE), ²Instrumentation Laboratory, Milano

Scopo del lavoro. L'analisi dei campioni pediatrici e l'interpretazione dei dati necessita di particolare attenzione poiché dalle risposte cliniche dipendono decisioni terapeutiche. Spesso gli analizzatori ematologici non forniscono informazioni utili dall'analisi del campione. Si presentano due casi clinici pediatrici per i quali la risposta del laboratorio ha indotto un corretto percorso terapeutico. PZ1 è una neonata nata alla 28^a settimana da cesareo per grave iposviluppo. Alla nascita Apgar al 1° min=6 (VN=8). Ricoverata in terapia intensiva neonatale (UTIN) per grave ipossia. Intubata e sottoposta a antibiotici da CVC. In 11a giornata terapia con Targosid e Glazidim per PCR positiva e trasfusione di RBC concentrati. PZ2 è una bimba di 10 mesi presentatasi al PS con febbre, ingrossamento dei linfonodi laterocervicali, astenia e epatomegalia.

Materiali e metodi. Provette in K3EDTA analizzate con UniCel DXH800: conteggi CBC ottenuti con tecnologia AccuCount; formula leucocitaria, NRBC e RET ottenuti con Flow Cytometric Digital Morphology ovvero con determinazione simultanea di Volume, opacità (Complessità) e 5 scatter di luce laser (citomorfologia). Per ogni sottopopolazione si determinano i Cell Population Data (CPD - media e ds di ognuna delle 7 misure). Parametri ematologici in unità US.

Risultati. Il campione di PZ1 presenta leucocitosi (WBC=20.16), macrocitosi (MCV=104) e neutrofilia assoluta (NE#=16.02). Mentre l'analisi sugli altri analizzatori presenti in laboratorio è inefficace e povera di informazioni, UniCel DxH 800 presentava scatterplot con posizionamento e quantificazione corretta delle sottopopolazioni WBC. A microscopio si trova forte neutrofilia, target cells e attesa presenza di NRBC. I valori del CPD dei neutrofili (NEMV=150) e il dato positivo di PCR inducono sospetto di stato settico sulla base dei dati di letteratura*. L'analisi RET evidenzia reticolocitosi (RET%=4.63) e una popolazione separata da RBC e RET visualizzabile come singolo cluster. Il campione PZ2 è caratterizzato da leucocitosi, linfocitosi e monocitosi (WBC=15.2, LI#=8.88, MO#=2.02) e allarme di linfociti varianti. Scatterplot, CPD linfocitari e monocitari mostrano linfociti e monociti con complessità e volume aumentati. Al microscopio si notano linfociti (e monociti) con segni di attivazione ma non di clonalità. Queste informazioni hanno suggerito di investigare possibili cause virali confermate da infezione da CMV.

Discussione e conclusioni. I casi presentati testimoniano come un'attenta analisi dei campioni pediatrici in carattere di urgenza o di follow-up sia necessaria per indirizzare correttamente diagnosi e conseguente terapia.

*Raimondi et al., PIDJ 2010

STUDIO DEGLI EFFETTI DELLA TEMPERATURA DI CONSERVAZIONE SULLA STABILITÀ NEL TEMPO DI CAMPIONI EMATOLOGICI ANALIZZATI SU UNICEL DXH 800 CELLULAR ANALYSIS SYSTEM

A-10

C. Piccinini¹, B. Casolari¹, E. Celentano¹, E. Saccà¹, N. Di Gaetano², B. Biasioli¹

¹DAI di Medicina di Laboratorio AOU Trieste; ²Instrumentation Laboratory, Milano

Scopo del lavoro: verificare la stabilità nel tempo dei principali parametri ematologici forniti da Unicel DxH 800 su campioni conservati a differenti temperature

Materiali e metodi: 16 campioni di sangue di pazienti ambulatoriali prelevati in EDTAK3, con parametri entro i valori di riferimento ed assenza di flag e/o allarmi strumentali, sono stati analizzati in CBC/Diff, entro 30 minuti dal prelievo, con Coulter UniCel DxH800 (conteggi cellulari con tecnologia AccuCount ed analisi della formula leucocitaria e degli NRBC con Flow Cytometric Digital Morphology: volume, conduttività e 5 scatter di luce laser). Dopo la prima analisi ciascun campione è stato aliquotato e conservato a 20°C ed a 4°C ed analizzato, in duplicato, ad intervalli successivi di 2, 4, 6, 8, 10 e 24 ore. Analisi statistica con MedCalc.

Risultati: per ogni parametro sono state determinate, per le due temperature di conservazione, la media delle percentuali delle differenze massime nella serie (DM4 e DM20) e la significatività statistica tra le serie ($p < 0.05$). Risultati: WBC: DM4=4.75 DM20=2.07 $p=0.04$; RBC: DM4=-0.79 DM20=0.18 $p=ns$; PLT: DM4=4.00 DM20=1.93 $p=ns$; Hgb: DM4=-0.47 DM20=0.59 $p=ns$; MCV: DM4=0.37 DM20=2.55 $p=0.002$; MPV: DM4=5.58 DM20=2.65 $p=ns$; NE#: DM4=18.75 DM20=21.06 $p=ns$; MO#: DM4=21.67 DM20=33.93 $p=ns$; LI#: DM4=-28.97 DM20=-41.29 $p=ns$; EO#: DM4=42.83 DM20=48.62 $p=ns$; NRBC%: DM4=0.16 DM20=0.26 $p=0.03$ (differenza assoluta).

Discussione e conclusioni: i risultati ottenuti mostrano che i parametri dell'esame emocromocitometrico non risultano essere sensibilmente modificati nell'arco delle 24 h dalla temperatura di conservazione fatta eccezione per MCV che rimane stabile entro le 10 ore. Per i globuli bianchi la differenza statisticamente significativa tra le medie è clinicamente irrilevante essendo inferiore alla differenza critica. Anche per la formula leucocitaria le medie delle differenze nel tempo non sono statisticamente significative nell'arco delle 24 h. Tuttavia, in alcuni campioni, già dopo le 8 ore dal prelievo e ad entrambe le temperature di conservazione, le differenze nei conteggi sono superiori alle differenze critiche per tutte le sottopopolazioni tranne che per i granulociti neutrofili. Tale comportamento non è prevedibile a priori, dipendendo, probabilmente, dalla qualità del campione, ed è giustificata la raccomandazione di eseguire l'analisi delle sottopopolazioni leucocitarie entro quel tempo. Per gli NRBC la differenza statisticamente significativa tra le medie delle temperature non è clinicamente rilevante poiché nessun campione ha presentato un conteggio positivo per presenza di eritroblasti nelle diverse determinazioni sulle 24h.

LA GESTIONE DEI VALORI CRITICI EMATOLOGICI

A-11

M. Moretti, E. Delprete

Patologia Clinica Ospedale "S. Croce" Fano (PU) Z.T. 3 ASUR Marche

Scopo del lavoro: Gli esami di laboratorio hanno un ruolo fondamentale nel processo decisionale clinico garantendo in modo tempestivo informazioni insostituibili. Con frequenza variabile si possono riscontrare valori che indicano un pericolo imminente per la salute del paziente tali da richiedere una comunicazione tempestiva e un intervento medico immediato (valori critici). La corretta gestione dei valori critici, oltre gli aspetti etici e medico-legali, è un indicatore importante dell'efficacia del laboratorio per gli outcome clinici ed economici. Scopo del lavoro è stato quello di definire e implementare delle regole d'allarme per i valori critici ematologici, stabilire le conseguenti regole d'azione e valutare i risultati.

Materiali e Metodi: Abbiamo definito con l'équipe di laboratorio e i colleghi clinici 14 regole d'allarme di cui 6 per valori critici a carico della serie eritroide (emoglobina ed ematocrito), 3 per le piastrine e 5 per i leucociti (totali e neutrofili). Le regole, differenziate per tipologia di paziente (interno/esterno), sesso e dati storici sono state implementate sul middleware DMS® (Dasit Management System). Il sistema, rilevando un valore critico, allerta l'operatore attraverso un pop-up che pur garantendo l'attività strumentale blocca l'accesso al software richiedendo per essere disattivato una password personale con registrazione dell'azione intrapresa per la sua risoluzione. Il sistema, definito nel mese di aprile 2009, è operante dal mese di maggio 2009.

Risultati: In un anno di operatività ininterrotta (maggio 2009-2010) su 109388 emocromi sono stati rilevati 632 allarmi (0,6%). I più frequenti sono stati a carico delle serie rossa: emoglobina < 7gr/dl (55%), valori elevati di ematocrito (25%). Meno frequenti sono state le segnalazioni per leucocitosi (4%), leucopenia (6%), neutropenia (1%), piastrinopenia (6%) e piastrinosi (3%). Nella totalità dei casi è stata registrata e tracciata la presa visione dell'allarme e l'azione intrapresa (comunicazione al clinico o se non possibile al paziente) con dimostrazione nella maggior parte dei casi dell'intervento clinico conseguente (ricovero, invio al Pronto Soccorso, intervento trasfusionale, copertura antibiotica..).

Discussione e Conclusioni: L'esperienza maturata nell'implementazione e nell'operatività ci permette alcune considerazioni: la definizione e l'applicazione di regole d'allarme è stato motivo di crescita e confronto professionale; gli allarmi a carico di emoglobina, leucociti e piastrine si sono dimostrati particolarmente efficaci; gli allarmi per ematocrito elevato si sono dimostrati essere scarsamente presi in considerazione dal richiedente e saranno oggetto di revisione. Il sistema permette in modo semplice e tempestivo un' affidabile gestione dei valori critici con tracciabilità e standardizzazione delle azioni.

CYSTATIN C, β 2-MICROGLOBULIN AND ALKALINE PHOSPHATASE SERUM LEVELS IN AL AMYLOIDOSIS

A-12

P. Cardelli¹, G. Salerno¹, F. Tabacco¹, G. Ferranti¹, M. Falco¹, C. Della Costanza², M.T. Corsetti¹, F. Capogreco¹, A. Moschetti³, F. Saltarelli³, G. La Verde³, G. Bruno⁴

¹Azienda Ospedaliera S. Andrea Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare, Sapienza Università di Roma; ²B.I.O.S S.P.A Roma; ³U.O.S Discrasie plasmacellulari, Azienda Ospedaliera S. Andrea; ⁴Medicina Interna, II Facoltà di Medicina e Chirurgia, Sapienza Università di Roma, Policlinico Sant' Andrea

Aim of the study. AL amyloidosis is a plasmacellular discrasia characterized by the deposition of light chains fibrils that infiltrate tissues leading to multisystemic organ involvement. Amyloidosis can be systemic or localized disease. A study design was performed to evaluate the kidney involvement in systemic and localized amyloidosis by Cystatin C (Cys C), β 2-microglobulin (β 2-M), and alkaline phosphatase (ALP) serum detections. Cys C is a non glycosylated protein produced at a constant rate in all nucleated cells and seems to play a crucial role in the renal filtration. β 2-M is a protein filtered and partially reabsorbed by kidney. ALP is a group of enzymes found primarily the liver, bone, intestines, placenta, and in the proximal convoluted kidney tubules.

Methods. Blood samples were collected from 6 patients with systemic amyloidosis (GR1) and from 4 patients with localized amyloidosis (GR2). Cys C, β 2-M (Siemens BNII) and ALP (Vitros Fusion 5.1, Ortho Clinic-Diagnostics, USA) were detected. Results were analyzed by Mann-Whitney test.

Results. In GR1, Cys C serum values ($M \pm SD$: 2.27 ± 1.60 mg/L) were significantly ($p < 0.01$) higher than GR2 ($M \pm SD$: 0.68 ± 0.13 mg/L). Similarly β 2-M and ALP serum levels were significantly higher ($p < 0.05$) in systemic amyloidosis.

Conclusions. Glomerular filtration evaluation is essential to establish the normal kidney function. The increased serum levels of Cys C and β 2-M found in systemic amyloidosis are the expression of an excessive neoplastic activation of the plasma cell clones and the accumulation of amyloid on renal level. Moreover, the higher Cys C and β 2-M serum levels and the significant increase of serum ALP is in favor both of an renal impairment and a liver overload. In systemic AL amyloidosis, Cys C, β 2-M, and ALP could be the markers of renal injury and hepatic damage.

LEUKOCYTE DIFFERENTIAL FLAGGING BY CELL-DYN SAPPHIRE HAEMATOLOGY ANALYZER IN CARDIOPULMONARY INPATIENTS

A-13

A. Papa¹, G. Carulli², A. Azzarà², C. Bauleo¹, D. Battaglia¹, F. Cocci³

¹Fondazione G. Monasterio CNR-Regione Toscana, Pisa; ²Divisione di Ematologia, Dipartimento di Oncologia, dei trapianti, e delle nuove tecnologie in medicina, Università di Pisa, Pisa; ³Dipartimento Cardio Toracico e Vascolare, Università di Pisa, Pisa

Aim of the study: CDSapphire analyzers generate alarm flags with a confidence fraction (CF) when the presence of immature granulocytes (IG), blasts (BLAST), variant lymphocytes (VL) and erythroblasts (NRBC) is suspected. Aim of this study was to perform a retrospective study on an inpatient population in order to validate the transition from leukocyte automated flags to microscopic verification.

Methods: We analyzed the complete blood count results (CBC) from 195 flagged and not flagged blood samples from consecutive adult inpatients admitted to our institution for cardiac and/or pulmonary disease. Haemograms were generated by a CDSapphire analyzer (Abbott Diagnostics, Santa Clara, CA, USA). Peripheral blood smears were prepared for all the samples and submitted to microscopical review (reference method). IG counted manually included metamyelocytes (META), myelocytes (MYELO), and promyelocytes (PROMYELO). We used the international hematology consensus criteria review guidelines for the definition of positive smear findings (BLAST ≥ 1 ; META > 2 ; MYELO/PROMYELO ≥ 1 ; VL > 5 ; NRBC ≥ 1). Truth table analysis was used for calculating sensitivity, specificity, efficiency, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of laboratory decisional criteria: R1) IG flag with CF > 0.70 , IG $> 3\%$ and WBC $> 10.0 \times 10^9/L$ and/or neutrophils $> 7.2 \times 10^9/L$; R2) VL flag with CF ≥ 0.60 ; R3) BLAST flag with WBC $< 4.0 \times 10^9/L$ or CF > 0.75 and WBC $> 4.0 \times 10^9/L$; R4) presence of NRBC.

Results: We found 42 false positive cases: 26(62%) of them belonged to IG rule and 9(21%), 5(12%), 2(5%) to VL, BLAST and NRBC rules, respectively. Therefore the flagging specificity for IG rule was the lowest (85%) respect to the others (95%-99%). 23 inpatients out of 51 generating IG rule were on steroid therapy because of COPD exacerbation and/or acute inflammatory diseases. Two false negative cases were observed: the first one was a VL negative case (BLAST instead of VL flag) in a patient with hairy cell leukemia and the second one a NRBC negative case in a patient receiving granulocyte colony stimulating factors. Therefore both false negatives would have not missed because of additional flags. The PPV were low (the lowest value was of 17% for BLAST rule) while NPV were elevated for the individual rules (99-100%).

Conclusions: the adopted leukocyte decisional protocol may be safely applied to cardiopulmonary inpatient CBC even if the false positive rate of IG rule remains too high (13%) because of several comorbidities and medications of this population.

RIDEFINIZIONE DEI PROTOCOLLI DA PARTE DEL PERSONALE TECNICO PER LA GESTIONE PRATICA DEL CAMPIONE EMATOLOGICO A SEGUITO DI AGGIORNAMENTO TECNOLOGICO

A-14

E. Celentano, L. Visintin, G. Perossa, E. Saccà, M. Canaletti, L. Favaretto, B. Casolari

Dipartimento di Medicina di laboratorio AO/US Trieste

Scopo del lavoro. Valutazione dell'impatto dell'inserimento di una nuova strumentazione sui protocolli operativi nella gestione dei campioni ematologici con interferenze note.

Materiali e metodi. Nel secondo trimestre dell'anno, il nostro settore di Ematologia ha sostituito 3 Coulter LH 750 inserendo 3 nuovi analizzatori Coulter Unicel DxH 800 associati ad un software gestionale, Modulab (Instrumentation Laboratory), dedicato al settore. L'inserimento di una differente tecnologia d'analisi ha suggerito di riverificare i protocolli operativi per la gestione delle interferenze. L'analizzatore Coulter DxH 800 esegue i conteggi cellulari con tecnologia AccuCount, la formula leucocitaria, NRBC e RET con innovativa tecnologia Flow Cytometric Digital Morphology (FCDM) con estensione del numero degli eventi analizzati sia per il conteggio che per la determinazione di formula leucocitaria. A tal fine i campioni selezionati per agglutinazione eritrocitaria, lipemia ed iperbilirubinemia sono stati analizzati sulle due tecnologie presenti in laboratorio, in quanto il settore delle urgenze utilizza l'ultima versione della serie LH (LH 780).

Risultati. Una valutazione preliminare sui campioni della routine ha restituito i seguenti risultati: i campioni lipemici su DxH 800 non danno interferenza sulla lettura della formula anche a livelli molto elevati ($> 800 \text{ mg/dl}$). I campioni con crioagglutinine presentano una minore interferenza rispetto alla serie LH. L'unica interferenza ancora presente su DxH 800 è l'iperbilirubinemia però a livelli più elevati rispetto al passato (circa 18 mg/dl). Per quest'ultima interferenza viene applicato il protocollo esistente con ripetizione del campione a seguito di diluizione 1:3 con DxH Diluent: tale protocollo permette sempre di risolvere l'interferenza. Si registrano dei comportamenti non lineari sopra ai 18 mg/dl di bilirubina, con risoluzione alla prima lettura di campioni con 26 mg/dl e necessità di diluizione per campioni con valori uguali o superiori a 20 mg/dl .

Discussione e conclusioni. L'inserimento della nuova strumentazione Coulter DxH 800 ha apportato una sostanziale diminuzione degli interventi tecnici, che sono diventati sporadici, per presenza di iperbilirubinemia ($> 18 \text{ mg/dl}$), con risparmio di tempo uomo e riduzione dell'esposizione a rischio biologico.

UTILITA' PREDITTIVA DEL PARAMETRO IRF (IMMATURE RETICULOCYTE FRACTION) CON COULTER LH500 NEL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI

A-15

F. Palumbo, C. Ruscio, M.R. Angelitti, C. Armentano, M. Bertolini, I. Majolino

S. Camillo Forlanini, UO Ematologia-Roma

Scopo del lavoro: La disponibilità di indici capaci di segnalare precocemente l'attecchimento del midollo è un fattore importante per la buona riuscita dei trapianti di cellule staminali e permette di impostare un corretto follow-up e di adottare una terapia adeguata. Dati in letteratura¹ ci hanno suggerito di valutare l'utilità predittiva del parametro IRF, fornito da Coulter LH500 con l'analisi dei reticolociti, nella valutazione dell'attecchimento in questo tipo di trapianti.

Materiali e metodi: Per la valutazione abbiamo analizzato i risultati raccolti nei primi 15 giorni successivi al trapianto, di 4 pazienti oncoematologici sottoposti a trapianto di cellule staminali. L'analisi dei Reticolociti, in K3 EDTA, con Coulter LH500 prevede il trattamento del sangue intero, con colorante sopravvitalo Nuovo Blu di Metilene e chiarificato con soluzione ipotonica che sfericizza gli elementi cellulari. Il campione è analizzato con tecnologia VCS che tramite le misurazioni di Volume, Conduttività-grandezza/densità cellulare, Scatter di luce laser-granularità cellulare, analizza 32000 eventi, differenziandoli e quantificandoli in sottopopolazioni reticolocitarie in funzione del contenuto di RNA. Durante la valutazione l'analizzatore è stato controllato con Controllo di Qualità Interno a tre livelli e controllo Latron Primer e Control, secondo quanto previsto dal produttore.

Risultati: Nei nostri pazienti si è notato come il parametro IRF raggiunge il valore di 0,4 (cut-off riportato in letteratura) con un anticipo di qualche giorno rispetto al conteggio assoluto dei Neutrofili (ANC) di $0,5 \times 10^9/L$, attuale indicatore di riferimento. In particolare, osservando i risultati raccolti da uno dei pazienti valutati, si nota come già al decimo giorno di follow-up si registri un $IRF > 0,4$, anticipando di tre giorni il valore soglia di $ANC < 0,5 \times 10^9/L$.

Discussione e conclusioni: Il moderno laboratorio d'analisi deve essere in grado di assicurare un servizio efficiente alle strutture cliniche ospedaliere fornendo supporto a decisioni cliniche. È fondamentale disporre di analizzatori capaci di fornire informazioni predittive, come nei casi di trapianto di cellule staminali. In questo ambito la nostra esperienza ha confermato quanto già riportato in letteratura, ovvero l'utilità clinica del parametro IRF di Coulter LH500, quale indicatore precoce del buon esito del trapianto, affiancando e precedendo il convenzionale (ANC) di $0,5 \times 10^9/L$. Il parametro IRF, riflettendo l'attività eritropoietica, ha il vantaggio di non essere falsato in presenza di infezioni e/o dall'impiego di agenti immunosoppressori o mielostimolanti.

Bibliografia

1. Simon et al. ASH 1999, Blood, vol. 94 N.10, suppl.1 part 2 Nov.15, 1999.
2. Fesi F., SIE 2009, Hematologica 94, uppl. 4, 2009

IL PARAMETRO PIASTRINICO IPF% NELLA DIAGNOSTICA DELLE NEOPLASIE MIELOPROLIFERATIVE

A-16

D. Campioli, N. Muzzioli, A.M. Ottomano, F. Corcetti

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche. Azienda Ospedaliero-Universitaria. Policlinico di Modena

Scopo del lavoro. Il sistema ematologico TOA-Sysmex XE-2100 fornisce una serie di parametri piastrinici tra cui Immature Platelet Fraction (IPF %) che esprime la percentuale di piastrine immature e che può essere considerato un indicatore del turn-over trombocitopoietico. Riveste interesse in diversi ambiti clinici che vanno dalle piastrinopenie alle condizioni trombofiliche, al controllo di terapie antiplastriniche. Dopo averne valutato l'utilità clinica nell'inquadramento diagnostico delle piastrinosi abbiamo cercato di analizzare il suo comportamento nelle diverse neoplasie mieloproliferative che possono presentare piastrinosi.

Materiali e metodi. Abbiamo valutato 148 esami emocromocitometrici di pazienti con diagnosi di neoplasia mieloproliferativa che hanno presentato nel loro decorso conteggi piastrinici $> 450 \times 10^3/\mu L$, provenienti dai reparti del Policlinico di Modena, eseguiti sul sistema ematologico TOA-SYSMEX XE-2100, secondo le modalità standard del nostro laboratorio (provetta con K3EDTA, esaminate entro 4 ore dall'accettazione del campione).

Le patologie rappresentate erano: in 6 campioni Leucemia Mieloide Cronica (LMC), in 106 campioni Mielofibrosi Primaria (MP), in 15 campioni Trombocitemia Essenziale (TE) e in 21 campioni Policitemia Vera (PV).

Risultati. Il valore medio di IPF% nelle diverse patologie è risultato: 2.4 nelle LMC, 12.2 nelle MP, 4.5 nelle PV, 5.4 nelle TE.

Discussione e conclusioni. IPF% si dimostra un parametro molto utile nell'inquadramento diagnostico di una piastrinosi. Un risultato superiore a 8.5 permette di sospettare una piastrinosi primitiva con un elevato Valore Predittivo Positivo. Viceversa un basso valore di IPF% non permette di escludere una patologia mieloproliferativa in quanto il parametro mostra una variabilità verosimilmente legata a differenti espressioni della patologia come forma clinica o fase evolutiva, eventuale terapia in atto o altre condizioni al momento non conosciute. In particolare i valori più elevati li abbiamo riscontrati nella MP e, potendo osservare il monitoraggio di alcuni pazienti, abbiamo verificato che l'andamento del parametro IPF% non presenta una correlazione costante con il numero delle piastrine. In alcuni pazienti, infatti quando si assiste ad una riduzione, anche rilevante, del numero delle piastrine per effetto della terapia, IPF% non mostra modificazioni significative. Questa osservazione ci spinge ad ipotizzare un significato del parametro più legato alla patogenesi che alla espressione fenotipica della malattia.

UTILIZZO DEI RESEARCH POPULATION DATA FORNITI DAL DXH-800 BECKMAN-COULTER NELLA DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE MALATTIE LINFOPROLIFERATIVE CRONICHE

A-17

M. Fumi, T. Catalano, D. Martins, Y. Pancione, S. Sale, V. Rocco

AO "Rummo" Benevento Laboratorio di Patologia Clinica

La diagnosi delle CLL morfologicamente tipiche, CLL a cellularità mista, aCLL e NHL leucemizzati può essere dispendiosa in termini di tempo e economici. Pertanto numerosi studi sono orientati a migliorare il valore diagnostico dei risultati del CBC. Negli analizzatori della Beckman-Coulter il Volume cellulare è misurato mediante l'impedenza diretta, la Conduttività, come risultato della composizione cellulare mediante opacità in radiofrequenza ed il light Scatter come risultato della granularità citoplasmatica e della struttura del nucleo. Questi parametri forniscono indici addizionali, noti come Research Population Data (RPD). Sul nuovo emocitometro Beckman-Coulter DxH-800 vengono forniti Media e DS del Volume e della Conduttività dei Linfociti, mentre i parametri di Scatter sono forniti come Media e DS rispetto a vari angoli di lettura (MALS diffrazione della luce ad angolazione media, UMALS diffrazione medio-alta, LMALS diffrazione medio-bassa, LALS diffrazione bassa, AL2 corrispondente al FSC). Sulla scorta di studi precedenti riferenti una significatività della DS del Volume linfocitario nella diagnosi delle CLL, abbiamo esaminato campioni di 44 CLL morfologicamente tipiche, 23 di aCLL, CLL a cellularità mista e LNH leucemizzati riuniti in un unico gruppo, 15 Sindrome Mononucleosica, 30 linfocitosi "relative" non clonali con aumento % dei Grandi Linfociti Granulati e 50 di donatori sani come gruppo di controllo.

Scopo dello studio è stato la ricerca di algoritmi utilizzando gli RPD che consentano l'orientamento diagnostico tra campioni normali e patologici e fra le diverse patologie. Come atteso, i parametri Volumetrici Linfocitari (Media e DS) della CLL tipica differiscono in maniera significativa ($p < 0,0001$) rispetto ai parametri Volumetrici dei Controlli e delle altre Malattie Linfoproliferative. Inoltre, tutti gli altri parametri di Scatter (Media e DS) differiscono in maniera significativa ($p < 0,0001$, eccetto per la DS LALS-Li). Nel gruppo "linfoproliferative atipiche" i parametri con p da $< 0,0001$ a $0,0013$ rispetto ai Controlli sono quelli Volumetrici, di Conduttività e AL-2 (FSC). A differenza delle CLL tipiche, nelle linfoproliferative atipiche così come nella Mononucleosi, risulta significativa la DS LALS-Li ($p < 0,0001$), a testimoniare la dispersione morfologica delle popolazioni in queste ultime patologie. Nessuna variazione significativa è stata rilevata fra Volume, Conduttività e tutti gli angoli di Scatter fra linfocitosi non clonali e controlli.

I dati preliminari fanno pensare alla possibilità di costruire algoritmi diagnostici fra CLL tipica, Malattie Linfoproliferative Croniche Atipiche, Mononucleosi e Linfocitosi non Clonali.

INTERPRETAZIONE DEL CITOGRAMMA DELLA LEUCOCITOMETRIA DIFFERENZIALE (LD) E DEGLI ALLARMI MORFOLOGICI CORRELATI: CASE REPORT

A-18

A. Mileti, V. Brescia, M. Tampoia

Patologia Clinica I, Policlinico Bari

L'evoluzione tecnologica degli analizzatori ematologici ha determinato un miglioramento delle prestazioni (cadenza analitica, precisione, accuratezza) ed un'estensione del conteggio a nuove popolazioni cellulari (reticolociti, nrbc, granulociti immaturi, cellule staminali). Tuttavia la sensibilità clinica (capacità di distinguere i campioni normali da quelli patologici) e l'attendibilità degli allarmi (capacità di segnalare la presenza di cellule immature o atipiche) non sempre risultano idonei. Abbiamo valutato l'accuratezza diagnostica di un sistema ematologico in un caso clinico.

Materiali e Metodi. Paziente donna di 53 aa, diagnosi di Sindrome linfoproliferativa cronica (fenotipo B) (aprile 2010). L'emocromo è stato eseguito su analizzatore ADVIA 2120 (Siemens) (metodologia forward light scatter, citochimica selettiva e lisi selettiva) e su analizzatore CELL DYN SAPPHERE (Abbott) (multi angle polarized scatter separation) per confronto. L'esame microscopico (media di 2 conte in cieco su 200 cellule) è stato eseguito come metodo di riferimento per la LD.1

Risultati. L'emocromo eseguito alla diagnosi su ADVIA 2120 forniva i seguenti dati: wbc $11.66 \times 10^3/\mu\text{l}$, g.neutr. $9.19 \times 10^3/\mu\text{l}$, linfociti $1.87 \times 10^3/\mu\text{l}$, linf.atipici(luc) 2.4%, nrbc 68.6% (non confermata dall'analisi dei citogrammi). L'analisi su CELL DYN SAPPHERE forniva: wbc $21.4 \times 10^3/\mu\text{l}$, g.neutr. $9.61 \times 10^3/\mu\text{l}$, linfociti $11.4 \times 10^3/\mu\text{l}$, linf.atipici(varlym) 1.4%, nrbc 0.0%. Il metodo di riferimento microscopico per la LD evidenziava linfocitosi con piccoli linfociti ed assenza di nrbc. La valutazione dell'emocromo a distanza di 1 mese in assenza di terapia evidenziava su ADVIA 2120: wbc $28.70 \times 10^3/\mu\text{l}$, g.neutr. $8.63 \times 10^3/\mu\text{l}$, linfociti $18.70 \times 10^3/\mu\text{l}$, linf.atipici(luc) 2.90%, nrbc 0.0%; su CELLDYN SAPPHERE: wbc $30.40 \times 10^3/\mu\text{l}$, g.neutr. $7.94 \times 10^3/\mu\text{l}$, linfociti $20.26 \times 10^3/\mu\text{l}$, linf.atipici(varlym) 4.2%, nrbc 0.0%. Il metodo di riferimento microscopico per la LD confermava i dati forniti in automazione

Discussione. Il metodo per la individuazione degli nrbc su ADVIA 2120 è basato sulla dimensione (più piccoli dei linfociti), sulle caratteristiche citochimiche (Perox negativi) e sulla densità dei nuclei degli nrbc (più densi dei mononucleati). Ciò spiega l'anomalia della conta LD in campioni con leucemia linfatica cronica con numerosi linfociti di piccole dimensioni. Tale interferenza risulta incostante ed imprevedibile.

Conclusione. Il caso clinico presentato sottolinea l'importanza di una corretta interpretazione del citogramma della LD e degli allarmi morfologici correlati forniti dall'analizzatore su campioni patologici.

Bibliografia

1.CLSI/NCCLS: Reference Leukocyte (WBC) Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods; Approved Standard-Second Edition. H20-A2. ISBN 1-56238-628-X. ISSN 0273-3099; 2/29/2008.

PARAMETRI MAF E RSF NELLA VALUTAZIONE DELLO STATO MARZIALE DI PAZIENTI CON B-TALASSEMIA ETEROZIGOTE

A-19

P. De Luca, G. Randazzo Papa, M. Restuccia, O.C. Fogliani, S. Messina

U.O.C. Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero "G. Fogliani", Milazzo

Introduzione: La definizione di un eventuale stato carenziale di ferro è particolarmente importante nell'accertamento dei soggetti con stato di β -Talassemia eterozigote (vedi Decreto Assessorato Sanità Regione Sicilia del 12/08/97).

Scopo del lavoro: Valutare l'ambito di utilizzo dei parametri eritrocitari e reticolocitari MAF (Microcytic Anemia Factor) e RSF (Red Size Factor), forniti dallo strumento Coulter LH780, saggiandone l'efficienza diagnostica nella verifica di un eventuale stato di carenza marziale nei soggetti con β -Talassemia eterozigote.

Materiali e metodi: sono stati analizzati 112 pazienti con β -Talassemia eterozigote (parametri ematologici con Coulter LH780; parametri biochimici con Vitros Fusion Ortho Diagnostic, AxSYM Abbott, BNpro Siemens; HbA2 con HPLC D10 Biorad), suddividendoli in 2 gruppi: 56 soggetti con normale assetto marziale (β Tal) e 56 soggetti con deficit marziale (β TalDM); come criterio discriminante abbiamo utilizzato: % Saturazione Transferrina < 20% e Ferritina < 100 ngr/mL. Per l'elaborazione statistica dei dati ci siamo avvalsi del software MEDCALC.

Risultati: I parametri più significativi derivanti dal nostro studio sono stati i seguenti: β Tal media (SD); HbA2 5,22 (0,63); RBC 5,90 (0,60); Hb 12,58 (1,20); MCV 67,55 (3,49); MAF 8,51 (1,02); RSF 81,88 (4,82); % Saturazione Transferrina 29,67 (7,66); Ferritina 158,09 (93,32); β TalDM media (SD); HbA2 5,23 (0,75); RBC 5,42 (0,43); Hb 11,10 (0,95); MCV 64,86 (3,93); MAF 7,21 (0,89); RSF 78,70 (4,76) % Saturazione Transferrina 13,96 (4,69); Ferritina 50,25 (29,13).

Discussione e conclusioni: La differenza nei valori medi tra i 2 gruppi in oggetto per i parametri MAF ($p < 0,0001$) e RSF ($p = 0,0006$) suggerisce un loro utilizzo nella valutazione dello stato marziale dei soggetti con stato di β -Talassemia eterozigote. Le analisi delle curve ROC individuano la massima efficienza diagnostica per MAF ad un cut-off di 7,5 (sensibilità 71,4; specificità 89,3 e AUC 0,842), per RSF ad un cut-off di 78,82 (sensibilità 60,7; specificità 76,8 e AUC 0,691). In special modo il parametro MAF ad un valore soglia $\leq 6,8$ mostra una specificità del 100% nell'evidenziare una carenza marziale e ad un valore soglia $\geq 9,2$ una sensibilità del 100% nell'escluderla. Nella nostra U.O.C si sta valutando la possibilità di utilizzare questo parametro nel protocollo diagnostico della β -Talassemia eterozigote.

Bibliografia

- 1) Urrechaga (2008) Clinical utility of new beckman-coulter parameter red blood cell size factor in the study of β -Talassemia eterozigote.
- 2) Amato, Fusco e Alterini (2008) Nuovi parametri eritrocitari e reticolocitari nel monitoraggio della terapia con agenti stimolanti la eritropoiesi.

PERSISTENT POLYCLONAL B LYMPHOCYTOSIS AND DOUBLE MONOCLONAL B LYMPHOCYTOSIS: AN UNUSUAL DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

A-20

F. Bottan, F. Pauselli, R. Pica, E. Criscuolo

U.O.C. Medicina di Laboratorio A.O. S. Giovanni-Addolorata, Roma

Aim of the study. The main feature of a B chronic lymphoproliferative disease is the clonal expansion of B lymphocytes with just one type of surface light chain or with undetectable surface Igs. Quite rarely, an increased number of B lymphocytes expressing Kappa and Lambda chains in almost normal proportions is seen. This kind of polyclonality may be false or true. We present an example for each one of these two puzzling situations.

Methods. CASE 1. The patient was a 42 year old woman, heavy cigarette smoker, with a history of two-year lasting lymphocytosis. Lymphocyte populations were studied in peripheral blood using a 6-color FACSCANTO cytometer. The following Ags were tested for the assessment of B cells immunophenotype: CD45 CD19 CD5 CD10 CD11c CD20 CD22 CD23 CD25 CD31 CD38 CD43 CD79b CD103 FMC7 Kappa and Lambda light chains. CASE 2. The patient was an elderly man with an unexpected lymphocytosis. A sample of peripheral blood was studied with a 3-color FACSCALIBUR cytometer. The same Ags as above were tested, except for CD31 and CD79b.

Results. CASE 1. Total lymphocytes were 7291/uL. B lymphocytes were 4030/uL, with the following immunophenotype: CD45+ CD19+ CD20+ CD22+ CD79b+ CD11c+/- FMC7+/- Sig Kappa = 60% sIg Lambda = 40%. The expression of CD20 and CD22 was homogeneous and a diagnosis of persistent B polyclonal lymphocytosis was made. CASE 2. Total lymphocytes were 9000/uL. B lymphocytes were 6300/uL, approximately 60% sIg Kappa+ and the remaining 40% sIg Lambda+, simulating a B polyclonal lymphocytosis; but the partial expression of CD5 CD23 and CD43 and differences in the intensity of expression of CD20 and CD22 were suggestive for the presence of mixed B populations. Cross-matching the various Abs we were able to define two monoclonal population: 60% of B cells were CD45+ CD19+ CD5+ CD20+/- CD22+/- CD23+ CD43+ sIg Kappa+ FMC7- and the remaining 40% were CD45+ CD19+ CD5- CD20+ CD22+ CD23- CD43- sIg Lambda+ FMC7+. We concluded for a double B lymphoproliferative disease (CLL + NHL).

Conclusions. Persistent B polyclonal lymphocytosis is an extremely rare benign lymphoproliferative disorder firstly described by Gordon et al. in 1982. Most of the subjects are young or middle-aged women. Sometimes, the co-presence of two B lymphoproliferative diseases may mimic a polyclonal B lymphocytosis. In such cases, the eventual expression of abnormal markers by a part of the B cells, or differences in the intensity of expression of physiological B markers (first of all CD20 and CD22) are the most reliable clues to the identification of mixed clonal populations.

MORFOLOGIA MICROSCOPICA E CONTRIBUTO TECNOLOGICO NEGLI ALGORITMI DIAGNOSTICI DEDICATI ALLO STUDIO DEI LINFOMI T

A-21

A.M. Cenci, M. Blasi, A. Coco, R. Rizkallah, F. Zambelli

Corelab, Dip.Pat.Clin., NOCSAE-AUSL Modena

Introduzione. I linfociti presenti nel sangue periferico, differenti per funzione e appartenenti a tre principali e diversi gruppi fenotipici sulla base dell'espressione di antigeni di membrana linfocitari specifici (B, T, NK), non sono facilmente riconoscibili per le sole caratteristiche morfologiche, e, quindi, la loro sottoclassificazione deve necessariamente utilizzare il supporto delle moderne tecnologie automatizzate sia in condizioni fisiologiche che patologiche. Queste offrono la quantificazione e sottoclassificazione delle popolazioni cellulari e una serie di dati e allarmi strumentali specificamente correlati alla morfologia degli elementi.

Scopo del lavoro. Viene illustrato un approccio che, attraverso informazioni strumentali opportunamente utilizzate, imposta algoritmi diagnostici e flow-chart di validazione nello studio e nell'identificazione di patologie linfocitarie in genere complesse, quali le neoplasie di origine T. Queste patologie, non frequenti, presentano alcune peculiarità cliniche e morfologiche, e costituiscono un buon terreno di prova per la valutazione della performance strumentale in campo linfoide.

Materiali e metodi. 19 campioni per emocromo in K3EDTA, noti per presenza di anomalie e patologie neoplastiche dei linfociti T (7 LLC, 1 PLC, 1 LLA, 2 Sezary, 6 LnH, 2 LnH leucemizzati) sono stati analizzati su Coulter LH 780 e UniCel DxH800. La tecnologia Beckman-Coulter analizza le cellule per volume (V), e complessità con radiofrequenza e scatter di luce laser che, in UniCel DxH800 è raccolto da 5 angoli diversi. Per ciascuna misura sono forniti i Cell Population Data (CPD), parametri quantitativi per media e deviazione standard di ciascuna popolazione. I dati numerici e le informazioni degli scatterplot sono stati raccolti e confrontati con le informazioni microscopiche.

Risultati e conclusioni. Nei casi esaminati sono correttamente rilevate le notizie di contesto (anemia e piastrinopenia). In tutti i campioni studiati i CPD e le immagini degli scatterplot multidimensionali forniscono informazioni indicative di anomalie morfologiche linfocitarie. Anche in assenza di linfocitosi, gli allarmi sono specificamente legati a cellule atipiche documentate al microscopio; questo dato è da considerare nella scelta degli algoritmi di revisione dei campioni (cut off dei linfociti: < 4000?). A documentazione dei risultati, vengono riportati 4 casi: 1 LnH-T; 1 LLA-T; 1 S. di Sezary; 1 PLC-T. Nell'utilizzo routinario di questi sistemi, il passo successivo nell'algoritmo diagnostico prevede la conferma e/o la tipizzazione mediante immunofenotipo, attivato, in questo modo, secondo un percorso sequenziale basato sulle evidenze morfologiche e sui suggerimenti strumentali di prima battuta.

SYSMEX XE-5000: VALUTAZIONE DEL DEFICIT DI FERRO IN EMODIALISI

A-22

M. Carta, D. Giavarina, M. Busato

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

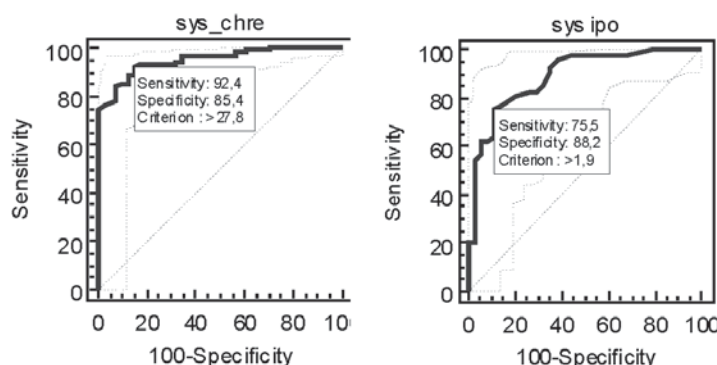
Scopo del lavoro. Il deficit di ferro limita l'efficacia della terapia con eritropoietina nei pazienti sottoposti a emodialisi. Le principali linee guida (European Best Practise Guideline e US kidney Disease Outcomes Quality Iniziative) inseriscono alcuni parametri eritrocitari (globuli rossi ipocromici HYPO%) e reticolocitari (contenuto emoglobinico medio CHret) come markers per identificare il deficit di ferro. Tuttavia tali parametri sono disponibili al momento solo sugli analizzatori ADVIA 120 e 2120 (Siemens Diagnostic Solution, Tarrytown, NY) e questo ne limita la disponibilità.

Recentemente sysmex XE 5000 (Sysmex, Kobe; Japan) ha proposto due parametri equivalenti (Ret-He e HypoHe). Scopo dello studio è stato il confronto tra i parametri di riferimento e quelli proposti da Sysmex.

Materiali e metodi. Sono stati studiati 228 pazienti in dialisi per la determinazione dei parametri reticolocitari e 91 per i parametri eritrocitari. Il campione è stato prima analizzato su Sysmex XE 5000 e a distanza di qualche ora su ADVIA 120. Sono state costruite le curve ROC per entrambi i parametri utilizzando come criterio diagnostico rispettivamente CHret > 29 pg e HYPO % > 10% da linea guida.

Risultati. L'area sotto la Curva ROC (AUC) è risultati di 0,952 per Ret-He (CI tra 0,916 e 0,976) con miglior discriminatore 27,8 pg. AUC di 0,890 (CI tra 0,805 to 0,947) per HypoHe con miglior cut off 1,9%.

Conclusioni. Il parametro reticolocitario proposto da Sysmex dà informazioni equivalenti al rispettivo parametro Siemens. Buona, anche se lievemente inferiore, la comparabilità per i globuli rossi ipocromici, probabilmente dovuta al noto problema legato al trasporto e alla conservazione del campione. Tale "fragilità" preanalitica è forse il motivo per cui alcune linee guida non prevedono l'uso di questo parametro.



METOTRESSATO ED IPEROMOCISTEINEMIA**A-23****L. Bettoni¹, L. Manisco¹, B. Milanesi²**¹SIMT A.O. Desenzano del Garda (BS); ²Dip. Medicina di Laboratorio A.O. Desenzano del Garda (BS)

Scopo dello studio: Già nel 1991, Clarke et al. pubblicarono su “The New England Journal of Medicine” un articolo in cui affermavano che l’iperomocisteinemia era un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di patologie cardiache e vascolari. Livelli elevati di omocisteina possono essere generati da alterazioni genetiche, prevalentemente a carico dell’enzima metilene-tetraidrofolato-reduttasi (MTHFR), e/o da deficit di folati e vitamine del gruppo B (B6 e B12). L’artrite reumatoide è una poliartrite infiammatoria cronica; il farmaco di fondo di riferimento è il metotressato, un antagonista competitivo dell’acido folico. Si descrive un caso.

Metodi: T.A. è una paziente di 58 anni, affetta da artrite reumatoide. Anamnesticamente si segnala lieve ipertensione arteriosa ben controllata da ACE-inibitore. Non evidenza di pregressi eventi cardio-vascolari o fattori di rischio.

Risultati: La paziente fu trattata inizialmente con Idrossiclorochina, corticosteroidi con scarso beneficio. Fu poi tentato approccio terapeutico d’associazione con metotressato ma un brusco aumento degli enzimi epatici ne impose una rapida sospensione. Venne potenziato il dosaggio di corticosteroidi. Trasferitasi in altra città, nel 2009, venne nuovamente inserito metotressato. Non si segnalavano incrementi delle transaminasi e quindi la paziente ne assunse regolarmente 12,5 mg/settimana, secondo prescrizione specialistica. Dopo circa 6 mesi di terapia, la paziente presentò una tromboflebite acuta all’arto inferiore sinistro. Ricoverata, venne sottoposta a terapia anticoagulante previo screening trombofilico. Furono rilevati valori di omocisteina pari a 75 mmol/L, ridotti livelli di folina (1,1 ng/ml), normali livelli di vitamina B12 e, successivamente riscontro di mutazione C677T nel gene MTHFR. L’assetto lipidico era ai limiti superiori di normalità. L’evento si risolse senza esiti.

Conclusioni: La terapia con metotressato nell’artrite reumatoide porta ad una marcata riduzione dei valori di folati e ad un incremento dei valori di omocisteinemia. Tale alterazione sierologica determina attivazione dei trombociti, ossidazione delle LDL e stimola la proliferazione delle cellule muscolari lisce vasali con conseguente elevato rischio trombotico. La mutazione del gene MTHFR rappresenta un fattore di rischio aggiuntivo. Nel caso descritto, quindi, una banale integrazione di acido folico avrebbe potuto prevenire l’evento tromboembolico. Non solo, ma una valutazione anche dei fattori di rischio cardiovascolari e dell’assetto emocoagulativo sarebbero auspicabili in tutti i pazienti prima che vengano sottoposti a terapie con metotressato. Tali semplici accorgimenti potrebbero, in ultima analisi, scongiurare gravi rischi per i pazienti, quoad vitam e quoad valitudinem.

DISFIBRINOGENEMIA CONGENITA ASSOCIATA A DEFICIT DEL FVII**A-24****S. Valverde¹, S. Rampinelli², E. Traubio¹, F. Antico¹, L. Penzo¹, G. Gessoni¹**¹Medicina di Laboratorio Chioggia; ²Psichiatria Chioggia

Introduzione: Le disfibrinogenemie ereditarie sono delle condizioni piuttosto rare in cui viene sintetizzato un fibrinogeno disfunzionale. La trasmissione è solitamente autosomica dominante e la sintomatologia può essere assai varia dalla sindrome emorragica alla diatesi trombofilica. Il deficit di FVII è anche esso infrequente, solitamente trasmesso per via autosomica recessiva, si associa a sintomatologia emorragica.

Caso Clinico: RS donna di anni 29, si presentava per eseguire degli esami pre-operatori. Riferiva madre, con deficit di FVII, deceduta per emorragia a seguito di trauma stradale. Gli accertamenti eseguiti evidenziavano un modesto deficit di FVII, allungamento del PT e del TT, con PTT e Antitrombina (AT) normali, marcata riduzione del Fibrinogeno valutato sec. Clauss mentre la valutazione dell’antigene era nella norma, il tempo di Reptilase era assai allungato (vedi tabella). Si concludeva quindi che la paziente fosse portatrice di una doppia eterozigosi: deficit di FVII e Disfibrinogenemia. Indagini eseguite nei collaterali mettevano in evidenza la disfibrinogenemia nel padre.

Discussione: Il caso riportato presenta motivi di interesse per la rarità della doppia associazione deficit di FVII in eterozigosi con la disfibrinogenemia.

Tabella I: Studio dei parametri coagulativi osservati nel caso presentato

Parametro	Risultato	VN	Parametro	Risultato	VN
PT	47%	12.5-15.0 sec	FV	75%	80-120%
PTT	31 sec	25-37 sec	FVII	60%	80-120%
TT	37 sec	12-19 sec	FVIII	170%	80-120%
AT	87%	80-120%	FIX	95%	80-120%
D-Dimero	17 mcg/L	< 250 mcg/L	FXII	108%	80-120%
Fibr. Clauss	0,51 g/L	2,0-4,5 g/L	VWF antigene	135%	80-120%
Fibr. Antigene	3,4	1,5-4,5 g/L	T. Reptilase	> 300 sec.	< 20 sec

DOSAGGIO QUANTITATIVO DEL D-DIMERO SU METER PLUS BIOSITE: SANGUE INTERO O PLASMA CITRATATO?

A-25

C. Lapadula, R. Beneventi, G. Mazzitelli

U.O.S. Laboratorio di Urgenza A.O. San Carlo Potenza

Scopo del lavoro: dosare il D-Dimero sia su plasma citratato che su intero plasma EDTA K3, per stimare la correlazione tra i dati ottenuti, e valutare la possibilità di utilizzare indifferentemente i due tipi di anticoagulanti in regime di urgenza.

Materiali e Metodi: Sono stati analizzati 80 campioni, raccolti in contemporanea, sia in citrato trisodico (9NC 0,129M) che in K3EDTA. La determinazione quantitativa è stata effettuata con immunodosaggio a fluorescenza sul TRIAGE Plus BIOSITE®. I valori di riferimento del laboratorio d'urgenza dell'A.O. San Carlo di Potenza, calcolati in individui apparentemente sani, sono compresi tra 0-600 ng/ml.

Risultati: Degli 80 campioni analizzati, 2 (2,5%) sono risultati negativi su entrambi i tipi di campione e 78 (97,5%) positivi. Dei soggetti positivi in 42 (52,5%), i valori di D-D sono risultati in valore numerico quasi sovrapponibili, in 22 campioni (27,5%), sempre nell'ambito della positività, il valore del D-D è risultato più elevato nel dosaggio su plasma citratato ed in 16 campioni (20%), i valori più elevati, invece, si sono riscontrati nell'analisi effettuata su sangue intero.

Discussione e Conclusioni: Il dosaggio del D-dimero, rappresenta in regime di urgenza, un utile e rapido metodo non invasivo, il cui principale campo di applicazione è rappresentato dalla esclusione di eventi trombotici (TVP ed EP). La sensibilità rappresenta un parametro fondamentale, in quanto, risultati falsi negativi possono essere causa di serie conseguenze per la salute del paziente e per l'impostazione della terapia. Dai risultati ottenuti, si evince che, sebbene la ditta BIOSITE® consigli di effettuare il dosaggio su sangue/plasma in EDTA, tuttavia, il nostro studio, ha dimostrato l'assoluta sovrapponibilità e concordanza dei dati nell'ambito della positività-negatività, utilizzando campioni in citrato di sodio, sebbene si sia evidenziata una discordanza, non significativa, dei valori numerici non significativa, ai fini diagnostici, a seconda dell'anticoagulante usato. Si ritiene pertanto, che il citrato di sodio possa essere agevolmente impiegato nel dosaggio del D-Dimero in regime d'urgenza, utilizzando la "consueta" provetta degli esami di coagulazione.

IPEROMOCISTEINEMIA LIEVE IN SOGGETTI CON INFARTO MIOCARDICO ACUTO

A-26

G. Antonucci, S. Antonaci, E. Criscuolo

UOC Medicina di Laboratorio – Azienda Ospedaliera San Giovanni- Addolorata, Roma

Scopo dello studio: valutare se in soggetti affetti da IMA i livelli di omocisteina possano svolgere un ruolo causale nel predisporre alla malattia rispetto ad un gruppo di controllo rappresentato da soggetti non affetti

Materiali e metodi: lo studio è stato effettuato su 300 soggetti ricoverati per IMA in ambiente ospedaliero di età compresa tra i 28 e gli 82 anni, con età media 60 anni con rapporto uomo/donna pari a 2/1 e su 300 soggetti apparentemente sani, omogenei per età e sesso. Il dosaggio dell'omocisteina è stato effettuato su sangue citratato con test immunologico HemosIL –Homocysteine su strumento IL ACL TOP. Oltre al dosaggio dell'omocisteina in entrambi i gruppi sono stati valutati colesterolo totale, HDL e LDL.

Risultati: nei soggetti affetti i livelli di omocisteina rilevati sono stati compresi nel range 6-40 micromol/L, nel gruppo di controllo tra 4 e 38 micromol/L. La differenza tra i due gruppi non risulta essere statisticamente significativa. Nel gruppo dei soggetti affetti i livelli di colesterolo totale (270 ± 110 mg/dL) e di LDL (210 ± 30 mg/dl) sono risultati significativamente più elevati che nel gruppo di controllo (175 ± 80 mg/dL e 120 ± 25 mg/dL rispettivamente)

Discussione e risultati: sono stati pubblicati negli ultimi anni numerosi studi con conclusioni contrastanti relativamente al ruolo svolto dall'iperomocisteinemia lieve nel determinare una malattia coronarica acuta. Dai risultati ottenuti in questo studio non viene confermato il ruolo della sola iperomocisteinemia lieve come causa di IMA, ma la sua associazione con altri marcatori di rischio cardiovascolare, quali colesterolo totale e LDL sembra concorrere all'insorgenza della patologia coronarica.

Bibliografia

Al-Obaidi MK, Stubbs PJ, Collinson P, Conroy R, Graham I, Noble M. Elevated homocysteine levels are associated with increased ischemic myocardial injury in acute coronary syndromes. J Am Coll Card 2000;36:1217-1222

Kaul S, Zadeh AA, Shah KP Homocysteine Hypothesis for Atherothrombotic Cardiovascular Disease: Not Validated. J Am Coll Card 2006;48:914-923

ANALISI DEL PATTERN DI REATTIVITA' PER ANTICORPI ANTI FOSFOLIPIDI IN PAZIENTI CON TROMBOSI VENOSA IN CHIOGGIA

A-27

G. Gessoni, S. Valverde, E. Trabuio, L. Penzo, F. Antico

Servizio Medicina di Laboratorio Chioggia

Introduzione: La presenza di auto anticorpi anti fosfolipidi è associata a diatesi trombofilica e pluriabortività. Riportiamo il pattern di positività osservato in pazienti con pregressa trombosi venosa.

Materiali e Metodi: Sono stati considerati 292 pazienti con pregressa trombosi venosa in cui abbiamo ricercato: lupus anticoagulant (LA), anti Cardiolipina (CL) IgG e IgM, anti Protrombina (PR) IgG e IgM, anti B2GP1.

Risultati: Nella casistica esaminata 62 soggetti (21,2%) presentavano positività per gli anticorpi anti-fosfolipidi: 50 pazienti (17,1%) risultavano positivi a due metodi utilizzati per la ricerca del LA; 14 soggetti (4,8%) presentavano anti CL IgG, e 11 (3,8%) presentavano anti CL IgM; 17 pazienti (5,8%) presentavano anti B2GP1 IgG, e 11 (3,8%) presentavano anti B2GP1 IgM; 10 soggetti (3,4%) presentavano anti-PR IgG mentre nessuno risultava positivo per le IgM.

Conclusioni: Una positività per almeno un test per la ricerca degli auto anticorpi anti fosfolipidi è stata ritrovata in 62 pazienti (21,2%) con presenza, spesso, di reattività multiple. La prevalenza di pazienti con APA osservata nella nostra casistica appare lievemente maggiore di quanto riportato in letteratura.

Tabella I: Pattern di reattività per gli anticorpi anti fosfolipidi

Auto Anticorpo	Numero Positivi	Prevalenza Positivi
Ricerca Anticoagulante Lupico	50	17.1
Anti Cardiolipina IgG	14	4.8
Anti Cardiolipina IgM	11	2.8
Anti Protrombina IgG	10	3.4
Anti Protrombina IgM	0	0
Anti B2GP1 IgG	17	5.8
Anti B2GP1 IgM	10	3.4

UTILIZZO DEL PFA-100 SIEMENS NELLA INDIVIDUAZIONE IN FASE PRE-OPERATORIA DEI PAZIENTI A RISCHIO EMORRAGICO

A-28

Y. Pancione, T. Catalano, M. De Vita, M. Fumi, D. Martins, S. Sale, V. Rocco

AO "Rummo" Benevento Laboratorio di Patologia Clinica

La fase anamnestica prechirurgica può essere insufficiente a individuare pazienti con anamnesi emorragica o in terapia antiaggregante per dimenticanza o perché inconsapevoli. Lo screening di laboratorio prechirurgico non prevede la valutazione della funzionalità piastrinica. Una serie di studi, ha dimostrato che la ridotta aggregabilità piastrinica congenita o acquisita può provocare sanguinamento peri- e post-operatorio con necessità di trasfusioni. Partendo da questa premessa, abbiamo analizzato su sangue intero citratato (3,8%), 530 pazienti non selezionati, tra i 18 e gli 89 anni, in regime preoperatorio con PFA-100 (Siemens), un POCT in cui l'adesione e l'aggregazione piastrinica sono riprodotte in vitro ed espresse come Clousure Time (CT) di un forame posto all'estremità di un capillare. Per questa valutazione vengono utilizzate 2 cartucce di misura: Collagene/Epinefrina e Collagene/ADP.

Il test ha evidenziato 130 (24,5%) pazienti, con un CT coll/epi allungato (v.n. 84-160 sec). Pertanto essi sono stati valutati utilizzando anche la cartuccia coll/ADP. Questo test ha evidenziato che, in 70 pazienti (13.2% del totale), il CT era allungato (v.n. 68-121 sec.). Tra essi, 30 (5,6%) non erano valutabili avendo piastrine <150.000/mm³ e/o Ht <35%. Per gli altri 40 (7,54% del totale), era ipotizzabile l'esistenza di forme più o meno gravi di disfunzione piastrinica o di VWD.

Invece 60 (11.3%) dei pazienti con coll/epi allungato, avevano un CT coll/ADP normale e considerando che essi non presentavano piastrinopenia, né riduzione del Ht, si poteva ipotizzare l'assunzione di aspirina o la presenza di forme intermedie di VWD o di disfunzionalità piastrinica. La consultazione delle cartelle cliniche dei 130 pazienti con CT allungato ha permesso di evidenziare che tra i 60 pazienti con Coll/epi allungato e coll/ADP normale, 58 (97%) avevano riportato l'assunzione di farmaci antiaggreganti, mentre 2 (3%) non l'avevano dichiarata. Una più approfondita anamnesi ha fatto rilevare l'uso di aspirina anche in questi ultimi 2. Si sono poi valutati anche i 20 pazienti con CT coll/epi e CT coll/ADP allungati e si è verificato che tra essi, solo 5 (1.88%) avevano una storia emorragica positiva, mentre, per gli altri 15 (5.6%) l'anamnesi era negativa.

Non prevedendo lo screening prechirurgico una valutazione della funzionalità piastrinica la loro anomalia sarebbe stata misconosciuta e non si sarebbe potuto ricorrere ad uno studio più approfondito della funzionalità piastrinica e ad un eventuale trattamento per ridurre il rischio di sanguinamento. Da quanto detto, sembrerebbe utile l'utilizzo preoperatorio del PFA-100 che consente l'individuazione di tali pazienti e la messa in atto del trattamento specifico.

KLEBSIELLA PNEUMONIAE INFECTIONS: INCIDENCE OF MULTIDRUG-RESISTANT STRAINS IN HOSPITAL DEPARTMENT

B-01

C. Mazzone, M.L. Laterza, L. Tauro

Laboratory Clinical Analysis and Microbiology, Hospital "F. Miulli" – Acquaviva delle fonti (BA)

Background: The frequent isolation of *Klebsiella pneumoniae* in hospital environment has important implications especially for debilitated and immunocompromised patients when concerns multi-resistant strains. The diffusion of strains producing ESBL (Extended-Spectrum β -lactamase), β -lactamase enzymes and also carbapenemase is probably the cause of this phenomenon.

Goal: We have considered the isolates of these germ for the year 2009 in various departments of our Hospital, examined the distribution of phenotypes with the relative percentages of sensibility to different antibiotics.

Materials and Methods: The study was conducted on biological samples (urine, blood cultures, throat swabs, BRC, ESP, etc.) by patients hospitalized in various departments. Isolation and growth of *Klebsiella pneumoniae* was obtained by culture on selective medium (lactose agar wurtz). The biochemical tests and sensibility tests were performed using the automated tool Microscan Walk Away 40 SI.

Results: Of a total of 172 samples positive for *Klebsiella* spp., isolated from hospitalized patients, the positivity of *K. Pneumoniae* has been shown in 148 samples (86%), mostly urine. Increased incidence of these germs has been observed in the intensive care unit (18.24%), with a very high resistance to the antibiotics tested: ampicillin, amoxicillin and norfloxacin (93%), ceftriaxon (82%), cefotaxim and ceftazidim (80%), ciprofloxacin (79%). Antibiotics that in this study still keep high enough sensitivity in vitro were: fosfomycin and cefotetan with 98%, netilmicin and Ofloxacin, an average of 70%.

Conclusion: These results underline once again the need for an attentive epidemiological surveillance to be implemented together with all the hygiene-comportment standards to prevent the diffusion of such bacteria strains. An adequate drug therapy is important for achieving a rapid and effective therapeutic response.

VALUTAZIONE DELLE INFEZIONI NEONATALI DA STREPTOCOCCO DI GRUPPO B (GBS) E DEI SIEROTIPI CIRCOLANTI

B-02

M. Pedroni¹, A. Bonomini¹, L. Catina¹, M. Deplanu¹, G. Orefici², R. Creti², B. Milanesi¹

¹Laboratori di Patologia Clinica Aziendali – P.O. Manerbio, AO Desenzano del Garda; ²Istituto Superiore di Sanità, Roma

Scopo del lavoro: l'attenzione alla salute della donna è uno dei punti cardine delle "Linee del programma di Governo per la promozione e l'equità della salute dei cittadini"; in questa direzione si allinea la prevenzione ed il controllo dell'infezione da GBS, che le portatrici portatrici possono trasmettere ai neonati, con il rischio di patologie che possono anche condurre al decesso. Nonostante da vari anni in molti ospedali italiani venga praticato lo screening microbiologico alla 35a-37a settimana di gravidanza, per individuare le portatrici di GBS da sottoporre a profilassi antibiotica al momento del parto, l'infezione sia precoce (0-6gg) che tardiva (7-90gg) nel neonato e lattante rimane una fra le più pericolose del periodo perinatale e neonatale.

Materiali e metodi: le informazioni che con questo progetto si vogliono raccogliere sono:

- aggiornamento dei protocolli di screening, di profilassi e di diagnostica microbiologica;
- prevalenza di portatrici di GBS tra le gravide;
- incidenza di infezione neonatale da GBS;
- sierotipi causa di infezione, la conoscenza dei sierotipi circolanti è un punto critico per produzione di un vaccino valido ovunque;
- raccolta del siero delle pazienti, per valutare i livelli protettivi di anticorpi materni.

Il lavoro locale si inserisce in un progetto coordinato dall'ISS, che coinvolge 10 centri in Italia.

Risultati: sono state prodotte linee guida concordate e condivise per la parte clinica di profilassi e per la parte diagnostica per la ricerca di GBS.

- Sono state raccolte 677 schede di partorienti che hanno eseguito lo screening per GBS

- 131 gravide sono risultate portatrici di GBS, 19,3%

- Sono stati raccolti 70 ceppi con i rispettivi sieri di gravide con tampone positivo e 146 sieri di gravide con tampone negativo.

La tipizzazione sierologica dei 70 ceppi eseguita dall'ISS con latex-agglutinazione e Multiplex PCR, ha identificato i seguenti Sierotipi: Ia: 14; Ib: 3; II: 6; III: 26; IV: 1; V: 19; IX: 1. Nei tre anni di monitoraggio (2007-08-09) un solo caso di infezione precoce da GBS (sierotipo III) su 3132 nati. Nel triennio (2004-05-06) due casi d'infezione tardiva da GBS su 3511 nati.

Conclusioni: questo progetto ha ottenuto una collaborazione costruttiva da parte del Laboratorio, degli Ostetrici e dei Pediatri, con la disponibilità a cambiare le pratiche in uso se non aderenti al protocollo predisposto. Il Laboratorio ha aggiunto terreni selettivi, brodi ed allungato i tempi di incubazione, il Ginecologo ha aggiunto sempre il tampone rettale al vaginale nello screening ed il Neonatologo ha effettuato la PCR e l'emocoltura in caso di sospetta sepsi, procedure che hanno portato ad una riduzione delle infezioni da GBS.

STUDIO DI INCIDENZA DELLE INFEZIONI DELLE VIE URINARIE**B-03****M. Laneve, M.G. Tinelli**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia del P. O. Occidentale (Mottola) AUSL TA

Scopo del lavoro: Le infezioni delle vie urinarie (IVU) rappresentano il principale impegno diagnostico eziologico di un laboratorio di batteriologia. Si tratta di processi flogistici sostenuti da microorganismi che possono riguardare le basse vie urinarie, vescica o uretra, o le alte vie urinarie, rene. L'obiettivo di questo studio è stato quello di determinare l'incidenza delle infezioni delle basse vie urinarie nella popolazione del P.O Occidentale di Taranto e la distribuzione dei casi positivi in relazione al sesso e all'età.

Materiali e metodi: Durante il periodo luglio 2009-luglio 2010, sono state analizzate 2096 urinocolture di pazienti pervenuti nel nostro laboratorio come ricoverati e ambulatoriali esterni. La determinazione della carica microbica totale è stata ottenuta con il sistema Uritest (Liofilchem) mentre l'identificazione dei germi con i sistemi ID32 Staph, ID32 Strep, ID32 GN (bioMerieux).

Risultati: Delle 2096 urinocolture analizzate, 492 (23,47%) sono risultate positive, di cui il 17,55% di sesso femminile. Il 15,06% è risultato positivo per *Escherichia coli*, il 3,05% per *Klebsiella Pneumoniae*, l'1,31% per *Staphylococcus* sp., l'1,14% per *Pseudomonas aeruginosa*, lo 0,80 % per *Enterococcus*, lo 0,76% per *Acinetobacter Baumannii*, lo 0,38% per *Enterobacter cloacae*, lo 0,38% per *Proteus mirabilis*, lo 0,38% per *Klebsiella oxytoca*. Il 10,31% erano pazienti di età compresa tra i 70 e i 90 anni (aa), il 6,49% tra 70 e 50 aa, il 3,6% tra 50 e 30 aa, l'1,91% tra 30 e 10 aa e lo 0,57% tra 0 e 10 aa.

Conclusioni: I risultati di questa indagine indicano che l'*Escherichia coli* è il batterio più frequentemente isolato tra i Gram negativi responsabili delle IVU seguito da *Klebsiella Pneumoniae*; tra i Gram positivi prevalgono gli Stafilococchi e gli Enterococchi. Il sesso femminile rappresenta quello più colpito in quanto la brevità dell'uretra e la sua localizzazione anatomica determinano una maggiore predisposizione alle infezioni urinarie. Si può evidenziare ancora come con l'avanzare dell'età, aumenta il rischio di IVU perché si riduce progressivamente la capacità di sorveglianza del sistema immune e con l'invecchiamento compaiono con molta frequenza turbe minzionali dovute, nel maschio, a patologia prostatica, e nella donna pluripara a cistocele.

ANTIBIOTICO-RESISTENZA NELLE INFEZIONI DEL TRATTO URINARIO**B-04****M.G. Tinelli, M. Laneve**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia del P. O. Occidentale (Mottola) ASL TA

Scopo del lavoro: L'antibiotico-resistenza è un problema che ha assunto molta rilevanza, pur non coinvolgendo in eguale misura tutte le specie batteriche e le classi di agenti antimicrobici. Questo fenomeno può contribuire al fallimento terapeutico e, se largamente diffuso, può costituire una vera e propria incognita. Obiettivo dell'indagine è valutare la resistenza batterica agli antibiotici di più largo impiego nelle infezioni del tratto urinario, causate da batteri Gram positivi (pos.) e negativi (neg.).

Materiali e metodi: L'indagine è stata condotta su 2096 urinocolture di pazienti pervenuti al nostro Laboratorio come ricoverati e ambulatoriali esterni, tra Luglio 2009 e Luglio 2010. Gli antibiogrammi sono stati ottenuti con le gallerie ATB UR, ATB PSE, ATB STAPH, ATB STREP (bioMerieux).

Risultati: Nel corso delle analisi svolte, sono stati ottenuti i dati riportati nella tabella.

Conclusioni: Gli antibiotici più attivi per i Gram neg. risultano: Imipenem, Amikacina, Ceftazidima e Cefotaxima; per i Gram pos. Vancomicina e Oxacillina. L'*Escherichia Coli*, il Gram neg. più frequentemente isolato, presenta una netta resistenza ad Amoxicillina e Cotrimoxazolo, mentre, tra i Gram pos., gli Enterococchi mostrano una diffusa resistenza alla Nitrofurantoina.

Tabella: Percentuali di antibiotico-sensibilità dei principali batteri Gram negativi e Gram positivi

BATTERI GRAM NEG	AMO	AMC	PIC	TSU	CA1	CTX	GEN	IMI	AKN	FOS	FUR
<i>E. coli</i>	40 %	88,7%	56,2%	52,3%	77,5%	90 %	86,3%	98,7%	98,8%	97,5%	91,3%
<i>Klebsiella spp</i>	45 %	73,4%	82,3%	57 %	82,5%	83 %	81,2%	70 %	83 %	78,9%	82,3%
<i>Proteus spp</i>	44 %	80 %	73,4%	23,4%	64,5%	69,6%	15,6%	68,9%	73 %	80,3%	16,7%
<i>Pseudomonas spp.</i>	18 %	20 %	85 %	16,5%	65 %	66 %	54,5%	72,3%	64,6%	/	/
BATTERI GRAM POS.	AMO	AMC	TSU	GEN	FOS	FUR	VAN	OXA			
<i>Staphylococcus spp.</i>	21 %	25 %	82 %	65,7%	46 %	62,4%	94 %	94 %			
<i>Enterococcus spp.</i>	26 %	28,6%	/	17,4%	53,4%	7 %	/	/			

Legenda: amoxicillina (AMO), amoxicillina-acido clavulanico (AMC), piperacillina (PIC), ciprofloxacina (CIP), cotrimoxazolo (TSU), ceftazidima (CA1), cefotaxima (CTX), gentamicina (GEN), imipenem (IMI), amikacina (AKN), fosfomicina (FOS), nitrofurantoina (FUR), vancomicina (VAN), oxacillina (OXA)

DONORS DEFERRING FOR MALARIA PROBLEM: AN EMERGING PROBLEM IN THE EXPERIENCE OF FONDAZIONE CA' GRANDA OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO IN MILAN

B-05

R. Grande¹, G. Petrini², A. Maraschini¹, B. Simoneschi¹, M. Marconi², E. Torresani¹

¹UOS Microbiologia – UO Laboratorio Centrale-Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico - Milan-Italy; ²Centro Trasfusionale e Immunoematologia- Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico – Milan-Italy

Aim: Current European Regulations require a deferral period of six months or three years depending on the risk of exposure for prospective blood donors at risk of malaria. This period may be reduced to 4 months if an immunologic or molecular genomic test is negative at each donation, but Italian regulations have not adopted this provision. As cases of transfusion transmitted malaria have been recorded in medical literature in blood donors deferred for three years and not tested, the Centro Trasfusionale e di Immunoematologia of Fondazione Cà Grande Ospedale Maggiore Policlinico in Milan decided to introduce immunologic testing for all donors at risk of malaria.

Materials and Methods: from February 2007 to June 2010 412 blood donors at risk of malaria, who had lived in a malarial area during the first five years of life or for more than six consecutive months, were tested of malarial antibodies using an enzyme immunoassay kit. Most of them were developing countries citizens(83.2%,343/412);Italian citizens were 16.8%(69/412) of the whole. The kit (Malaria EIA, Newmarket, UK) uses four recombinant antigens specific for *P. falciparum* and *P. vivax* and with cross reactivity for *P. ovale* and *P. malariae*. The kit detects total Ig antibodies against *P. falciparum* and *P. vivax* and shows 80% cross reactivity with *P. ovale* and 67% with *P. malariae*. Antibody positive samples were further checked by an immunochromatographic test for *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae* antigens and by haemscopy (thin film and thick smear).

Results: we found 8.7%(36/412) of the donors who were classified at risk of malaria to be positive for total Ig antibodies. Only one Italian citizens resulted positive for the test. None of these antibody positive donors were confirmed positive by the immunochromatographic test and by haemscopy. The positive candidates were deferred from blood donation.

Conclusions: the introduction of a malarial screening test in the assessment of blood donor eligibility may increase the safety of blood donations, but could further reduce the amount of blood availability. If immunologic testing were accepted nationally as a valid tool to assess the risk for malaria, more than 90% of the donors that are currently deferred for three years could be accepted 4 months after their last visit to an endemic area, thus increasing the availability of blood.

ISOLAMENTO DI ELISABETHKINGIA MENINGOSEPTICA (EX CHRYSEOBACTERIUM) IN SEVERO QUADRO DI BRONCOPOLMONITE CON BATTERIEMIA

B-06

M. Ramon¹, F. Bassetto¹, C. Boito¹, A. Doriguzzi², A. Gaio¹, M.C. Luise², L. Nemetz¹, D. Signori¹

¹U.O.C. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia; ²U.O.C. Anestesia e Rianimazione - Ospedale S. Maria del Prato ULSS 2 Feltre

Introduzione: Il genere *Elisabethkingia* comprende batteri tipici delle matrici ambientali e descritti per lo più come patogeni condizionali. La rarità degli isolamenti clinici a oggi registrati rende poco noti i meccanismi patogenetici che sottendono alle infezioni sostenute da tali agenti e poco si conosce ancora sui loro pattern di antibioticosensibilità.

Scopo: Presentazione del caso di un paziente affetto all'ospedale di Feltre con iperpiressia e sintomi respiratori ingravescenti (PaO₂/FiO₂=62) e conseguente ricovero in Rianimazione. L'anamnesi evidenziava BPCO-silicosi, obesità, ipertensione e contatto con acque reflue domestiche nei giorni precedenti la comparsa dei sintomi.

Materiali e Metodi: Sono stati inviati al laboratorio quattro set di flaconi per emocoltura (Bactec Plus-BD), un campione d'urina, seminato in agar CPS ID3, e un campione di broncoaspirato, seminato in agar MacConkey, SCS, COS e HAE (bioMerieux), incubati in idonee atmosfere a 37°C. Dai flaconi d'emocoltura positivi sono stati allestiti strisci colorati al Gram e subcolture in agar. L'identificazione batterica è stata ottenuta con galleria ID32GN e l'antibiogramma è stato allestito utilizzando ATBG-5, saggio di sensibilità in terreno semisolido in condizioni molto simili a quelle delle tecniche di riferimento in microdiluzione. La lettura dei test è stata realizzata con l'ausilio del sistema esperto ATB Expression (bioMerieux). Sono stati analizzati campioni ematici per valutazione della formula leucocitaria, dei principali parametri di chimica-clinica e della procalcitonina (Brahms, Advia Centaur-Siemens), ottenendo valori tipici di uno stato setticemico, prontamente normalizzati con la terapia antibiotica.

Risultati: E' stata evidenziata la crescita di bastoncini gram-, non fermentanti, da tutte le emocolture e dal broncoaspirato, con sviluppo rapido delle colonie su terreni a base di sangue, lento (oltre 72 ore) su agar MacConkey. L'identificazione di *E. meningoseptica* è stata confermata con l'invio del ceppo presso un centro di riferimento. L'antibiogramma ha evidenziato un profilo di multiresistenza, con sensibilità a cotrimossazolo, ciprofloxacina e piperacillina-tazobactam.

Discussione e conclusioni: Il caso presentato evidenzia come, in presenza di microrganismi di raro riscontro nella pratica comune e dal ruolo patogeno controverso, vi sia la necessità per chi opera in laboratorio di collaborare in sintonia con i medici curanti, ponendo particolare attenzione all'anamnesi. Sarà così possibile, pur nell'ambito di procedure standardizzate, personalizzare le indagini e tempestivamente indirizzare le scelte terapeutiche.

INFEZIONI DELLE VIE URINARIE (IVU) E ANTIBIOTICO-RESISTENZA. NOSTRA ESPERIENZA

B-07

M. Pepe², S. Stallone¹, C. Curigliano¹, R. Lovero¹, A. Carucci¹, A. Legrottaglie¹, L. Barletta¹, S. Tundo¹, S. Lovero¹, A. Scianaro¹, E. Vinci¹

¹U. O. C. Laboratorio Analisi Cisternino Fasano Ostuni - ASL Brindisi; ²U.O. Laboratorio analisi Canosa Minervino Spinazzola - ASL BAT

Introduzione: le IVU sono fra le più frequenti infezioni riscontrate nell'uomo e costituiscono una delle affezioni di più comune riscontro nella pratica medica. L'interesse per tali infezioni è costituito dalla loro morbilità e soprattutto dall'enorme impatto economico-sanitario ad esse relativo.

Scopo del lavoro: abbiamo voluto valutare l'eventuale incremento percentuale dell'antibiotico-resistenza dei germi isolati nelle urinocolture verso gli antibiotici maggiormente utilizzati nella pratica clinica in corso delle IVU.

Materiali e metodi: sono stati valutati i campioni di urine dell'utenza esterna degli anni 2008-2009. Sono stati selezionati tutti quei campioni risultati positivi con assenza di contaminazioni e con carica batterica superiore a 100.000 CFU/ml. I campioni sono stati seminati su terreno di coltura CPS (Biomérieux) e messi in termostato a 37°C; la lettura è stata effettuata dopo 24 ore di incubazione. Per l'identificazione e l'antibiogramma è stato utilizzato lo strumento FENIX della BD. Gli antibiotici presi in considerazione sono per i batteri gram negativi: amikacina, amoxicillina/ac clavulonico, ampicillina, ceftriaxone, cefuroxime sodico, ciprofloxacina, gentamicina, levofloxacina, norfloxacina, piperacillina, trimetropina/sulfametoxazolo. Per i batteri gram positivi: nitrofurantoina, oxacillina, trimetropina/sulfametoxazolo, ampicillina, ciprofloxacina, levofloxacina, penicillina G, vancomicina.

Risultati: nel 2008 su 564 urinocolture risultate positive abbiamo rilevato la presenza di: E.Coli 66%, Klebsiella 14%, Proteus 8%, Pseudomonas 3%, Staphylococchi 2%, Enterococchi 7%. Nel 2009 su 498 urinocolture risultate positive abbiamo rilevato la presenza di: E.Coli 63%, Klebsiella 12%, Proteus 7%, Pseudomonas 5%, Staphylococchi 3%, Enterococchi 10%. I dati ottenuti dall'antibiogramma, relativi all'anno 2009 verso quelli ottenuti nel 2008, hanno mostrato un aumento statisticamente significativo ($p < 0,05$) della resistenza di alcuni batteri identificati ad alcune molecole di antibiotico: Klebsiella verso le molecole ciprofloxacina, gentamicina, levofloxacina, trimetropina/sulfametoxazolo; Proteus verso levofloxacina, trimetropina/sulfametoxazolo; Pseudomonas verso gentamicina, levofloxacina; enterococchi verso levofloxacina.

Conclusioni: dai dati ottenuti è evidente un aumento della resistenza verso alcune molecole di antibiotico. Pertanto è auspicabile sempre l'esecuzione dell'urinocoltura con antibiogramma prima di iniziare la terapia antibiotica al fine di ridurre l'insorgenza delle resistenze batteriche.

ANTIBIOTICO RESISTENZA DELL' UREAPLASMA UREALYTICUM ISOLATO NEI TAMPONI VAGINALI E NELLE SPERMIOCOLTURE: NOSTRA ESPERIENZA

B-08

M. Pepe², M. Vasciaveo¹, A. Ostuni¹, R. Lovero¹, A. Carucci¹, F. Epicoco¹, S. Stallone¹, A. Legrottaglie¹, L. Barletta¹, A. Scianaro¹, E. Vinci¹

¹U. O. C. Laboratorio Analisi Cisternino Fasano Ostuni ASL Brindisi ; ²U.O. Laboratorio Analisi Canosa-Minervino Spinazzola (BAT)

Introduzione: L'ureaplasma urealyticum è un batterio appartenente alla famiglia dei micoplasmi ed è privo di parete cellulare. Ciò comporta una difficoltà sia per la terapia che per la diagnosi. L'Ureaplasma predilige e colonizza le mucose corporee; nel caso specifico, l'U. urealyticum si ritrova soprattutto sulle mucose genitali. In questa sede, infatti, può crescere e metabolizzare l'urea con formazione di ammoniaca, da cui il nome della specie.

Scopo del lavoro è stato quello di valutare l'antibiotico-resistenza dell'Ureaplasma urealyticum isolato da liquido seminale e tamponi vaginali.

Materiali e metodi: abbiamo valutato i campioni di spermio colture e di tamponi vaginali giunti presso il nostro laboratorio nell'anno 2009 con la richiesta della ricerca dell'U.u. Sia per la ricerca del batterio che per la valutazione dell'antibiogramma abbiamo utilizzato il kit della Biomérieux. In particolare è stata valutata la percentuale degli antibiotici ai quali il batterio era sensibile, quella ai quali la sensibilità era intermedia e la percentuale ai quali era resistente.

Risultati: sono stati analizzati 330 campioni di cui 288 tamponi e 42 spermio colture. La percentuale della resistenza (R), della sensibilità intermedia (I) e della sensibilità (S) agli antibiotici è stata: Doxiciclina, R (2%), I (0,2%), S (97,8%); Josamicina, R (3%), I (2%), S (95%); Ofloxacina, R (8%) I (22%) S (70%); Eritromicina, R (19%) I (8%) S (77%); Tetraciclina: R (9%) I (21%) S (70%); Ciprofloxacina: R (23%) I (11%) S (66%); Azitromicina: R (12%) I (2%) S (86%); Claritromicina, R (20%) I (2%) S (78%); Pristinamicina: R (2%) I (2%) S (96%)

Conclusioni: dai dati ottenuti appare evidente che, stiamo assistendo ad un incremento delle percentuali di batteri resistenti agli antibiotici saggiati. Inoltre possiamo affermare che la Doxiciclina insieme alla Pristinamicina sono gli antibiotici di elezione da utilizzare in corso di infezione da U.U. E' opportuno, ancora una volta, sottolineare che per poter ridurre eventuali insorgenze di resistenze è auspicabile un corretto uso degli antibiotici rispettando sia la scelta dell'antibiotico stesso, al quale il batterio risulta più sensibile dall'antibiogramma, sia il dosaggio che il periodo della somministrazione del farmaco.

Bibliografia

Waites K.B. Bebear C.M. et al.: Laboratory diagnosis of mycoplasma infections. Ed American Society for Microbiology. 2002. 1-30

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS INIBITORE DELLA CRESCITA DI ALTRI GRAM POSITIVI ISOLATO DA UN PAZIENTE ONCO-EMATOLOGICO

B-09

G. Lobreglio, P. D'Aversa, L. Leo, G. Abate, K. Musio, F. De Vito, M.C. Cosi, E. Turco, M.J. Monteduro

U.O. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera "Card. G. Panico", Tricase (LE)

Scopo del lavoro: Il caso riportato riguarda un ceppo di *Staphylococcus epidermidis* (Se) isolato da un tampone nasale di un paziente onco-ematologico sottoposto a ripetute terapie antibiotiche e per il quale era stato richiesto un routinario monitoraggio microbiologico. Tale ceppo dimostrava avere potere inibente nei confronti della crescita di altre specie batteriche; pertanto, abbiamo deciso di effettuare dei saggi per capire in dettaglio verso quali specie batteriche questa proprietà fosse espletata.

Materiali e Metodi: La coltura madre evidenziava, su agar Columbia al 5% di sangue di montone, una crescita polimicrobica all'interno della quale risaltava una colonia bianco crema circondata da un netto alone di inibizione prodotto verso gli altri batteri e che all'osservazione macroscopica e microscopica (colorazione di gram) pareva appartenere al genere *Staphylococcus*. Una successiva subcoltura di isolamento è stata sottoposta ad identificazione biochimica mediante il sistema VITEK 2/card GP e la galleria API STAPH. Con colonie giovani (18-24h) dello Se così identificato, sono stati allestiti dei saggi in vitro per valutarne l'eventuale potere inibente nei confronti di diverse specie di rilevanza clinica sia gram + che gram -, isolate dai più svariati campioni biologici pervenuti nella nostra U.O. Per ogni specie batterica, successivamente cimentata con lo Se, è stato preparato un'inoculo in NaCl allo 0.85% pari allo standard 0.5-0.6 di McFarland con il quale è stata seminata l'intera superficie di una piastra di Mueller Hinton agar al 5% di sangue di montone e al centro di ogni piastra sono stati depositati 10 ml di una sospensione batterica dello Se in questione, preparata allo stesso modo.

Risultati: Tra i vari batteri saggiati, Se ha dimostrato potere inibente nei confronti di una serie di *Staphylococcus aureus* (Sa), *Streptococcus pneumoniae* (Sp), e *Enterococcus faecalis* (Ef) evidenziando un netto alone di inibizione attorno all'area di crescita dello stesso Se, nel punto di inoculo dei 10 ml. Questi risultati sono stati marcatamente confermati con i seguenti ceppi ATCC: Sa ATCC 29213; Sp ATCC 49619; Ef ATCC 29212.

Discussione e Conclusioni: L'inibizione della crescita di vari batteri, da parte di Se, sembrerebbe abbastanza rara da osservare, in accordo ai pochi lavori riportati nella letteratura scientifica. Sulla base dei risultati ottenuti e in considerazione della necessità di avere nuovi antibiotici da utilizzare nella pratica clinica, sarebbe interessante in futuro poter utilizzare la/e molecola/e responsabili di questo fenomeno nella lotta alle malattie infettive sostenute da queste ed altre specie batteriche.

RUOLO DELLA MEDICINA DI LABORATORIO NEL MONITORAGGIO DELLA TRASMISSIONE VERTICALE DELL'INFEZIONE DA HCV: CASISTICA 1994-2010 OSPEDALE S. CHIARA DI TRENTO

B-10

D. Bassetti, A. Mazza¹, G. Stringari¹, L. Gentilini¹, P. Lanzafame

Microbiologia e Virologia Osp. S. Chiara di Trento;¹Medicina Pediatrica Osp. di Cles (TN)

Scopo del lavoro: Ad un ventennio dalla identificazione del virus dell'epatite C e dalla disponibilità di tests per la rilevazione degli anticorpi specifici e del genoma virale, la storia naturale dell'epatite C non è ancora ben definita, soprattutto per quanto riguarda la trasmissione materno-fetale: i fattori di rischio maggiormente coinvolti sono ritenuti essere la viremia materna e la coinfezione con HIV.

Materiali e Metodi: L'Ospedale S. Chiara di Trento ha aderito al protocollo di monitoraggio dell'European Pediatric HCV Network, effettuando presso il Laboratorio di Microbiologia e Virologia il follow-up virologico di neonati di madri HCV positive con ricerca di HCV-Ab alla nascita, a 3, 6, 12 e 18 mesi e di HCV-RNA con PCR-Real Time alla nascita, a 3 e 12 mesi.

Risultati: Dal 1994 al 2009 sono stati seguiti 198 neonati con evidenza di viremia in 8 neonati ed in 1 caso a 12 mesi di vita. Il follow-up è stato completato in 137 bambini, con risultati espressi nella tabella sottostante, dove si evidenziano i tempi di perdita degli anticorpi con numero dei casi e relativa percentuale sulla casistica totale.

Discussione e Conclusioni: Dai risultati ottenuti si evidenzia che nella popolazione considerata l'infezione verticale da HCV interessa il 4% dei neonati e che il 42% dei bambini perde gli anticorpi materni entro l'anno di vita. Relativamente al maggior rischio di trasmissione da madri con coinfezione HIV (12 % dei casi) solo in 2 neonati si è manifestata infezione HCV.

mesi	HCV Ab					
0	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
3	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos
6	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos
12	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos
18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos
n. casi	1	12	18	59	25	22
%	0,7	8,7	13	43	18	16

VALUTAZIONE IN VITRO DELLA SINERGIA TRA ANTIBIOTICI SU CEPPI DI PSEUDOMONAS AERUGINOSA MDR MEDIANTE E-TEST

B-11

M. Falleni, A. Rosellini, S. Costanzo, S. Casarosa, S. Badalassi, G. Vitalini, E. Vallini, F. Naldi, P. Leonetti

Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Diagnostica Molecolare - Laboratorio Microbiologia - U.O. Analisi Chimico Cliniche Specialistiche - Pisa

Scopo del lavoro: il lavoro svolto si propone di valutare in vitro, mediante studi di sinergismo antibiotico, l'efficacia di associazioni antibiotiche già sperimentate empiricamente (colistina-rifampicina, meropenem-colistina, meropenem-tigeciclina e colistina-tigeciclina) nei confronti di *Pseudomonas aeruginosa* e di individuare quali di queste possono essere messe in atto nei confronti di tale microorganismo per superare il problema della multiresistenza che lo caratterizza.

Materiali e Metodi: terreni distribuiti in capsule di Petri: agar sangue di cavallo, agar Mc Conkey, agar Sabouroud, agar Sale Mannite, agar Mueller Hinton, terreno cromogeno CPS e brodi di arricchimento. Strisce di antibiotici: colistina, rifampicina, meropenem, tigeciclina associati tra loro a formare varie coppie. Sistema automatizzato Vitek2 e sistema manuale E-Test. Il lavoro è stato eseguito su 73 ceppi di *Ps.aeruginosa*, isolati da campioni biologici, provenienti dai vari distretti corporei e dalle varie strutture afferenti al nostro laboratorio microbiologico.

Risultati: Le prove sono state effettuate in parallelo utilizzando sia la metodica di intersezione delle strisce in modo da formare un angolo di 90°, sia la metodica di sostituzione delle strisce che prevede un diverso tempo di permanenza a contatto con il terreno dei due antibiotici. Abbiamo riscontrato che per es. il Meropenem mostrava la presenza di più colonie puntiformi o satellite nell'alone di inibizione, che scomparivano quando venivano effettuate associazioni Meropenem-Colistina e Meropenem-Tigeciclina. Confrontando il comportamento delle colonie satellite isolate dall'alone con le prove di sensibilità del campione originale, abbiamo dimostrato che queste formazioni puntiformi presentavano gli stessi valori delle Mic e pertanto abbiamo concluso che si trattasse di fenotipi mutanti dello stesso ceppo. I risultati ottenuti non hanno evidenziato un sostanziale effetto sinergico in vitro, nel senso scientifico del termine, tra le coppie di antibiotici sottoposte ad analisi, ma piuttosto un effetto additivo tra le caratteristiche dei due antimicrobici, inteso come somma delle proprietà di azione di ciascun antibiotico assunto singolarmente in questi casi.

Discussione e Conclusioni: Anche se non si può parlare di sinergia, si può affermare che la sovrapposizione degli effetti caratteristici di ciascun antibiotico, assunti congiuntamente, rafforza i benefici di ognuno di essi somministrato singolarmente, contribuendo a rendere più efficace l'azione terapeutica, venendo così incontro alle esigenze del clinico nel trattamento di pz. particolarmente a rischio.

MRSA: NON SEMPRE E' COLPA DELL'OSPEDALE

B-12

M. Pedroni¹, A. Bonomini¹, L. Catina¹, M. Deplanu¹, A. Pantosti², M. Monaco², B. Milanese¹

¹Laboratori di Patologia Clinica Aziendali – P.O., Manerbio, A.O. Desenzano del Garda; ²Istituto Superiore di Sanità, Roma

Scopo del lavoro. *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) è emerso in ambiente ospedaliero negli anni '60; in Italia è diventato uno dei principali patogeni ospedalieri (HA-MRSA) negli anni '80. Nell'ultimo decennio, sono emersi ceppi MRSA responsabili di infezioni in comunità (CA-MRSA). Più recentemente sono state segnalate infezioni umane, sostenute da MRSA con caratteristiche simili agli MRSA isolati dai bovini o suini, definiti Livestock Acquired (LA-MRSA) appartenenti al clone ST398. In Italia sono riportati rarissimi casi di infezione invasiva nell'uomo. Dopo il riscontro nel 2008 di un'infezione grave da LA-MRSA/ST398 in un paziente di 52 anni, lavoratore agricolo, con ascesso laterocervicale-dx e fascite necrotizzante, si è deciso di indagare la presenza di ceppi LA-MRSA/ST398 in pazienti che si recavano presso gli ambulatori dell'Ospedale di Manerbio (Bs), situato in un'area del Nord-Italia ad alta densità di allevamenti bovini o suini.

Metodi. Nel periodo marzo-aprile 2010, sono stati raccolti gli MRSA isolati da infezioni in pazienti ambulatoriali che non avevano avuto ricoveri ospedalieri nei 6 mesi precedenti; parallelamente sono stati eseguiti 879 tamponi nasali, per la ricerca di portatori di MRSA, su pazienti sottoposti ad esami pre-ricovero. I ceppi isolati sono stati inviati all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per le seguenti indagini molecolari:

- conferma della specie, della meticillino-resistenza e rilevazione dei geni codificanti la Leucocidina di Panton-Valentine (PVL) mediante PCR.

- tipizzazione molecolare mediante determinazione dell'elemento mec (SCCmec typing), sequenziamento della regione polimorfica della proteina A (spa typing) e Multi Locus Sequence Typing (MLST).

Risultati. Dai pazienti ambulatoriali sono stati raccolti 7 ceppi MRSA. Di questi un solo ceppo isolato dal tampone auricolare di un paziente, venditore di mangimi per animali, con otite cronica è risultato LA-MRSA, il ceppo era PVL negativo, caratterizzato da SCCmec IV, tipo spa 899 e ST398. Dei rimanenti 6 ceppi, 2, isolati da infezione cutanea, erano CA-MRSA PVL positivi, caratterizzati da t005 e t121 e SCCmec tipo IV. Dai 879 tamponi nasali eseguiti, sono stati isolati 10 ceppi MRSA (1,2%). Nessun ceppo è risultato positivo per la presenza della tossina PVL. Mediante spa typing, 5 ceppi (55%) sono stati assegnati a tipi spa caratteristici di LA-MRSA/ST398: t899 (3)-SCCmec tipo IV, t108(1) e t2922(1) entrambi SCCmec tipo V. Quattro ceppi risultati t008 contenevano l'elemento mec di tipo IV ed uno t688 di tipo V.

Conclusioni. In Italia, come nel Centro-Nord Europa ed in Nord-America, in aree dove è alto il numero di allevamenti bovini o suini, i ceppi LA-MRSA/ST398 colonizzano la popolazione e possono causare anche infezioni gravi.

UTILITA' DELLA SIEROLOGIA NELLA DIAGNOSI PER *Strongyloides stercoralis* : VALUTAZIONE DI UN NUOVO KIT COMMERCIALE ELISA

B-13

R. Grande, A. Restelli, M.R. Araldi, E. Torresani

UOS Microbiologia, UO Laboratorio Centrale - Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano

Scopo del lavoro: *Strongyloides stercoralis* è un nematode endemico in Lombardia e in tutto il Nord Italia. Il quadro clinico, di solito caratterizzato da lievi sintomi, può evolvere in una complicanza denominata superinfestazione. Inoltre, un risultato falso negativo può indurre a somministrare una terapia incongrua e potenzialmente dannosa per il paziente. La diagnosi eziologica è difficoltosa; la maggior parte dei laboratori utilizza metodiche poco sensibili per rilevare questo metazoo. Metodiche più sensibili come l'agar coltura delle feci e la tecnica di Baermann sono alla portata di poche strutture, e la ricerca anticorpale mediante immunofluorescenza è fruibile in un unico centro su tutto il territorio nazionale. L'utilizzo di una metodica ELISA affidabile, da affiancare a specifici esami microbiologici, potrebbe migliorare le attuali performance diagnostiche in sensibilità e specificità, per cui abbiamo valutato la sensibilità e la specificità del test ELISA S. ratti IgG Bordier Affinity Products (FGM Italia) nella diagnosi di *S. stercoralis*.

Materiali e metodi: tra il 1 gennaio 2008 ed il 1 Agosto 2010 sono stati selezionati 60 pazienti con eosinofilia $>500/\text{mm}^3$ cui era stato richiesto l'esame parassitologico delle feci (EPF). Su ognuno di questi pazienti sono stati eseguiti come tests addizionali la ricerca di anticorpi anti *Strongyloides* (*S. ratti* EIA IgG totali Bordier- FGM Italia) e l'esame colturale di feci fresche su agar *Strongyloides* (Biolife ITALIA).

Risultati: 35 pazienti risultarono negativi a tutti i tests (Sierologia, EPF, Colturale). 13 pazienti risultarono positivi a tutti i tests. 2 pazienti risultarono positivi solo a uno dei due tests microbiologici (1 EPF +, 1 Colturale +) e negativi alla sierologia. 10 pazienti risultarono positivi solo alla sierologia. 4 dei 13 pazienti positivi a tutti i tests vennero monitorati post terapia (D0 = Albendazolo 400mg BID x 7gg); i controlli vennero eseguiti a 30 gg e 6 mesi dal D0. Tre risultarono negativi al controllo (colturale + sierologia) D0 +6mesi: il quarto paziente, al D0+6mesi ebbe un'importante riduzione del titolo anticorpale e l'esame colturale negativo.

Conclusioni: la sensibilità e la specificità del test sierologico sono state dell'89% e dell'77% rispettivamente contro l'80% e 100% dell'EPF, considerando come Golden Standard l'esame colturale in agar. Ricordiamo anche che la sensibilità dell'EPF varia moltissimo secondo l'operatore mentre per la sierologia la performance del test è più standardizzata. I dati sul monitoraggio dei quattro pazienti sono suggestivi per la potenzialità di utilizzo del test ELISA S.ratti IgG per il follow up post terapia.

NELLA FASE POST-ANALITICA DI LABORATORIO L'ELABORAZIONE DEI DATI E' FONDAMENTALE PER FORNIRE INFORMAZIONI UTILI AL CLINICO E AL PAZIENTE E PER FOCALIZZARE L'ATTENZIONE DEL PATOLOGO CLINICO VERSO AREE DI MIGLIORAMENTO: IL CASO DELL'EMOCOLTURA

B-14

E. Stacchini, I. Rapetti, A. Ferrini

Dipartimento di Patologia Clinica, ASL TO4, Ivrea

Scopo del lavoro: L'emocoltura è considerata il gold standard nella diagnosi eziologica di batteriemia. Data la gravità delle infezioni ematiche, l'epidemiologia dei dati microbiologici è di fondamentale importanza per guidare il clinico verso terapie empiriche appropriate. Inoltre lo studio di indicatori di qualità dell'emocoltura focalizza l'attenzione del microbiologo su criticità da sottoporre a miglioramento.

Materiali e Metodi: Vengono analizzate le emocolture di 1017 pazienti sospetti di batteriemia, i cui prelievi afferiscono al Laboratorio Analisi di Ivrea-Cuorgnè nel 2009. La strumentazione utilizzata (Biomérieux) è la seguente: analizzatore automatico Bact/Alert; strumento automatico Vitek 2 /sistema semiautomatico API/sistemi manuali per identificazione e antibiogramma; sistema gestionale epidemiologico Copernico. Tutti i flaconi positivi sono sottoposti a microscopia (colorazione di Gram) e colture. Il Gram viene comunicato via telefono e registrato su apposito modulo. Si classificano gli errori del Gram in Major error e Minor error, in base alla gravità dei potenziali errori terapeutici.

Risultati: Il 27% dei pazienti mostra batteriemia per batteri/miceti significativi. Si escludono gli inquinanti (Weinstein 2003). L'analisi per Reparto mostra prevalenza di *E.coli* in Geriatria/Lungodegenza, Medicina e Pronto Soccorso, mentre in Rianimazione prevalgono *Stafilococchi* coagulasi negativi (CoNS). Circa le multiresistenze il 25% di *E.coli* è ESBL + e prevale in Geriatria/Lungodegenza, mentre il 61% di *S.aureo* e l'82% di *S.epidermidis* sono meticillino-resistenti e prevalgono in Rianimazione e Medicina. Il 5,8% delle batteriemie positive sono catetere (cvc) correlate, prevalgono in Rianimazione con agenti causali CoNS. Gli indicatori di qualità evidenziano: 4% di inquinanti, 0,5% di prelievi singoli e 1,5% di falsi positivi. Microscopia e colture non correlano nel 4% dei casi (2% Major error, 2% Minor error).

Discussione e Conclusioni: I risultati sono forniti ai Reparti per una terapia empirica appropriata, legata all'epidemiologia locale. Il monitoraggio delle batteriemie cvc correlate può aiutare il clinico nella gestione ottimale dei cvc (controllo infezioni ospedaliere). Gli indicatori di qualità guidano azioni migliorative ove non siano state raggiunte performance adeguate: ancora alto il tasso di prelievi inquinati, nonostante la formazione fatta nel 2008 ai Reparti, mentre buoni sono i risultati sul prelievo singolo (dal 5% del 2008 allo 0,5% del 2009). Il 4% di incongruenze fra microscopia e colture è un dato migliorabile anche attraverso adeguata formazione del personale deputato alla lettura in reperibilità.

VALUTAZIONE DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA IN CEPPI DI E. COLI E K. PNEUMONIAE URINARI PRODUTTORI DI ESBL IN ULSS 22 E LORO IMPLICAZIONI TERAPEUTICHE

B-15

D. Piccoli, G. Saccani, M. Caputo

U. O. Lab. Analisi Cliniche e Microbiologiche Bussolengo VR

Scopo. Lo scopo dello studio è quantificare la prevalenza di E.coli e K.pneumoniae produttrici di β -lattamasi isolate in ULSS 22, valutare la loro attività nei confronti di ciprofloxacina, imipenem, amikacina, piperacillina/tazobactam e l'impatto sui consumi dei farmaci antibiotici e sul rispettivo costo.

Materiali e metodi. Le Enterobacteriaceae esaminate sono state isolate da campioni urinari, 2007-2009, identificate con VITEK2 Biomerieux con il relativo antibiogramma. È stato effettuato uno studio di prevalenza retrospettivo sugli organismi isolati in pazienti ospedalizzati e ospiti delle RSA presenti sul territorio

Risultati. 2007 isolamenti per E.coli nei pzt interni 43.8% (9.0% ESBL+); nei pzt RSA E.Coli 46.3% (40.0% ESBL+) K. pneumoniae 3.1% in pzt interni e 2.2% in RSA: 0 ESBL rilevate. 2008 isolamenti per E.coli in pzt interni 46% (17.2% ESBL+); pzt RSA E.Coli 48.7% (44.7% ESBL+). Isolamenti per K. pneumoniae 3.6% (20.0% ESBL+); in RSA 2.1% (12.5% ESBL+). 2009 isolamenti E.coli pzt interni 38.8% (19.9% ESBL+); in RSA E.Coli 40.7% (56.0% ESBL+). Isolamenti per Kleb. pneumoniae 7.2% interni (36.7% ESBL+); in RSA 8.0% (84.8% ESBL+). E.coli ESBL sensibilità ospedale/RSA AN 100-95.3% nel 2007, 95.5-92.9% nel 2008 e 100-90% nel 2009; CIP 0.0-2.7% nel 2007, 7.6-4.8% nel 2008 e 11.9-6.8% nel 2009; TZP 87.0-81.4% nel 2007; 69.7-75.0% nel 2008; 44.4-46.2% nel 2009; IMI 100-97.7% nel 2007; 2008 100-98.8%; 98.4-100% nel 2009. Kleb.pne.ESBL sensibilità ospedale/RSA AN 83.3-0.0% nel 2008; 90.9-0.0% nel 2009; CIP 4.5-3.7% nel 2009; TZP 66.7-0.0% nel 2008 e 45.5-25.0% nel 2009; IMI ospedale 100% nel 2008 e 95.5% nel 2009; IMI per RSA 100% nel 2009.

Valutazione del consumo antibiotici (DDD totali), spesa totale: Ospedale 2007 CIP consumo 51593.2 spesa 63489.41; TZP consumo 485.7 spesa 20371.56; AN consumo 78 spesa 164.62; MEM consumo 7852 spesa 2905.97; Ospedale 2009 CIP consumo 53239.8 spesa 55372.1; TZP consumo 1680.14 spesa 59862.5; AN consumo 1105 spesa 380.38; MEM consumo 10697 spesa 53985.41; Farmaci RSA 2007 CIP consumo 41082.5 spesa 8283.8; TZP consumo 147.28 spesa 6373.77; AN consumo 494.5 spesa 522.55; MEM consumo 89.5 spesa 3133.25; Farmaci RSA 2009 CIP consumo 38575.4 spesa 3881.11; TZP consumo 198 spesa 6480.55; AN consumo 2567.5 spesa 681.05; MEM consumo 2040 spesa 7053.64

Conclusioni. Il laboratorio di Microbiologia rappresenta una fonte informativa per identificare eventi sentinella epidemie nosocomiali presenza di microrganismi multi-resistenti e per monitorare l'andamento delle resistenze stesse. Altra funzione di sorveglianza che può essere svolta, in collaborazione con il Servizio di Farmacia, riguarda il monitoraggio delle resistenze batteriche esistenti ed emergenti in rapporto al consumo degli antibiotici.

ATTIVITÀ PIASTRINICA RESIDUA E FALLIMENTO CLINICO DELLA PROFILASSI ANTITROMBOTICA NELL'ATTACCO ISCHEMICO CEREBRALE ACUTO

B-16

E. Galloni, V. De Riva, A. De Boni, G. Billo, L. Di Dionisio, F. Perini

Dipartimento di Neuroscienze, Laboratorio Centro Cefalee e Malattie Cerebrovascolari, Divisione di Neurologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del lavoro. La riduzione del rischio di recidive di ischemia cerebrale con la terapia antitrombotica è del 20% circa. Il fallimento clinico è stato imputato a resistenza ai farmaci antiaggreganti. I dati in letteratura sono molto variabili a causa dell'eterogeneità delle casistiche cliniche studiate e dei metodi di laboratorio utilizzati. L'aggregazione piastrinica con il metodo ottico di Born (LTA) rappresenta il gold standard per la valutazione piastrinica in vitro. Gli studi con LTA hanno utilizzato agonisti dell'aggregazione piastrinica diversi, a differenti dosi. Abbiamo pertanto deciso di studiare una casistica selezionata di attacchi ischemici cerebrali acuti con LTA utilizzando stimoli specifici per i singoli farmaci antiaggreganti, al fine di verificare l'eventuale associazione del fallimento clinico con l'attività piastrinica residua (APR).

Materiali e Metodi. Sono stati studiati 50 pazienti (34 maschi e 16 femmine, 40-84 anni), afferenti alla Stroke Unit dal Luglio 2008 al Luglio 2009 per attacco ischemico acuto sostenuto da patologia aterotrombotica secondo SSS-TOAST. 13 soggetti erano in terapia con ASA 100, 19 con ASA 300, 9 con clopidogrel, 9 con ASA e clopidogrel. Il prelievo di 10 ml è stato eseguito da vena antecubitale senza stasi venosa in provette contenenti sodio citrato 3,2%. Il PRP (plasma ricco di piastrine) viene ottenuto centrifugando il sangue a 1100 rpm per 20'. Il PPP (plasma povero di piastrine) viene ottenuto centrifugando a 3500 rpm per 15' parte del sangue intero. La percentuale di aggregazione piastrinica (LTA) è stata valutata con il metodo di Born (Chronolog model 700 lumi aggregometer) stimolando il PRP con gli agonisti ADP, acido arachidonico e collagene. I test di aggregazione piastrinica sono stati eseguiti a 7 gg, 1 mese e 3 mesi dall'evento ischemico.

Risultati. I soggetti in studio non hanno presentato recidive cliniche ovvero fallimento alla terapia antiaggregante. I valori di APR non sono risultati correlati né all'età né al sesso. In tutti i nostri pazienti abbiamo riscontrato APR inferiore al 30 % per gli stimoli utilizzati. Non abbiamo trovato differenze statisticamente significative tra i pazienti trattati con ASA 100 e ASA 300 mg mentre si è evidenziata maggior APR in vitro nei pazienti trattati con Clopidogrel rispetto a quelli trattati con ASA, studiati con i rispettivi agonisti specifici.

Discussione e Conclusioni. Nel nostro campione, seppur numericamente limitato, ma scelto con selettivi criteri di inclusione e indagato con specifici metodi di laboratorio, non abbiamo riscontrato né "resistenza" in vitro né fallimento clinico alla terapia antiaggregante.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO PER LA CREATININA PLASMATICA NELLA POPOLAZIONE AFFERENTE ALL'OSPEDALE DI BOLZANO

B-17

F. Rizza, M. Tait, M. Floreani, I. Pusceddu, S. Toso, G. Cosio, M. Daves

Laboratorio di Biochimica Clinica, Ospedale di Bolzano

Scopo del lavoro: per la corretta interpretazione degli esami di laboratorio è necessario confrontare i parametri ottenuti con dei riferimenti che permettano un giudizio e conseguentemente un corretta azione clinica. Teoricamente il confronto dovrebbe essere fatto con almeno cinque strumenti di comparazione: valutazioni biodinamiche, valori di riferimento individuali, differenze critiche, livelli decisionali e valori di riferimento (IR) collettivi. I valori di riferimento individuali risultano difficili da ottenere, mentre è possibile per ogni laboratorio calcolare i valori collettivi della propria popolazione. Nel nostro lavoro abbiamo calcolato l'IR della creatinina, differenziato per sesso, nella popolazione adulta afferente al nostro laboratorio.

Materiali e metodo: popolazione di 240 soggetti con età compresa tra 18 e 63 anni, in parte donatori di sangue e in parte soggetti in buone condizioni di salute, non bevitori e non in terapia farmacologica. Tale popolazione comprendeva 120 femmine, età media 40 ± 11 anni e 120 maschi, età media 40 ± 10.7 anni. Il calcolo dei nuovi IR si è basato sulle indicazioni fornite dal Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI C28-A3). Le determinazioni sono state eseguite su analizzatore Olympus AU2700 con metodo colorimetrico cinetico (metodo di Jaffé modificato).

Risultati. I soggetti di sesso femminile hanno presentato valori di creatinina tra 0.7 e 1.2 mg/dl (media 0.94 ± 0.1), quelli di sesso maschile tra 0.78 e 1.38 mg/dl (media 1.09 ± 0.11). Secondo le indicazioni fornite dal Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI C28-A3) l'IR per le donne risulta compreso tra 0.74 e 1.17 mg/dl (Intervallo di Confidenza (IC) 90% per limite inferiore compreso tra 0.70 e 0.78; e per limite alto tra 1.11 e 1.20). L'IR per gli uomini risulta compreso tra 0.86 e 1.32 mg/dl (IC 90% per limite inferiore compreso tra 0.78 e 0.92 e per limite superiore tra 1.27 e 1.38).

Discussione e conclusioni: L'importanza di valutare direttamente gli IR sta nel fatto che i valori sono ottenuti dalla popolazione afferente al laboratorio e i risultati sono ottenuti dai metodi, strumenti e con le procedure utilizzate dal laboratorio stesso. Nel confronto con gli IR fornito dalla ditta fornitrice del metodo si evidenziano delle differenze (IR per le donne 0.5-1.1; IR per gli uomini 0.7-1.3 mg/dl) anche se in questo caso tali differenze non sembrano raggiungere particolare importanza dal punto di vista clinico soprattutto per la sovrapposibilità dei limiti superiori dell'intervallo. Rimane comunque importante che il laboratorio adotti delle procedure di verifica degli IR se si decide di utilizzare quelli forniti direttamente dall'industria.

PREVALENZA DI MUTAZIONI GENETICHE A VALENZA PROTROMBOTICA IN SOGGETTI CON INFARTO MIOCARDICO ACUTO

B-18

G. Antonucci, S. Antonaci, E. Criscuolo

UOC Medicina di Laboratorio – Azienda Ospedaliera San Giovanni- Addolorata, Roma

Scopo dello studio: valutare l'incidenza della mutazione del FV G1691A (FV Leiden) e della mutazione della protrombina G20210A in soggetti selezionati affetti da IMA

Materiali e metodi: sono stati studiati 150 pazienti, ricoverati in UTIC con diagnosi di IMA, di entrambi i sessi (106 uomini e 54 donne) di età compresa tra 28 e 79 anni, con età media 55. Lo studio delle mutazioni è stato effettuato con kit commerciale (ViennaLab), basato su isolamento del DNA, amplificazione tramite PCR ed ibridazione inversa su striscia.

Risultati: 6 soggetti, pari al 4% del totale sono risultati eterozigoti per il FV Leiden e 2 soggetti pari a 1,33% hanno presentato la mutazione G20210A della protrombina allo stato eterozigote.

Discussione e conclusioni: i risultati ottenuti sono in linea con quanto descritto in letteratura relativamente all'incidenza delle mutazioni in esame in soggetti affetti. Il dato interessante è che dei 6 soggetti eterozigoti per il FV Leiden 4 al momento della comparsa dell'IMA avevano un'età inferiore a 45 anni. I due soggetti con mutazione della protrombina G20210A avevano entrambi 70 anni. Alla luce dei dati ottenuti si può ipotizzare un ruolo di concausa per IMA del FV Leiden nei soggetti giovani, come peraltro già rilevato in studi precedenti, mentre nei soggetti anziani il ruolo svolto dalla presenza di mutazioni sembra essere decisamente meno importante rispetto a quello svolto dai maggiori fattori di rischio cardiovascolare.

Bibliografia

Dacosta A, Tardy-Poncet B, Isaaz K et al. Prevalence of factor V Leiden and other inherited thrombophilias in young patients with myocardial infarction and normal coronary arteries. Heart 1998; 80:338-340
 Van de Water NS, French JK, Lund M, Hyde TA, White HD, Browett PJ. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin variant G20210A in patients <50 years with no significant stenosis at angiography three or four weeks after myocardial infarction. J Am Coll Card 2000;36:717-22

APOE GENOTYPES IN DIALYSIS PATIENTS WITH NEUROLOGICAL COMPLICATIONS**B-19**

E. Galloni², V. De Riva², V. Corradi^{1,3}, A. Panagiotou^{1,3}, M. Marcon², L. Meligrana², A. Brendolan¹, C. Crepaldi², D.N. Cruz^{1,3}, F. Perini², C. Ronco^{1,3}

¹Nephrology, San Bortolo Hospital, Vicenza, Italy; ²Neurology, San Bortolo Hospital, Vicenza, Italy, ³IRRV, International Renal Research Institute Vicenza, Vicenza, Italy

Aim of the study: Neurological complications are common among patients with CKD stage V. Patients (pts) in Renal Replacement Therapy (RRT) are more likely to have cognitive impairment than non CKD-pts. Alterations in cognitive function suggestive of Alzheimer-type dementia can occur in CKD-stage V pts and usually is in combination with vasculopathy. Three different alleles (2, 3, 4) of Apolipoprotein (Apo) E gene locus encode for 3 different protein isoforms (ApoE2, ApoE3, ApoE4). Homozygosity for E2 is associated with the genetic disorder of type III Hyperlipoproteinemia. The presence of E4 has been implicated in AD and impaired cognitive function. The purpose of this study is to determine a possible genetic correlation between the ApoE and neurological disorders in dialysis patients.

Methods: Genomic DNA was obtained from leukocytes in venous blood samples. Apo E genotypes were based on the reverse-hybridization (INNO-LiPA typing APOE test, INNOGENETICS s.r.l.). We analyzed 10 dialysis pts with neurological disorders (8 Hemodialysis and 2 Peritoneal dialysis) compared to 10 AD pts and 10 controls. Diagnosis of AD was based on NINDS criteria. Clinical evaluation for all other groups was based on computerized tomography, neuropsychological and neurological tests.

Results: We identified genotype ApoE 3/3 in all pts of dialysis group (age 73.11 10.41; 10M), except one pt showing ApoE 3/4. In AD group (73.90 6.97; 4M) four pts had ApoE 3/4, three ApoE 3/2 and three ApoE 3/3. In the control group (73.90 7.43; 7M) one pt showed ApoE 3/4, one ApoE 3/2 and the remaining pts ApoE 3/3.

Conclusions: In our study we found no genetic correlation in dialysis pts with neurological complications for the ApoE. Moreover, unexpectedly we did not identify genotype ApoE 2/2. Although the sample was small, our data suggest a dialysis vascular related pathogenesis of dementia. Further investigations must be done.

RICERCA DI CHLAMYDIA TRACHOMATIS IN UN OTTICA DI MEDICINA DI LABORATORIO PREDITTIVA PERSONALIZZATA PREVENTIVA E PARTECIPATA**B-20**

G. Audisio¹, D. Cauchi Inglott¹, G. Orso Giaccone¹, L. Gianotti² e coll.

¹Laboratorio Analisi Rivoli A.S.L.TO3 - ²Consultori A.S.L. TO3

Scopo del lavoro. Rilevato che nel territorio dell'ASLTO3, i dati di prevalenza hanno evidenziato nelle giovani donne un aumento esponenziale del patogeno (dal 2.84% nel 2004 al 10,89 % nel 2008) e rilevato che 28,2% delle positive si è dichiarata asintomatica è stata proposta la ricerca del patogeno alle donne con età ≤ 24 anni che si presentavano nei consultori territoriali a cui di norma non sarebbe stato fatto nessun esame cervico-vaginale. Il progetto è iniziato a gennaio 2010 ed è tutt'ora in corso.

Materiali e Metodi. Grazie alla partecipazione dei ginecologici sono stati distribuiti idonei di tamponi prelievo, sacchetti per il trasporto dei campioni biologici e due questionari differenti (uno più articolato indagava anche sulle protezioni adottate nei vari tipi di rapporti); le donne, su base volontaria, sono state invitate a compilarli in modo anonimo. Era compito del ginecologo scegliere, in base alla sua valutazione personalizzata della paziente (minorenne, ecc) quale dei due questionari proporre. I campioni sono stati analizzati utilizzando la metodica BD ProbeTec ET (Becton Dickinson) che, per la determinazione del DNA amplificato, usa la tecnologia Strand Displacement Amplification.

Risultati. Sono stati analizzati 344 campioni. La prevalenza media è stata del 4,9% (6,7% per le straniere); si conferma un maggior prevalenza in chi ha avuto il primo rapporto in età precoce (14 anni), e, come ovvio, in chi ha avuto maggior numero di partner occasionali (> 2), più partner negli ultimi sei mesi (>2) e complessivi (> 5). Si evidenzia anche una più alta positività in chi ha dichiarato di praticare rapporti orali (10,6% contro 2,2%) e rapporti anali (26,3% contro 5%), in chi fa uso di sostanze stupefacenti (17,6% contro 4,3%) e in chi dichiara di essere bisessuale (33,3%). La diversa scolarità non presenta differenze significative.

Discussioni e Conclusioni. Considerando che, per gli eccessivi costi, non è proponibile uno screening nelle giovani donne, in una ottica di una preventiva attenzione al rischio di infertilità e di una maggior predittività dei soggetti a rischio (dai nostri dati il condom viene usato nel 15,6% dei casi, spesso - 86% - o saltuariamente o durante il rapporto) tenendo conto che il partner è di solito asintomatico (99 %) anche in un ottica di prevenzione per HIV (più del 70% delle positive non ha fatto il test) riteniamo che sempre più il ginecologo non debba fermare l'attenzione sulla presenza o meno della sintomatologia nelle sue pazienti ma indagare, con una accurata anamnesi, i loro comportamenti sessuali. Utile la creazione, territorialmente, di un servizio ambulatoriale che si occupi delle IST per ulteriori accertamenti nelle positive.

FREQUENZE RELATIVE DI POLIMORFISMI ASSOCIATI A TROMBOFILIA NELL'AREA DEL GARDA BRESCIANO

B-21

O. Valentini, S. Cresceri, L. Pasetti, S. Signorini, A. Todeschi, B. Milanese

Laboratori di Patologia Clinica, A. O. di Desenzano del Garda

Scopo del lavoro. Dal giugno 2009 a oggi abbiamo esaminato per polimorfismi associati a trombofilia 476 pazienti dell'area del Garda bresciano. Per ogni singolo paziente sono state ricercate tutte le seguenti varianti geniche: F II G20210A, FV Leiden G1691A, FV A5279G (Y1702C), MTHFR C677T, MTHFR A1298C, per un totale di 2380 singole analisi genotipiche. I dati raccolti possono a nostro avviso fornire un quadro, per quanto solo orientativo, delle frequenze relative di tali polimorfismi nella popolazione per la quale è stato formulato il quesito di trombofilia.

Materiali e Metodi. Abbiamo utilizzato il kit commerciale "BioDect Pannello Coagulazione" della Biodiversity. Tale sistema prevede l'amplificazione mediante PCR real-time con sonde a idrolisi (metodo TaqMan) di cinque sequenze geniche corrispondenti alle sopraelencate varianti. La reazione amplificativa è condotta in parallelo su cinque distinte miscele, ognuna specifica per un singolo sito polimorfico; in ogni miscela sono presenti la sonda di rivelazione marcata per la specifica sequenza variante e la sonda per il corrispondente allele normale.

Risultati. Dei 476 soggetti genotipizzati, 31 sono risultati omozigoti per gli alleli normali su tutti e cinque i siti analizzati. La variante G20210A del gene della protrombina è stata riscontrata, sempre in eterozigosi, in 28 soggetti (in 24 casi associata ad altri polimorfismi, in soli 4 casi non associata). La variante Leiden G1691A per Fattore V è risultata presente in 27 soggetti (2 omozigoti e 25 eterozigoti), associata ad altri polimorfismi in 26 casi e solo in un caso non associata. La variante A5279G (Y1702C) per Fattore V non è stata da noi finora osservata. E' risultata elevatissima invece la frequenza delle varianti geniche C677T e A1298C per metilentetraidrofollato-reduttasi (omozigosi C677T in 92 casi; eterozigosi C677T in 89; omozigosi A1298C in 36; eterozigosi A1298C in 61; doppia eterozigosi per entrambe le varianti in 114). Non è stato osservato nessun caso di omozigosi per una delle due varianti con eterozigosi per l'altra variante. Varianti MTHFR sono state osservate in associazione con FII G20210A in 23 casi e con FV Leiden in 25 casi. L'associazione FII G20210A con FV Leiden è stata riscontrata in due casi.

Conclusioni. Polimorfismi per MTHFR sono stati riscontrati in 439 dei 476 soggetti genotipizzati, mentre per FII G20210A e FV Leiden la frequenza di riscontro è stata rispettivamente di 28/476 e 27/476: tali frequenze relative appaiono compatibili con quelle riportate in letteratura. Da un'analisi preliminare ci sembra che all'elevata frequenza di varianti MTHFR non corrisponda un'altrettanto elevata frequenza di iperomocisteinemia, responsabile ultima del rischio trombotico, e ciò induce a pensare che quest'ultima (che meglio correla con la clinica) possa rappresentare un'informazione più utile e meno costosa ai fini della valutazione del rischio. Dai dati di distribuzione sopra riportati emerge inoltre che le due varianti MTHFR sono di norma presenti in trans, mentre la loro presenza in cis sembra essere quanto meno estremamente rara.

A NEW AND EASY WAY TO MOLECULAR TESTING

B-22

M. Gramegna, A. Moiana

Sentinel CH, SpA, Milano (Italy)

Objectives. Sentinel Ch. has recently developed the new STAT NAT proprietary freeze-drying system for the manufacturing of ready-to-use PCR master mixes. Usually the PCR mixes need to be stored at -20°C or + 2/8 °C. This means request for refrigerators and freezers in the labs, and controlled temperature in case of shipment. The new system is able to maintain the activity of the mix with no loss of performances at room temperature. The aim of the present study is to evaluate the performances of the freeze-dried mixes in some molecular applications for research or diagnostic laboratories.

Design and Methods. Each test tube contains reaction buffer, dNTPs, MgCl₂, Hot Start Polymerase, preservatives and stabilizers in the freeze-dried form. The mixes are manufactured in a ready-to-use format with all the necessary components already included, also the enzyme. The storage of the mix is at room temperature. The system is evaluated using internally developed qualitative PCR tests for Leishmania (single test) and Malaria (multiplex test) by the use of Veriti thermal cycler (Applied Biosystems). Quantitative Real Time PCR tests for genetic diseases were evaluated by the use of 7500 Real Time apparatus (Applied Biosystems). Amplified products were analyzed by electrophoresis on a 2% agarose gels. Downstream sequencing was also done for some applications.

Results. The system showed very good performances and accuracy for the evaluated applications. For each application we compared the new system with the liquid standard assays in use in our laboratory. The freeze-dried form guaranteed high quality standard of PCR products, eliminating the presence of conventional additive that could disturb and delay the purification step, and generating good amounts of amplified products for downstream sequencing analysis.

In particular, regarding the freeze-dried form, it showed a rapid purification step, shorter than commonly needed, and a high quality standard of purified PCR products necessary for direct sequencing.

Conclusions. In conclusion, the ready-to-use format and the room temperature storage, allows an easy and useful employ in different molecular applications and requirements, reducing the time needed for preparation of the amplification mix, and reducing risk of contamination. The new system demonstrates to be a very powerful and universal tool for a wide range of applications and a valuable basis for the development of molecular diagnostic tests.

GENOTIPI 53 E 66 DI HPV: GENOTIPI A RISCHIO INTERMEDIO?**B-23****O. Valentini, S. Cresceri, C. Pasini, A. Torri¹, P. Fontana¹, S. Signorini, L. Pasetti, B. Milanese**Laboratori di Patologia Clinica e di Anatomia Patologica¹, A. O. di Desenzano del Garda

Scopo del lavoro. I genotipi 53 e 66 di HPV (specie 6, genere alfa) sono stati variamente classificati come a basso rischio (LR), ad alto rischio (HR), o a probabile alto rischio. Riportando i quadri istologici e citologici ad essi associati, abbiamo inteso fornire un contributo, sia pur modesto, ai fini di meglio valutare il loro potenziale lesivo.

Materiali e Metodi. Per l'analisi genotipica abbiamo utilizzato i kit commerciali "AlphaStrip HPV" della Alphagenics Diaco Biotechnologies e INNO-LiPA HPV Genotyping Extra, caratterizzati da elevata sensibilità e specificità per entrambi i genotipi.

Risultati. Dei 3700 campioni finora analizzati 1331(36.0%) sono risultati negativi e 2369(64.0%) positivi per HPV: di questi ultimi 1440(38.9) per un singolo genotipo e 929(25.1) per due o più genotipi, per un totale di 3257 genotipi identificati. Il genotipo 53 è stato riscontrato in 254 casi (10.7% dei positivi): in 156 casi era associato con genotipi ad alto rischio (HR), in 7 casi associato con il genotipo 66 (2 ASCUS, 1 LSIL, 3LSIL-CIN1, 1 CIN3), in 18 casi con genotipi a basso rischio, LR, (8 ASCUS, 1 LSIL, 6 CIN1, 1 CIN2/3, 1 con Pap test negativo, 1 n.d., ossia senza dati del Pap test), in 1 caso associato a 66+LR (n.d.) e in 71 casi non associato (9 con Pap test negativo, 24ASCUS, 9 LSIL, 2 LSIL-CIN1, 18 CIN1, 1 CIN1/2, 1CIN2, 1 CIN3, 2 biopsie borderline, 4 n.d.). Il genotipo 66 è stato riscontrato in 214 casi (9.0%): in 127 casi era associato con genotipi HR, in 7 casi associato a 53, in 6 casi con genotipi LR (2 ASCUS, 2 LSIL, 2 CIN1), in 1 caso associato a 53+LR e in 73 casi non associato (2 n.d., 7 con Pap test negativo, 28 ASCUS, 8 LSIL, 10 LSIL-CIN1, 18 CIN1).

Conclusioni. Nei casi con morfologia documentata in cui ciascun genotipo risultava come unico agente infettante (67 casi per il 53 e 71 casi per il 66) il rapporto numerico tra quadri con lesioni di basso grado e quadri citologici negativi o di incerto significato (ASCUS) era pari a 34/33 per il genotipo 53 (per il quale sono documentati anche 2 casi di displasia moderata) e pari a 36/35 per il genotipo 66. Nei 7 casi di confezione 53+66 il rapporto era pari a 5/2. La non trascurabile azione lesiva di questi genotipi, quale emerge dai risultati sopra riportati, sembra essere in linea con quella documentata in altri studi (Gynecologic Oncology 110 (2008) 179-184). Entrambi i genotipi appaiono essere spesso associati a quadri di LSIL e ciò suggerisce un'azione lesiva superiore a quella dei genotipi classificati come LR. La prevalenza dei genotipi 53 e 66 nei cervicocarcinomi (SCC) risulta però essere assai bassa (rapporto SSC/LSIL compreso tra 0.01 e 0.07). La loro collocazione in una categoria di rischio intermedio appare perciò pienamente compatibile con i dati finora emersi.

GENOTIPIZZAZIONE DI HPV: RISULTATI OTTENUTI CON DUE DIFFERENTI SISTEMI ANALITICI**B-24****O. Valentini, S. Cresceri, C. Pasini, L. Pasetti, S. Signorini, A. Todeschi, B. Milanese**Laboratori di Patologia Clinica e di Anatomia Patologica¹, A. O. di Desenzano del Garda

Scopo del lavoro. Mentre per vari anni abbiamo effettuato l'analisi genotipica di HPV utilizzando il kit commerciale "AlphaStrip HPV" della Alphagenics Diaco Biotechnologies, da circa un anno stiamo impiegando il sistema INNO-LiPA HPV Genotyping Extra della Innogenetics. Abbiamo inteso comparare le prevalenze genotipiche ottenute con i due differenti sistemi d'analisi.

Materiali e Metodi. Il sistema analitico Alphagenics, nelle versioni I e II, è stato da noi utilizzato tra il 2005 e il 2009, il sistema INNO-LiPA dal 2009 ad oggi.

Risultati. Con Alphagenics sono stati analizzati 3118 campioni, di cui 1103(35.4%) negativi e 2015(64.6%) positivi per HPV: di questi ultimi 1210(38.8) per un singolo genotipo e 805(25.8) per due o più genotipi, per un totale di 2768 genotipi identificati. I campioni analizzati con INNO-LiPA sono stati 609: 233(38.3) negativi, 243(39.9) positivi per singolo genotipo e 133(21.8) positivi per più genotipi, per un totale di 524 genotipi identificati. Tra i genotipi ad alto o medio rischio oncogeno si sono osservate le seguenti frequenze percentuali, espresse come rapporto tra numero di pazienti positive per uno specifico genotipo e numero totale di pazienti HPV-positive: genotipo 16(27.5% con Alphagenics/21.3% con INNO-LiPA); 31(14.4/13.3); 58(11.8/8.8); 53(10.9/9.6); 66(9.0/9.3); 18(8.8/5.6); 59(6.3/1.1); 52(5.4/8.8); 35(5.2/1.3); 56(5.2/5.1); 33(4.8/4.2); 45(3.9/2.4); 73(3.6/1.6); 39(3.4/4.5); 51(3.4/12.5); 82(2.2/1.9); 68(1.1/2.4); 26(0.3/0.0). Tra i genotipi a basso rischio l'ordine di frequenza è risultato il seguente: genotipo 54(7.5/2.9); 42(6.0/-); 6(4.6/4.8); 61(4.4/-); 70(3.6/2.4); 40(2.8/0.8); 34(1.5/-); 11(1.3/1.6); 44(1.0/2.7); 43(0.8/0.3); 69(0.0/-); 74(-/5.9); gruppo 69/71(-/2.7); gruppo 40/42/69(9.1/-); gruppo 43/61/70(6.4/-).

Conclusioni. Alcuni genotipi non erano identificabili singolarmente, ma solo come gruppo (genotipi 69 e 71 con INNO-LiPA e genotipi 40,42,69 e 43,61,70 nella versione II di Alphagenics). Altri genotipi erano identificati solo da Alphagenics (34,42,61,78) o solo da INNO-LiPA (74). La concordanza nei risultati ottenuti con i due diversi sistemi ci appare essere complessivamente piuttosto buona, con due eccezioni rappresentate dal genotipo 59, che mostra una frequenza maggiore con Alphagenics (6.3% contro 1.1%), e soprattutto dal genotipo 51, la cui frequenza percentuale risulta decisamente più elevata con INNO-LiPA (12.5% contro 3.4%), tanto da renderlo il terzo genotipo più frequente dopo il 16 e il 31. Ovviamente si tratta solo di dati preliminari, che non consentono conclusioni certe, ma che potrebbero indurre ad approfondimenti, anche in relazione all'importanza che riveste la determinazione di prevalenza dei genotipi non vaccinali ai fini dell'eventuale impiego di vaccini di seconda generazione e della loro formulazione.

CASE REPORT: INFEZIONE URINARIA DOVUTA A STREPTOCOCCUS ANGINOSUS: IL SUCCESSO DELLO SCREENING AUTOMATIZZATO DELLE BATTERIURIE

C-01

C. Boito, F. Bassetto, A. Gaio, L. Nemetz, M. Ramon, D. Signori

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia-Ospedale S.Maria del Prato Ulss 2 Feltre (Bl)

Introduzione: Lo screening delle batteriurie mediante citofluorimetro viene eseguito nella nostra struttura fin dal 2007, inizialmente con UF100 (Sysmex), sostituito dal 2009 con UF1000i, ed è integrato con l'esame chimico-fisico delle urine eseguito con Clinitek-Atlas (Siemens). I campioni per i quali è richiesta urinocoltura, dopo valutazione dei grafici, sono sottoposti ad esame colturale quando viene superata una delle seguenti soglie: batteri 150/μL, leucociti 100/μL e miceti 40/μL. I dati citofluorimetrici dei campioni positivi allo screening costituiscono integrazione alla successiva lettura delle piastre.

Scopo: Viene esposto il caso di una donna di 54 anni, con sintomatologia tipica di IVU, che presentava positività dei parametri urinari (leucocituria, batteriuria e lieve ematuria) e citofluorimetrici, con grafici suggestivi per presenza di batteri Gram positivi. Le urine sottoposte a coltura mostravano inspiegabile negatività: ciò ha condotto a riesame e a modifica dell'iter colturale.

Materiali e metodi: Il campione di urina del mattino, ottenuto da mitto intermedio in contenitore sterile, è stato analizzato entro un'ora dalla raccolta con UF1000i (Sysmex). 10/μL di urina sono stati seminati in terreno cromogeno CPS ID3 (bioMerieux), incubato in aerobiosi a 37°C overnight. Successivamente con lo stesso campione, sono state allestite colture in agar CNA e PVX, incubate in microaerofilia per 24 ore a 37°C. L'identificazione è stata effettuata con ID32 STREP e il saggio di antibioticosensibilità con ATB STREP (BioMerieux).

Risultati: Il campione urinario presentava all'analisi citofluorimetrica 597/μL leucociti, 17/μL eritrociti e 21648/μL batteri e un valore di B-FSC pari a 74ch, indicativa della presenza di Gram positivi. La semina in CPS ID3 non ha presentato alcuna crescita microbica. La semina in CNA e PVX ha invece consentito la crescita in monocultura di tipiche colonie di streptococchi, identificate come *S. anginosus*, in carica microbica pari a 106 UFC/mL, con resistenza a eritromicina e tetraciclina. Un ulteriore campione ha confermato i risultati.

Discussione e conclusioni: Il caso presentato indica come l'attenta comparazione dei risultati dell'esame colturale con i dati ottenuti dall'analisi citofluorimetrica contribuisca in modo rilevante all'isolamento di microrganismi causa di IVU. Lo screening citofluorimetrico urinario si dimostra non solo un ausilio che aumenta l'efficienza diagnostica e diminuisce il tempo di risposta, ma costituisce anche uno strumento che integra l'esame colturale, indirizzando la scelta dei terreni più idonei all'isolamento batterico con personalizzazione delle indagini.

AUTOMAZIONE DELL'AREA CHIMICA-IMMUNOMETRIA NEL LABORATORIO DI CHIOGGIA

C-02

G. Gessoni, S. Valverde, L. Penzo, O. Boscolo, D. Ciardulli, L. Gianni, S. Boscolo, E. Traubio, F. Antico

Servizio di Medicina di Laboratorio Chioggia

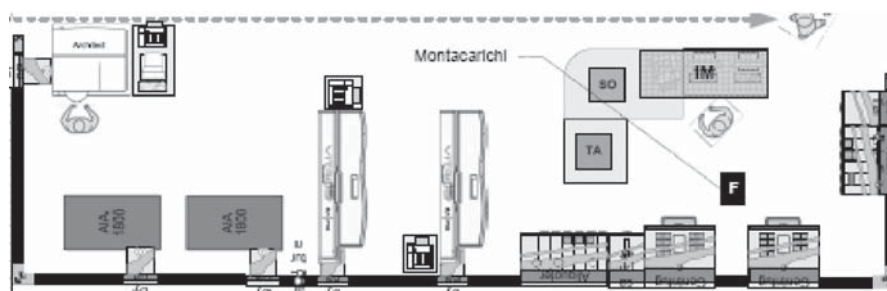
Introduzione. Il Laboratorio dell'Ospedale di Chioggia ha riorganizzato la medicina di laboratorio per migliorare il rapporto con l'utenza, obiettivo raggiunto attraverso la riduzione dei tempi di attesa e l'abbattimento dei costi.

Materiali e Metodi. Per raggiungere tale obiettivo, la Direzione ha scelto di valersi di specifiche sinergie con Aziende partner: EnGen, Johnson & Johnson, Abbott e Tosoh con cui è stato allestito e realizzato il progetto illustrato.

Risultati. E' stata allestita una stazione di pre-analitica (input-output, doppia centrifuga, decapper, aliquotatore) che serve tutto il Laboratorio. Inoltre è stata costituita una area ad elevata automazione che riunisce le linee di Chimica Clinica ed Immunometria con analizzatori collegati da un sistema di track.

Discussione: Grazie ad un'automazione elevata (strumenti assestati su una catena), governata da sistemi esperti e processi ottimizzati, il Laboratorio è in grado di lavorare con tempi di processazione brevi, così da assimilare attività di routine e le urgenze. Abbiamo inoltre avuto una sostanziale indipendenza dall'apporto idrico e una riduzione del volume dei rifiuti da smaltire.

Figura: Area Chimica-Immunometria



TAO: GESTIONE ON-LINE DEL CQI SU TECNOLOGIA POCT

C-03

M. Margioni, E. Migali

Lab. Analisi Osp. S. Donato ASL 8 Arezzo

Scopo. Obiettivo del Progetto TAO Unico Logico ASL8 era: "ogni attività di medicina di laboratorio, ovunque venga effettuata, su tecnologia POCT deve essere gestita sotto la responsabilità del laboratorio di riferimento nel rispetto, e con verifica continua, della qualità e dei requisiti previsti in materia di accreditamento. La strumentazione POCT deve essere collegata on line al LIS, che può garantire l'attività di supervisione e controllo, con particolare attenzione alla qualità dei risultati analitici". Pertanto il CQI sulla strumentazione POCT-TAO deve essere speculare a quello attivo sulla strumentazione in uso.

Materiali. La tecnologia di comunicazione informatica è stata realizzata in modalità WebService con linguaggio XML sfruttando l'infrastruttura aziendale. La tecnologia TAO è CoaguchekXS (figura 1).

Conclusioni. Per garantire l'obiettivo del progetto, il collegamento informatico previsto ha integrato diversi sistemi gestionali: CUP e Anagrafe Sanitaria, LIS, TAO Net, UnityRT. Lo scambio d'informazione sulle singole piattaforme avviene in < > e senza intervento dell'operatore se non per la fase analitica.

Fig.1. A distanza di alcuni mesi di attività si può confermare che la gestione on-line del CQI dei POCT-TAO garantisce il monitoraggio continuo e a distanza della strumentazione da parte del laboratorio applicando le stesse regole di validazione.



TECNOLOGIA E QUALITÀ

C-04

C. Scarone, R. Scarso, F. Minetti

Dipartimento di Patologia Clinica - Laboratorio Analisi - Ospedale San Paolo - Savona - ASL 2 Savonese

Scopo del lavoro. Presso il Laboratorio Analisi dell'Ospedale San Paolo, è stato attivato un sistema di gestione delle strumentazioni, apparecchiature e dispositivi biomedici in dotazione al Laboratorio Analisi.

Materiali e metodi. La gestione della dotazione strumentale di un Laboratorio è complessa, richiede un approccio multidisciplinare per garantire gli standard qualitativi delle prestazioni e la conformità ai requisiti. Il percorso di miglioramento più volte ripianificato, è stato integrato mediante implementazione di software dedicato.

Steps:

- identificazione strumenti: biomedicali, analitici, non analitici, di misura, del sistema informativo. Catalogazione mediante schede identificative prima cartacee, poi elettroniche. Ad ogni dispositivo è stato attribuito il codice univoco ATC.
- documentazione strumenti: capitolato d'acquisto, verbale di installazione e collaudo, manuali a corredo dello strumento. Nel settore di utilizzo è presente un compendio semplificato d'uso ad integrazione del manuale.
- formazione per utilizzo adeguato strumenti: dei tecnici di laboratorio dedicati alla strumentazione e del dirigente responsabile del settore effettuata secondo la destinazione d'uso dello strumento da parte di personale esperto della ditta produttrice
- controllo strumenti e metodiche: utilizzato un indicatore di controllo del processo analitico (Controllo di Qualità Interno e Valutazione Esterna di Qualità)
- gestione routinaria strumenti: attuata tramite pianificazione della manutenzione preventiva programmata per ogni strumento con definizione del tipo di intervento, frequenza, responsabilità e verifica di esecuzione; pianificazione della taratura a fronte di campioni di riferimento nazionali ed internazionali, ove applicabile.

• gestione manutenzione correttiva a seguito di guasti strumentali: a corredo di ogni apparecchiatura si è creata una cartella, prima cartacea e poi informatica, nella quale vengono registrati i dati relativi ad ogni intervento di manutenzione effettuato.

Risultati. Queste attività, in concerto con la S.C. Gestione Impianti ed Apparecchiature, hanno permesso di raggiungere vari obiettivi: dopo implementazione del modulo web centralizzazione delle chiamate; immediata consultazione della documentazione necessaria per la gestione routinaria, anche online 24h/24; evidenza della programmazione ed esecuzione degli interventi di manutenzione, anche online, 24h/24.

Discussione e conclusioni. Tutta l'attività è stata effettuata in applicazione del punto 7.6 prima della norma ISO 9001:2000 e poi della norma ISO 9001:2008 "Tenuta sotto controllo delle apparecchiature di monitoraggio e misurazione", e della Raccomandazione n°9 del Ministero della Salute "Prevenzione degli eventi avversi conseguenti al malfunzionamento dei dispositivi medici/apparecchi elettromedicali". L'attività implementata ha permesso, una migliore raccolta dati e successiva elaborazione in merito agli interventi effettuati (analisi dei guasti per strumentazione, congruità degli interventi di manutenzione, ect.); i dati relativi alla manutenzione correttiva permettono di elaborare alcuni indicatori come il tempo medio di fermo macchina, la frequenza dei guasti, i costi di manutenzione.

UNA STRADA PERCORRIBILE: LA DIAGNOSTICA SEMPRE PIÙ VICINA AL CLINICO

C-05

C. Scarone, R. Scarso, F. Minetti

Dipartimento di Patologia Clinica – Laboratorio Analisi — Ospedale San Paolo – Savona – ASL 2 Savonese

Scopo del lavoro. La ASL2 “Savonese”, su input del Dipartimento di Patologia Clinica, ha implementato un Clinical Patient Repository (CPR) che costituisca la base per la gestione del processo di cura e permetta all’intera struttura sanitaria di evolvere verso nuovi traguardi di efficienza ed efficacia.

Materiali e metodi. La realizzazione del progetto è stata attuata utilizzando GALILEO (conosciuto a livello internazionale come e-health.solutions) distribuito in Italia dalla ditta NOEMALIFE, programma realizzato con tecnologia di ultima generazione (Java), utilizzante protocolli di comunicazione interna (HL7 e DICOM) come interfacce standard. I referti dei servizi di diagnostica, in formato PDF, sono visualizzabili e stampabili utilizzando GALILEO. Per ora sono consultabili i referti dei laboratori analisi e del servizio di immunoematologia. In un secondo tempo sarà possibile effettuare l’integrazione anche con altri sistemi e permettere, quindi, la visualizzazione di referti di anatomia patologica, radiologici (solo successivamente anche le immagini radiografiche), cardiologici, ecc. Obiettivo principale dell’implementazione del CPR è permettere a tutti i Medici della ASL2 (delle Strutture Ospedaliere e Territoriali e Medici di Medicina Generale) coinvolti nel trattamento del paziente sia a livello diagnostico che a livello terapeutico di avere accesso ai suoi dati e poter visualizzare, in tempo reale, i referti di tutti gli accertamenti diagnostici recenti e passati, eseguiti in qualsiasi dei 4 presidi ospedalieri dell’ASL. La privacy dei pazienti sarà rispettata perché, naturalmente, la consultazione dei dati potrà avvenire solo previa verifica dei diritti specifici degli utenti.

Risultati. Con l’implementazione del CPR abbiamo raggiunto obiettivi di natura economica e, soprattutto, di miglioramento dell’efficienza medica: i clinici possono operare con un livello di professionalità superiore ottenendo risposte rapide ed accurate con risparmio di risorse umane e riduzione dei tempi di degenza. Il TAT (Turn Around Time) è stato ridotto del 30-60% rispetto al sistema precedente che prevedeva la stampa dei referti in Laboratorio Analisi, lo smistamento e il recapito degli stessi. I tempi si riducono ancora di più per i clinici degli ospedali di Pietra Ligure, Cairo Montenotte e Albenga che distano dall’Ospedale di Savona 30 e 45 Km. dove il recapito del cartaceo necessitava di 24-48 ore.

Discussione e Conclusioni. L’implementazione del CPR così come l’applicazione pratica della Information Technology, ha prodotto indubbi vantaggi in termini di efficienza e di produttività del lavoro ma, come per tutte le innovazioni, è stato necessario trasmettere agli utilizzatori questa consapevolezza, vincendo timori e resistenze al cambiamento. Per portare la diagnostica sempre più vicina al clinico, nell’interesse del paziente, abbiamo dovuto fare interventi capillari di formazione specifica perché il nuovo approccio alla consultazione dei referti venisse accettato, assimilato, utilizzato. Grazie a questa implementazione tecnologica il Laboratorio Analisi, che pure ha “un rapporto indiretto con il paziente” ha contribuito efficacemente ad un MIGLIORAMENTO QUALITATIVO DELLE CURE MEDICHE.

SI PUO’ TRADURRE WORKLOAD IN ITALIANO? IL CASO DEL SETTORE BATTERIOLOGIA

C-06

G. Saccani¹, D. Piccoli¹, S. Becciolini², M. Caputo¹

¹Unità Operativa Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologiche Bussolengo VR, ²Gene-Sys Poggia a Caiano PO

Scopo del lavoro: L’analisi dei carichi di lavoro ha assunto un ruolo fondamentale nel nuovo assetto organizzativo e allocazione delle risorse di personale; rappresenta un importante strumento di gestione organizzativa, utile in aziende ove la risorsa umana rappresenta il maggior capitale, in termini di professionalità, e la fonte di maggiore costo economico. Si è utilizzato questo strumento per riorganizzare l’attività nel settore Batteriologia valutando come l’introduzione di un sistema automatizzato abbia modificato e permesso l’implementazione di nuove attività. Gran parte delle energie che si applicano all’atto del ricevimento dei campioni biologici costituiscono un’attività lavorativa talvolta ripetitiva che impegna un’importante quota di forza lavoro a scapito di quella che dovrebbe essere la funzione principale di tutti i laboratori clinici: l’individuazione del reale quesito diagnostico e l’eventuale proposta di indagini alternative o supplementari per dirimere il quesito clinico.

Materiali e Metodi: Sono stati valutati attività e flussi di lavoro attraverso il sistema informatico Td-synergy Siemens con la successiva elaborazione dei dati ottenuti con “controllo di qualità sui processi diagnostici” GENE.SYS nel periodo 2007-2010 suddiviso per trimestri. Elementi metodologici dell’analisi ed entità fisica che esprimono la quantità di lavoro: tempo speso sul lavoro, attività istituzionali, prodotti.

Risultati: Nella valutazione del carico di lavoro si sono rilevate: sistema manuale 2.4 FTE coinvolte e 87% del personale coinvolto; sistema semi-automatico 2.4 FTE e 36.70% del personale; sistema automatico 2.4 FTE e 28.01% del personale. Si sono poi valutati i minuti uomo/test impiegati con i tre sistemi adottati: 1.27 con sistema manuale, 0.41 con semi-automatico, 0.37 con automatico.

Conclusioni: L’analisi del carico di lavoro è un fondamentale punto di riferimento per la razionalizzazione dei servizi, nella ricerca di migliori equilibri tra efficienza e qualità degli stessi. La determinazione dei carichi di lavoro nelle Unità Operative permette di realizzare economie di costo sugli output dei singoli processi; migliorare la soddisfazione e motivazione del personale; supportare efficacemente i progetti di cambiamento organizzativo; migliorare le metodologie e gli strumenti di misura della produttività e i criteri di dimensionamento standard. Nella nostra piccola applicazione abbiamo visto come il passaggio da un sistema completamente manuale, in fase pre-analitica, ad uno completamente automatizzato abbia reso possibile la ridistribuzione della forza lavoro garantendo al contempo e una maggiore qualità del processo e l’introduzione di nuove metodologie analitiche migliorando la soddisfazione degli operatori.

EDUCAZIONE, FORMAZIONE E RESPONSABILIZZAZIONE DEL PERSONALE INFERMIERISTICO E TECNICO ALLA FASE PRE-ANALITICA DEGLI ESAMI CLINICI DI LABORATORIO

C-07

F. Manoni, L. Fornasiero, E. Buggio¹, T. Zorzan, K. Guerra, C. Vigato, A. Galzignato, G. Ditta, P. Costantin, E. Belluco, M. Ercolin

Servizio Medicina di Laboratorio Este-Monselice Az. ULSS17 Regione Veneto; ¹Responsabile Servizio Infermieristico ULSS17

Scopo del lavoro. I risultati degli esami di Laboratorio sono determinanti nell'ambito del ragionamento clinico, della presa di decisioni e nel monitoraggio terapeutico. Secondo la definizione accettata dalla ISO, è definito in termini di errore di Laboratorio ogni difetto dalla prescrizione dell'esame alla sua refertazione. La maggior parte degli errori fino al 60-70% scaturisce nella fase preanalitica, diventa quindi importante iniziare percorsi di valutazione inerenti le competenze. La fase preanalitica porta l'Infermiere a contatto con il paziente ed è caratterizzata fondamentalmente da: identificazione del paziente, delle analisi richieste e dei contenitori, prelievo e raccolta dei campioni, trasporto e ricevimento.

Materiali e metodi. Il test composto da 60 quesiti suddivisi in gruppi: a) modalità di preparazione del paziente al prelievo (11); b) identificazione delle analisi, dei contenitori e dei materiali di supporto (13); c) modalità di prelievo e raccolta in sicurezza (31); conservazione con possibilità di aggiunta additivi, trasporto e check-in (5). Il questionario è stato somministrato a seguito di un corso teorico pratico inerente l'introduzione di nuovi dispositivi per il prelievo in sicurezza. Hanno partecipato 314 Infermieri e 16 Tecnici di 40 strutture operative per un totale di 18459 risposte.

Risultati. Risposte: gruppo A: soddisfacenti n. 2374 (66,35%), non soddisfacenti 1164 (33,65%); gruppo B: soddisfacenti 2056 (53,40%), non soddisfacenti 1794 (46,6%); Gruppo C: soddisfacenti 6660 (65,78%), non soddisfacenti 3463 (34,22%); gruppo D: soddisfacenti n° 1048 (66,75%), non soddisfacenti 522 (33,25%). Dalla elaborazione dei singoli quesiti risulta che il 65,35% sono corretti ed esauritivi, mentre il 34,65% richiedono degli approfondimenti.

Discussione e conclusioni. L'analisi di questa indagine evidenzia la necessità di migliorare la concordanza operativa fra operatori, realizzando meccanismi più robusti tipo percorsi mirati per reparto che abbiano il loro fondamento su percorsi culturali di formazione sul campo condivisi. L'obiettivo finale è il miglioramento dei risultati degli esami clinici dei pazienti a seguito di una fase pre-analitica eseguita correttamente secondo le procedure operative certificate ISO 15189 del MediLab. Perché se si dimentica questo aspetto e ci si focalizza soprattutto su conoscenze teoriche, si rischia di trasformare l'azienda sanitaria in un'università, innalzando la cultura interna, ma senza ottenere risultati concreti.

CONSOLIDAMENTO DI CORELAB: RICADUTE ORGANIZZATIVE SULL'ATTIVITÀ DI REPARTO

C-08

R. Giannecchini, F. Santoni, R. Toscano, R. Gori, S. Busini, L.A. Rizzi, R. Lari

U.O. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, A.S.L. 3 Pistoia

Introduzione. L'ASL 3 Pistoia ha un bacino di utenza di circa 270.000 abitanti con tre stabilimenti ospedalieri, che nel 2009 hanno prodotto complessivamente 4.849.048 esami nelle unità operative di laboratorio di Pistoia (UO analisi chimico-cliniche; UO microbiologia; laboratorio analisi del Dipartimento di Emergenza e Urgenza), Pescia (UO analisi chimico-cliniche e microbiologiche) e San Marcello (Sezione analisi chimico-cliniche).

Scopo. Proposizione del modello organizzativo dei LA aziendali dell'ASL 3 Pistoia, adottato implementando una tecnologia che ne migliori le performance gestionali in isorisorse, secondo la Delibera Quadro varata dalla Regione Toscana in materia (Del. n° 313 del 07-05-2007).

Materiali e metodi. Prima della riorganizzazione, non esisteva un meccanismo di presa in carico della singola prenotazione, né il riscontro positivo della presenza delle varie provette - fino a 9 per paziente - costituenti la richiesta. Si è realizzato il parziale riadattamento tecnologico di alcuni settori (ematologia, coagulazione, etc.), a fronte di una profonda rivisitazione dei settori di chimica clinica (CC) ed immunometria (IA). L'analisi Turn Around Time per 241 giorni lavorativi (1/9/2009-30/4/2010) è stata eseguita mediante il middleware LabItUp Millennium (MLM), che genera grafici TAT di esecuzione strumentale (e) o validazione (v). Selezione possibile: singoli reparti, test, routine, urgenze; modifiche alla scala temporale per migliore visualizzazione; box con tutte le informazioni relative al numero di rilevazioni elaborate, percentili delle distribuzioni orarie, valori minimo, medio, massimo ed eventuali outlier.

Risultati. Contrazione del numero di tubi primari per singolo paziente: al massimo cinque. A Pistoia e a Pescia adozione di sistema di check-in automatizzato per la routine (Mut HCTS 2000 MK2) ad elevata produttività (circa 2000 tubi/ora) interfacciato con il LIS tramite MLM. Il percorso urgenze è differente dalla routine per garantire monitoraggio permanente alle varie fasi di elaborazione, pur avendo con essa il minimo comune denominatore nelle fasi analitiche. Esami CC e IA processati in parallelo mediante modulo di integrazione Beckman Coulter UniCel Closed-Tube Aliquotter. Seguono esempi di risultati analisi TAT. TAT e ALT: totale (T) n=16808 mediana (m)=16', routine (R) n=4096 m=48', urgenze (U) n=12712 m=15'; CHOL T n=40004 m=48', R=39998 m=48', U n=6 m=34'; GLU T n=66007 m=21', R n=47988 m=25', U n=18019 m=5'; Troponina (TnI) T n=10325 m=16', R n=96 m=18', U n=10229 m=16'. TAT UTIC uomini T n=863 m e=19' m v=19'; R n=170 m e=48' m v=53'; U n=693 m e=18' m v=18'. TAT MED1 uomini T n=2205 m e=20' m v=20'; R n=1078 m e=48' m v=48'; U n=1127 m e=18' m v=18'.

Discussione e conclusioni: L'effetto del consolidamento dell'area siero ha determinato una serie di eventi a cascata da cui è scaturito un rimodellamento parziale o totale delle tecnologie in uso e dell'organizzazione gestionale dell'unità operativa. L'adozione delle tecnologie integrate di corelab si è dimostrata essere il "grimaldello funzionale" per un'operazione di aggiornamento tecnologico professionale e culturale ottenuti senza impatto negativo sull'organizzazione e sul personale.

TRALI IMMUNE DA ANTICORPI. PROPOSTA DI NUOVO PROTOCOLLO NELLA ASSEGNAZIONE DEGLI EMOCOMPONENTI PER LA PREVENZIONE DELLE REAZIONI TRASFUSIONALI

C-09

L. Manisco¹, M. Viganò², A. Lama², P. Prandini³, F. Santangelo¹, L. Bettoni¹, B. Milanesi⁴

¹SIMT, A.O Desenzano, Manerbio; ²SIMT, A.O Desenzano, Desenzano; ³SIMT, A.O Desenzano, Gavardo; ⁴Dipartimento Medicina di Laboratorio, A.O Desenzano, Desenzano

Scopo del lavoro. Una paziente ricoverata in ottobre 2009 per anemia acuta da metrorragia sviluppa durante l'infusione della seconda unità di emazie povere di leucociti una insufficienza polmonare progressiva con dispnea ed ipossia (SpO₂=80%). Il dato radiologico evidenzia edema polmonare bilaterale con ombra cardiaca normale. La paziente viene trattata con ossigeno terapia, corticosteroidi e adrenalina. Il giorno seguente si ha un miglioramento della sintomatologia con SpO₂=95% e RX torace normale. La pronta segnalazione della reazione trasfusionale in attuazione del sistema di emovigilanza operativo ha portato alla diagnosi di possibile TRALI. Lo studio del caso ha rivelato un anticorpo anti HLA di classe I nella paziente con positività del test di linfocito-tossicità verso i linfociti dei donatori delle due unità di emazie trasfuse

Materiali e Metodi. Applicazione del protocollo di emovigilanza in attuazione del decreto legge 207/2007 e del programma di emovigilanza. Utilizzo dell'iter diagnostico proposto dalla Consensus Conference di Toronto del 2004 per la diagnosi di TRALI.

Risultati. La tempestiva segnalazione di reazione trasfusionale acuta polmonare ha attivato ulteriori accertamenti (saturazione ossigeno e Rx torace). Le indagini di laboratorio sulla paziente e sulle due unità trasfuse hanno riscontrato che i donatori corrispondenti erano maschi, mai trasfusi e negativi per anticorpi anti HLA; inoltre le unità trasfuse erano relativamente fresche rendendo meno probabile la patogenesi da lipidi attivi nelle emazie trasfuse. La paziente è risultata positiva per anticorpi anti HLA di classe I ed il cross match con i leucociti dei donatori era positivo. Pertanto è stata posta diagnosi di TRALI associata ad anticorpi anti HLA nella paziente

Discussione e conclusioni. La condivisione delle procedure di emovigilanza con i Reparti ha consentito la segnalazione della reazione trasfusionale. Le indagini poi hanno permesso di classificare la reazione come TRALI immune da anticorpi del paziente contro i leucociti dei donatori. La diagnosi di TRALI è stata posta seguendo le indicazioni della Consensus Conference di Toronto del 2004. Dopo tale episodio è stato aggiornato il protocollo della prevenzione della TRALI che, oltre l'esclusione dell'utilizzo di plasma da donatrici femmine, prevede l'utilizzo di emazie e piastrine filtrate, per le pazienti con pregresse gravidanze e/o aborti.

PERCORSO FORMATIVO PER L'ABILITAZIONE DEL PERSONALE DI REPARTO ALL'UTILIZZO DI UN SISTEMA DI SICUREZZA AL LETTO DEL PAZIENTE

C-10

L. Manisco¹, M. Viganò¹, A. Lama¹, F. Santangelo¹, P. Prandini¹, L. Bettoni¹, B. Milanesi²

¹SIMT, Azienda Ospedaliera Desenzano del Garda, Desenzano Del Garda; ²Dipartimento Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Desenzano del Garda, Desenzano Del Garda

Scopo del lavoro. Nel Febbraio 2009 l'A.O di Desenzano del Garda ha deliberato l'adozione di un sistema per la sicurezza trasfusionale al posto letto in grado di consentire il riconoscimento certo del Paziente, dell'Operatore, la tracciabilità dei dati inerenti il prelievo del campione per gli esami pretrasfusionali e la trasfusione dell'emocomponente. Ciò ha condotto il Servizio di Immunoematologia e Medicina trasfusionale, in collaborazione con il Servizio di Formazione e Aggiornamento Aziendale, a predisporre un piano formativo per gli Operatori (Personale Medico e Infermieristico) dei 41 Reparti presenti nei 3 Presidi dell'A.O.

Materiali e metodi. Il piano di formazione e addestramento, previsto nell'arco di tempo compreso tra Aprile e Novembre 2009, si è composto di:

- 40 edizioni di un corso teorico, della durata di 2 ore con l'obbligo di frequenza, rivolto a non più di 30 Operatori per edizione. Durante il corso sono state illustrate ai partecipanti le cogente del processo trasfusionale, le conseguenze che gli errori trasfusionali possono avere ed è stato presentato il dispositivo elettronico adottato (Securblood, Fresenius-BBS)
- corso pratico svolto in ciascun Reparto che progressivamente ha implementato il sistema, in cui ogni Operatore ha dovuto esercitarsi ed acquisire competenza all'utilizzo in tutte le sue fasi.

Risultati. Il corso teorico svolto ha visto la partecipazione complessiva di 843 Operatori (92,2% dei convocati). Il corso pratico è stato svolto ad oggi in 18 Reparti (10 Desenzano-Lonato, 4 Manerbio-Leno, 4 Gavardo-Salò). Al termine del corso pratico a ciascun Reparto è stata consegnata la Procedura Aziendale "Utilizzo del sistema di sicurezza trasfusionale al posto letto", mentre a ciascun partecipante è stato consegnato un promemoria d'uso tascabile e una procedura riassuntiva dei principali aspetti critici del processo con riferimento a cosa fare e cosa non fare. Per ogni Operatore è stata inoltre compilata una scheda di formazione che costituisce un'abilitazione all'utilizzo del dispositivo

Discussione e Conclusioni. La formazione così predisposta in una realtà distribuita su più Presidi come la nostra ha richiesto e richiede sicuramente un grosso sforzo da parte del SIMT in termini di impegno del Personale Laureato nel seguire e realizzare il piano formativo, ma è stata una valida garanzia di reale capacità di gestione del sistema di sicurezza per i Reparti che già lo utilizzano e per i restanti che lo utilizzeranno (implementazione completa aziendale entro 2010).

8 MESI DI FIRMA DIGITALE AUTOMATICA NEL LABORATORIO UNICO DI AREA VASTA ROMAGNA

C-11

V. Ventura¹, L. Morotti², L. Vascotto², R.M. Dorizzi¹

¹Corelab; ²Settore Informatico, Laboratorio Unico di AVR, Cesena (FC)

Scopo del lavoro. Le 4 AUSL della Romagna servono 7 ospedali e circa un milione di abitanti che vivono in 70 comuni. Le tappe del programma di Patologia Clinica di Area Vasta Romagna (AVR) sono state: 1) 2007-2008: implementazione di un LIS unico collegato agli order entry delle aziende, capace di mettere a disposizione, in tempo reale, i risultati analitici in qualsiasi punto del territorio; 2) 2009: attivazione del laboratorio di riferimento in località Pievesestina di Cesena, in un punto baricentrico della Romagna (circa 16000000 di esami/anno) ed attivazione di 7 Laboratori a Risposta Rapida (LRR) con un pannello di circa trenta analiti. Lo scopo dello studio era quello di progettare e sperimentare un'organizzazione capace di superare la presenza notturna dei dirigenti nei LRR.

Materiali e metodi. I 7 LRR eseguono prestazioni urgenti e in linea veloce, per pazienti ospedalizzati, con turni di lavoro H 24 dei tecnici. Nei 4 LRR era prevista la presenza H 24 di un dirigente per la validazione clinica dei referti. Il LIS (DNLAB, Noemalife, Bologna) è corredato da software aggiuntivi come il sistema esperto PROMETEO, DN Signature per apporre sia firme digitali manuali che automatiche tramite BBF che custodisce, in una scheda crittografica HSM, le chiavi ed i certificati dei direttori delle unità operative deputati alla firma dei referti che la BBF sottoscrive appena completati.

Risultati. Il sistema esperto, basato su regole di patologia, accettabilità, delta check e plausibilità in funzione di età, sesso e reparti richiedenti, un'istruzione operativa seguita dal tecnico nei casi di non rilascio automatico dei dati da parte di PROMETEO e la BBF, che appone al referto la firma digitale automatica, hanno consentito, nel gennaio 2010, il superamento della presenza notturna del dirigente. Dopo quella data infatti, anche nei 4 LRR principali è rimasta la presenza notturna del solo tecnico di laboratorio che chiama il dirigente per l'esecuzione di esami come liquor e malaria, in casi di dati analitici bloccati dalle regole del sistema esperto e non riconducibili a quelli previsti nell'istruzione operativa o per consulenze ai reparti.

Discussione e Conclusioni. L'acquisizione di un LIS unico di laboratorio corredato da un sistema esperto configurabile con regole diverse in funzione del reparto richiedente e l'utilizzo della BBF per la firma digitale automatizzata ha consentito di: 1) superare la presenza notturna del dirigente nei LRR sostituendola con la pronta disponibilità; 2) mantenere il servizio H 24 con solo personale tecnico; 3) sottoscrivere i referti di laboratorio con la firma digitale automatica del direttore dell'unità operativa che ha eseguito l'esame; 4) far risparmiare complessivamente alle 4 AUSL circa 800000 euro/anno.

LA MAPPATURA DELLE COMPETENZE DEL TECNICO SANITARIO DI LABORATORIO BIOMEDICO PRESSO UN LABORATORIO DI IMMUNOMETRIA

C-12

L. Pecoraro, C. Defranceschi, A. Goldin, E. Maggioni, E. Toffalori, C. Tovazzi¹

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica Pergine Valsugana - APSS Trento; ¹Dirigente Servizio Infermieristico - APSS Trento

Scopo. Produrre una mappatura delle competenze contestuali del Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomedico (TSLB) dell'Unità Operativa di Patologia Clinica di Immunometria di Pergine Valsugana. L'obiettivo è di ottenere uno strumento che possa essere in seguito utilizzato sia per la progettazione di piani d'inserimento del personale neoassunto, sia per effettuare una valutazione delle competenze possedute dai collaboratori. Inoltre può essere strumento facilitatore per il personale al fine di identificare le aree di carenza e di miglioramento del proprio sviluppo individuale.

Materiali e metodi. L'attività si è svolta in un laboratorio specialistico con un settore Ormoni, un settore Marcatori Tumorali, un settore dosaggi RIA, un settore accettazione e check-in campioni provenienti da tutto il Trentino. Per eseguire la mappatura delle competenze è stato utilizzato il modello proposto da W. Levati, poiché già utilizzato dall'APSS di TN per altri ruoli sanitari. Per mappare le competenze sono state seguite le seguenti tappe: rilevazione delle attività attraverso l'analisi del contesto; individuazione dei comportamenti assunti dai TSLB in base alla specifica attività concretamente svolta all'interno del contesto e necessaria per svolgere il proprio lavoro quotidiano. I comportamenti assunti erano rappresentati dagli elementi visibili e oggettivamente osservabili; definizione delle conoscenze come elemento di supporto e di sviluppo dei comportamenti (comprendono l'aspetto teorico che permette di applicare strumenti, tecniche e metodologie applicative che consentono di gestire e trovare soluzioni); individuazione delle capacità che sottendono i comportamenti.

È stato coinvolto tutto il personale tecnico e laureato del laboratorio sia nella fase di rilevamento che nella fase di approvazione e verifica.

Risultati. La mappa è stata prodotta in forma di tabella, una per ciascuna macro area di attività: area accettazione campioni; area esecuzione analisi manuali (RIA); area esecuzione analisi automatizzate.

Ogni tabella è stata a sua volta suddivisa in due parti: una parte contenente l'elenco dei comportamenti che compongono l'attività; una parte contenente le competenze, suddivise in conoscenze e capacità.

Conclusioni. Con la mappatura prodotta si ritiene di aver definito le competenze necessarie per tutte le attività svolte dal TSLB e richieste dal contesto. È stato così possibile avere a disposizione una lista base di competenze documentata e condivisa, utilizzabile per identificare necessità di miglioramento personale e per progettare piani di inserimento del personale neoassunto.

DIAGNOSTICA E FOLLOW UP DEI PAZIENTI CON GAMMOPATIA MONOCLONALE DI SIGNIFICATO INCERTO (MGUS) NEGLI AMBULATORI DI MEDICINA GENERALE

C-13

R. Tarozzi, G. Patelli, L. Casolari, V. Solfrini, A.M. Cenci, T. Trenti

AUSL Modena

Introduzione. La Gammopatia Monoclonale di Incerto Significato (MGUS) è una condizione di proliferazione clonale ancora sotto controllo delle plasmacellule, che evolve piuttosto raramente in mieloma multiplo di vario grado. La progressione verso la malattia è funzione di: tipo di componente monoclonale (CM), sua quantità, rapporto nel siero tra le catene leggere libere k/λ (FLC ratio), numero di plasmacellule midollari; segni di danno d'organo (CRAB: ipercalcemia, insufficienza renale, anemia, coinvolgimento osseo). Nella casistica della Mayo Clinic, la più ampia in letteratura, la % di progressione osservata a 25 anni è del 11.2%; con un livello annuale stimato tra 1% e 1.5%.

Scopo. Creazione di un nuovo modello organizzativo in diagnosi e follow up delle MGUS presso gli ambulatori di medicina generale della provincia di Modena, che consenta di evidenziare i pazienti ad alto rischio di progressione e che porti ad un accesso più appropriato agli ambulatori specialistici. Valutazione dell'impatto dell'utilizzo del nuovo percorso di monitoraggio dei parametri di rischio di progressione, comprendente anche il dosaggio nel siero delle catene libere leggere e loro FLC ratio.

Materiali e metodi. Attivazione della metodica di dosaggio su siero delle catene leggere libere e della FLC ratio con kit Radim Freelite™ Kappa Free e Lambda Free, in nefelometria su strumentazione Radim DELTA. Verifica della stessa e della concordanza con gli stadi di malattia su sieri da sieroteca (26 portatori di MGUS: IgG 10k e 3λ, IgA 2k e 2λ, IgM 4k e 1λ, doppia IgA-λ 2, doppia IgA e G-λ 1).

Risultati. Del progetto, ad oggi, risultano compiute: informazione e formazione degli attori (MMG, specialisti clinici e di laboratorio), costruzione del percorso ed attivazione della metodica per le catene leggere libere.

Per la valutazione di quest'ultima è stata verificata in Laboratorio la performance del test attraverso la concordanza con i risultati ottenuti nei sieri conosciuti, in coerenza con gli stadi di malattia e la presenza di Bence Jones nelle urine (in 10 casi dei casi esaminati).

Discussione e conclusioni. Il progetto, avviato, prevede:

- inclusione nello studio di tutti i pazienti con MGUS;
 - formalizzazione del gruppo multidisciplinare e multiprofessionale di conduzione;
 - introduzione nel catalogo delle prestazioni di laboratorio del dosaggio FLC ratio nel siero;
 - verifica del percorso clinico-diagnostico e degli indicatori (processo ed esito) con loro monitoraggio nel tempo.
- Il piano esecutivo è in fase di realizzazione anche grazie ai fondi assegnati all'AUSL di Modena attraverso la partecipazione al bando del programma di incentivazione alla Modernizzazione dell'Agenzia sanitaria della regione Emilia Romagna.

APPLICABILITÀ DEL TEST BRAHMS COPEPTIN KRYPTOR NEL LABORATORIO DI URGENZA

C-14

G. Gasparri, L. Olivieri, M. Santini¹, C. Pacia, S. Pierini, M.R. Metelli, P. Pietrini

UO Analisi Chimico Cliniche Specializzate – Az. Ospedaliero Universitaria Pisana – Pisa; ¹DEA Pronto Soccorso e Medicina d'Urgenza – AOUP – Pisa

Introduzione. Recentemente, molte molecole associate a patologie miocardiche acute sono state proposte come marcatori per la diagnosi precoce di infarto. Molte di esse hanno mostrato una scarsa sensibilità o specificità, altre hanno metodi di dosaggio inefficienti o poco applicabili in urgenza. Il dosaggio della copeptina, un marcatore assai precoce di danno miocardico, associato alla troponina è stato indicato utile nella diagnosi di esclusione di infarto in fase iniziale e predittivo dell'outcome funzionale cardiaco post-ischemico. Il test BRAHMS Copeptin è un kit in immunofluorescenza, studiato per lo strumento automatizzato Kryptor, che dosa il peptide C-terminale precursore dell'arginina vasopressina (copeptina) nel siero e plasma umano trattato con EDTA o eparina.

Scopo. Verificare gli aspetti tecnico-metodologici del test BRAHMS Copeptin Kryptor in assoluto ed alla luce delle necessità di un Laboratorio che opera nel campo dell'emergenza/urgenza

Metodi. Il dosaggio della copeptina è stato effettuato su 83 pz. con dolore toracico in osservazione al DEA, per una valutazione clinica del test, e nel contempo sono stati effettuate prove per la valutazione della sua applicabilità in un laboratorio di urgenza.

Risultati. Il CV intra-s è risultato 13,3 per valori intorno al cut-off (15 pmol/L), ma si riduce a 2,0 per valori chiaramente positivi (100 pmol/L); i rispettivi CV inter-s sono 13,8 e 2,4. Aggiunte progressive di Hb non hanno dato interferenza, con variazioni inferiori al 10% fino ad una concentrazione di Hb di 800 mg/dL. La calibrazione è risultata stabile nel periodo indicato dal produttore (15gg), con controlli sempre nel range di accettabilità. Il tempo di esecuzione da strumento inattivo è risultato di 21', con la produzione successiva di un risultato ogni 1'. Test effettuati a tempi successivi sui medesimi campioni conservati a T ambiente hanno mostrato un incremento medio a 3h del 25%, con un picco di crescita alla seconda ora. Nell'arco della sperimentazione lo strumento non ha mostrato criticità di alcun tipo.

Conclusioni. Nella nostra esperienza, la precisione dei dosaggio è stata superiore a quella indicata. Stabilità della metodica, velocità di esecuzione, ampia tipologia di campione ben si inseriscono in una attività di urgenza. La mancanza di interferenza da Hb è importante, perché assai spesso i campioni prelevati tramite ago-cannula al Pronto Soccorso sono affetti da emolisi. L'innalzamento dei valori nel tempo è in contrasto con la stabilità della copeptina in vitro descritta in letteratura e, pur non rilevante in un servizio di urgenza, suggerisce una attenta gestione dei campioni ed un dosaggio comunque nell'arco dei 60'.

LA GESTIONE INFORMATIZZATA DEL MAGAZZINO DI LABORATORIO NEL MONITORAGGIO DEI COSTI EFFETTIVI

C-15

A. Fortunato, G. Secco, G. Soffiati

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" - Vicenza

Scopo del lavoro. La disponibilità di strumenti informatici adeguati per la gestione dei processi logistici all'interno dei moderni laboratori, oltre a consentire la conoscenza istantanea delle scorte disponibili e la soddisfazione di quanto previsto dalle norme del Sistema Qualità circa la tracciabilità dei lotti di reagenti utilizzati nelle singole sedute analitiche (ISO 15189:2007 - 4.13.3), rende possibile la valutazione effettiva dei costi complessivi delle determinazioni effettuate. Nel nostro Laboratorio sono state valutate le nuove potenzialità di un programma commerciale, normalmente utilizzato per la gestione degli approvvigionamenti, che è stato aggiornato con un modulo che consente di ripartire l'incidenza di tutti i costi generali e dei materiali comuni tenendo conto della struttura organizzativa del laboratorio e della tipologia di processi analitici (schema riportato in tabella)

Materiali e metodi. E' stato utilizzato il software DinamicoACT (EOS – Cervarese S. Croce, PD) nella versione 1.14 per valutare i costi dell'anno 2009, analizzando i movimenti di carico e scarico relativi a 1440 prodotti differenti e la produzione di 550.000 referti. I dati relativi al numero di referti per parametro sono stati estratti dal LIS e tabulati in un file Excel con i costi generali dei singoli livelli organizzativi. Il software analizza automaticamente tale file e ad essi associa i dati delle quantità di reagenti e materiali, con i relativi costi, acquisiti ed utilizzati nel periodo di tempo in esame.

Risultati e conclusioni. Oltre ai dati dei costi reali dei singoli test, il dato più interessante è la conoscenza dell'indice di efficienza delle confezioni dei reagenti, che nella nostra esperienza varia dal 22 al 91%, consentendo di effettuare le opportune valutazioni organizzative.

Definizione organizzazione		Input dati		Output dati	
Livello 1	• Area	• N° totale determinazioni /area	• Costi generali area	Incidenza/test costi generali area	
Livello 2	• Settore	• N° totale determinazioni /settore	• Costi generali settore	Incidenza/test costi generali settore	
Livello 3	• Posto di lavoro	• N° totale determinazioni /posto di lavoro	• Costi generali posto di lavoro • Dati acquisti	Incidenza/test costi generali posto di lavoro	Incidenza/test costi reagenti posto di lavoro
Livello 4	• Test refertato 1 • Test refertato 2 • Test refertato 3	• N° totale referti 1 • N° totale referti 2 • N° totale referti 3	• N° test/conf 1 • N° test/conf 2 • N° test/conf 3	Indice di efficienza /confezione	Costo/test finale

LA FORMAZIONE FINALIZZATA AL MIGLIORAMENTO ORGANIZZATIVO: L'ESPERIENZA DEL CORSO FORMATIVO: "LA DIAGNOSTICA TUBERCOLARE IN URGENZA"

C-16

E. Stacchini, A. Ferrini

Dipartimento di Patologia Clinica, ASL TO4, Ivrea

Scopo del lavoro: La tubercolosi (tbc) rappresenta ad oggi un problema infettivo rilevante causa l'aumento dell'età media della popolazione, l'immigrazione e i facili spostamenti fra continenti. Una diagnosi rapida può favorire terapie pronte e mirate e precoci isolamenti, riducendo i casi e i costi sanitari. Spesso, in patologie polmonari ad eziologia misconosciuta, viene chiesto al Laboratorio di escludere la patologia tubercolare. Le linee guida sulla diagnostica tubercolare (Mandler 1999) indicano una TAT di 24 ore per la ricerca di bacilli alcool-acido resistenti (BAAR) in urgenza. Il personale di microbiologia può essere carente per coprire le richieste urgenti. Per ciò abbiamo organizzato un corso di addestramento per la ricerca BAAR con colorazione Ziehl-Neelsen.

Materiali e metodi: Il corso era rivolto a Medici, Biologi e Tecnici del Laboratorio Analisi Ivrea-Cuorgnè 1, in 2 edizioni e nelle due sedi del Laboratorio; 16 le ore formative in 4 mesi, di cui l'80% di addestramento con tutor. 16 i crediti ECM assegnati. Il progetto ha previsto Indicatori di 4 livelli di valutazione.

Risultati: Il corso è in itinere. Le lezioni frontali hanno soddisfatto l'acquisizione di conoscenze su clinica, prevenzione e diagnostica di Laboratorio della tbc; l'attenzione in aula è stata molto alta. L'addestramento sul campo ha seguito due linee differenziate: tecnico-operativa (Tecnici) e valutativa microscopica (Medici e Biologi). Partecipazione e gradimento risultano elevati da un 1° livello di valutazione in corso.

Discussione e conclusioni: Una formazione strumento del cambiamento organizzativo non può prescindere dalla committenza del Direttore di Laboratorio, in ordine ai bisogni dell'Utenza rilevati e deve essere finalizzata al miglioramento dell'outcome clinico. La verifica a distanza dell'indicatore del cambiamento organizzativo (TAT: 24 ore per la ricerca urgente di BAAR) ci permetterà di valutare l'efficacia formativa al 4° livello. Studi sull'outcome clinico: terapia rapida, mirata, precoce isolamento, diminuzione costi etc., consentiranno di valutare il 5° livello. Dal punto di vista formativo si evidenziano benefici e criticità. Le ultime riguardano l'elevato impegno sul campo dei tutor e una complessità organizzativa, causa la difficoltà a ritagliare spazi per l'addestramento all'interno dell'attività routinaria. I benefici rilevati vanno a favore non solo del paziente, riducendo la TAT, ma anche del personale (ampliando le competenze tecnico-scientifiche individuali) e dell'organizzazione, favorendo una maggiore integrazione tra settori di Laboratorio. Nella nostra realtà la formazione si sta rivelando mezzo strategico per migliorare anche aspetti relazionali, rafforzando lo spirito d'equipe e superando le naturali resistenze al cambiamento.

PIANIFICAZIONE DI UN PROCESSO TOTAL LAB AUTOMATION: CORELAB-URGENZE E POCT**C-17****M. Morandini, D. Rubin, D. Poz, M. Toffolutti, P. Doretto, P. Cappelletti**

Laboratorio di SC Patologia Clinica, DML, Azienda Ospedaliera "S.Maria degli Angeli", Pordenone

Premessa. Il laboratorio di Patologia Clinica ha pianificato una nuova organizzazione delle attività del Corelab attraverso una gara conclusasi nel gennaio 2010. I contenuti della riorganizzazione e il cronoprogramma sono stati condivisi con il gruppo di lavoro e costantemente monitorati fino alla loro realizzazione.

Scopo del lavoro. Riportare i dati relativi alla riorganizzazione funzionale e al cronoprogramma della stessa secondo la gestione per processi.

Materiali e metodi. Il processo di riorganizzazione prevede il consolidamento e la concentrazione in una Labcell degli esami ematochimici ed ematologici e l'integrazione del personale su turno 12+24 ore. Le 14 fasi previste di lavoro previste dal cronoprogramma impegnano complessivamente 9 mesi, di cui 4 di babysitting. La formazione e l'addestramento dei TSLB è stata suddivisa in 2 fasi, la prima di preparazione teorica e l'altra di gestione operativa del processo corelab.

Le fasi sono state monitorate con riunioni programmate col personale e i tecnici di sistema.

Risultati. L'avvio della riorganizzazione è avvenuto in aprile 2010 e si concluderà a fine ottobre. Seguirà il periodo di babysitting. L'implementazione ha raggiunto la fase 11, l'installazione del modulo di ematologia è rinviato di 1 mese rispetto al previsto. Rispetto al cronoprogramma iniziale vi sono stati ritardi iniziali causati da verifiche documentali richieste dall'Ufficio Tecnico e successivamente dalla non disponibilità di nuovi analizzatori di ematologia. La formazione teorica dei TSLB è stata completata, mentre l'addestramento operativo sulle nuove apparecchiature è all'70%.

Discussione e conclusioni. Attualmente la realizzazione del progetto è all'80%, la conclusione prevista sarà rispettata nonostante lo slittamento di una fase. È in via di completamento l'addestramento specifico dei TSLB gestori di sistema. Lo stato di avanzamento delle fasi è stato monitorato con riunioni settimanali del gruppo TSLB e dirigenti Corelab, nelle fasi iniziali, fino all'operatività della Labcell e successivamente a cadenza quindicinale. Le criticità rilevate di ogni singola fase sono state affrontate e risolte. Le criticità emerse durante le riunioni sono state immediatamente risolte con la collaborazione dei tecnici specialisti. L'ottimizzazione dell'area di lavoro e la concentrazione di esami di specialità differenti consentono già nello stato attuale una riduzione dei tempi di risposta. Il nuovo modello organizzativo ha visto la concentrazione di 110 test e la cadenza giornaliera di esecuzione di esami a bassa numerosità, la gestione unica e centralizzata delle verifiche tecniche e del processo da parte dei TSLB.

LE SPECIFICHE DI QUALITÀ ATTRAVERSO UN PROCESSO CONTINUO DI MISURAZIONE MEDIANTE CONFRONTO DI TIPO BENCHMARKING DIVENTA CAPOSALDO DELLA QUALITÀ DEGLI ESAMI CLINICI DI LABORATORIO**C-18****F. Manoni, L. Fornasiero, A. Tinello, V. Temporin, J. Bountis, S. Mingardo, T. Zorzan, K. Guerra, A. Robbiati, S. Previato, M. Pavanello, M. Nequinio, M. Dalla Muta, E. Giraldo, C. Vigato, V. Cantarello, G. Casarotto, E. Belluco, P. Zavattiero, I. Secondin**

Servizio Medicina di Laboratorio Este-Monselice ULSS17 Regione Veneto

Scopo. Il sempre più crescente interesse e fermento attorno alle specifiche di qualità potrebbero far pensare che la loro misurazione sia ormai uno strumento rodato e conosciuto, ma purtroppo non è affatto così. Infatti, sebbene la letteratura tecnica abbondi di esempi e la teoria, così come i principi che stanno alla base della misurazione siano conosciuti, l'attuazione pratica rimane poco espressa. Nel nostro Laboratorio abbiamo intrapreso una misurazione continua del grado di raggiungimento degli obiettivi analitici attivando un benchmarking rispetto alle prestazioni precedentemente ottenute.

Materiali e metodi. Dal 2007 tale risposta si concretizza nell'analisi del "trend delle specifiche di qualità", che evidenzia la tendenza, la direzione e l'evoluzione complessiva analizzate nei vari settori e riportate in tabella: 1) analita; 2) il CV% dell'anno in corso; 3) la differenza tra il CV% del 2008 rispetto al 2009; 4) la differenza tra il CV% del 2009 rispetto al 2010; 5) la variabilità biologica individuale; 6) CVw ottimale; 7) CVw desiderabile; 8) CVw minimo; 9) traguardo raggiunto; 10) differenza critica.

Risultati. Traguardo analitico complessivo: Ottimali: 49,5%. Desiderabili: 42,1%. Minimi: 6,2%. Insufficienti 1,2%. Trend rispetto al 2009, positivo: 17,3%, stabile: 78,4%, negativo: 2,3%.

Imprecisione analitica: CVa% da 0,1 – 5,0: 115 analiti (77,8%); da 5,1 - 10,0: 30 analiti (20,2%); da 10,1 a 15: 3 analiti (2,0%).

Discussione e conclusioni. Il tentativo è di mettere in pratica una visione d'insieme articolata su fasi successive, risulta pertanto uno strumento utile per indirizzare gli sforzi di ciascun operatore verso il miglioramento delle prestazioni e garantire un insieme di attività e di misurazioni integrate e progettate a vari livelli nell'organizzazione del Laboratorio che tende a migliorare di continuo la qualità dell'assistenza diagnostica. La prestazione ottimale e desiderabile viene utilizzata quando gli standard di qualità sono facilmente raggiungibili con i metodi e le tecnologie correnti. La prestazione minima va riservata a quei casi in cui gli standard di performance non sono facilmente ottenibili. La differenza critica esprime il valore che la differenza tra due misurazioni successive dello stesso analita deve possedere per essere considerata significativa ed utile per le decisioni cliniche. Ne deriva che le specifiche di qualità sono un insieme di elementi che caratterizzano sia la prestazione che la significatività clinica.

VALUTAZIONE SU XE-2100 DEL MATERIALE DI CONTROLLO CELL-CHEX AUTO DEDICATO ALLA CITOMETRIA DEI LIQUIDI BIOLOGICI

C-19

S. Buoro, R. Gustinetti, C. Galliani, E. Lochis, C. Saleri, C. Ottomano

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche AO "Ospedali Riuniti Bergamo"

Scopo. L'impiego di sistemi automatizzati di ematologia per l'esame citometrico dei Liquidi Biologici (LB) evidenzia vantaggi di rapidità e standardizzazione analitica. La verifica di questi sistemi con adeguati programmi di controllo qualità interno giornaliero (CQI) non è fattibile con LB conservati ed è limitata ai controlli ematologici a titolo noto per l'alta cellularità. Di nuova disponibilità è il controllo per LB Cell-Chex Auto (Streck USA, distribuito da Dasit) preparato con cellule umane, a tre differenti concentrazioni, utilizzabile sui più recenti emocitometri Abbott Cell-Dyn, Coulter Serie LH, Sysmex Serie XE. Questo studio valuta la possibilità di impiego del nuovo materiale per la verifica giornaliera del conteggio automatizzato dei Leucociti (WBC) nei LB come previsto nelle Linee Guida (LG) CLSI H56-A.

Materiali e Metodi. Si è verificata imprecisione totale (CVTOT), nei giorni (BTD) e ripetibilità (RP) mediante analisi in triplicato per 30 giorni sullo strumento in uso Sysmex XE-2100 di 4 flaconi da 3.0 ml ciascuno di tre differenti concentrazioni di Cell-Chex Auto (L1, L2, L3) con valori attesi rispettivamente di 0.087, 0.371, 1.085 WBC $\times 10^9/L$ e di 0.030, 0.090, 0.510 RBC $\times 10^{12}/L$.

Risultati. Per WBC su livelli L1, L2, L3 rispettivamente il CVTOT è di 9.0, 5.7 e 3.2%, il BTD è di 6.5, 1.6 e 0.1% e RP è di 6.2, 5.5 e 3.2%. Per RBC su L1, L2, L3 CVTOT è 6.1, 4.3 e 1.6%, BTD è 0.1, 0.5 e 0.0%, RP è 6.0, 4.1 e 1.4%. I valori medi delle 60 misurazioni eseguite per WBC sono stati 0.080, 0.334, 1.019 $\times 10^9/L$, per RBC 0.030, 0.088, 0.515 $\times 10^{12}/L$. Non si sono osservati trend di aumento o decremento dei risultati nei 30 giorni di impiego dei diversi flaconi di controllo. I risultati di imprecisione sono commutabili con nostra precedente valutazione di profilo di imprecisione nel conteggio WBC su campioni di LB con XE-2100 (2).

Conclusioni. I dati confermano le qualità tecniche dichiarate per il prodotto Cell-Chex Auto tra cui la stabilità (30 giorni dall'apertura della fiala, 75 giorni integro) e la correttezza delle indicazioni sulle modalità di processazione del controllo, uguale a quella adottata per i campioni. Inoltre il materiale in esame consente la verifica delle prestazioni strumentali a concentrazioni WBC frequenti nei LB (in particolare su livelli L1 e L2). Tali evidenze supportano che Cell-Chex Auto può essere efficacemente impiegato nella verifica giornaliera dei sistemi automatici come XE-2100 sempre più utilizzati per lo screening del conteggio cellulare dei LB.

Bibliografia

1. Body Fluid Analysis for Cellular Composition; CLSI H56-A Vol.26 No.26
2. Buoro S, et al. "Valutazione del sistema ematologico Sysmex XE-2100 nello studio dei Liquidi Cavitari". Atti 2° Congresso SIBioC-SIMeL, Napoli 2009

INFORMATION AND COMMUNICATION TECHNOLOGY IN THE MANAGEMENT OF EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SCHEMES IN LABORATORY MEDICINE

C-20

S. Giovannini², R. Conte¹, A. Renieri², A. Pilo², M. Chiesa¹, A. Mercuri¹, M. Pierini², G. Zucchelli¹

¹Institute of Clinical Physiology, Italian National Research Council (IFC-CNR), Pisa (Italy); ²QualiMedLab s.r.l., Pisa (Italy)

Aim of the study. The aim of the study is to evaluate if the application of Information and Communication Technology (ICT) in the management of EQA schemes allows to increase the interaction between laboratories and EQA provider and consequently to obtain a more reliable statistical analysis in less time and then a better evaluation of the analytical performance.

Methods. The Institute of Clinical Physiology of the Italian National Research Council (IFC-CNR) has been dealing with External Quality Assessment (EQA) schemes in immunoassay since 1980. On the grounds of the experience acquired in the organisation of EQA schemes, the CNR has encouraged the establishment of the QualiMedLab spin-off company for the design and development of products and services for Quality Control in Laboratory Medicine. Actually QualiMedLab manages about 20 EQA schemes (e.g. hormones, tumor markers, proteins, enzymes, cardiac markers etc.) and provides them mainly in Italy. We observed the management scheme of ICT platform in QualiMedLab/CNR EQA. All these EQA schemes are carried out using an ICT platform developed by QualiMedLab/CNR.

Results. Control samples are sent by mail to laboratories that enlist for EQA schemes. On the web site <http://eqas.ifc.cnr.it> are reserved personal web pages in which each laboratory can insert directly its own results obtained assaying control samples. Through an internal web site, QualiMedLab staff can manage and treat laboratory data, examine anomalous results and perform statistical analysis. Each laboratory result is scored according to its deviation from target value (mean of all measurements made with the same laboratory method). Actually, in a few days, laboratories can download reports, containing the evaluation of their results and the main statistics in PDF format. Further statistical information can also be visualized through dynamic web pages. In 2004 only about 36% of laboratories enlisted with EQA schemes used web site to insert their results and to visualize statistical analysis; 64% of laboratories preferred to send their result by fax and to receive periodic report by mail. During the last six years, laboratories were encouraged in using internet; in 2010 the percentage of internet users has grown to about 84%.

Conclusions. EQA schemes management using Information and Communication Technology is very useful for the spreading and growth of the quality control culture in laboratories. Laboratories can have a direct control of their own data and awareness of their analytical performance.

MEASUREMENT OF FREE THYROID HORMONE IMMUNOASSAYS: RESULTS OF THE EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT (EQA) SCHEME IMMUNOCHECK

C-21

S. Giovannini¹, M. Chiesa², A. Renieri¹, A. Mercuri², A. Pilo¹, C. Prontera³, M. Scarlattini², R. Conte², A. Clerico³, G. Zucchelli²

¹QualiMedLab s.r.l., Pisa (Italy); ²Institute of Clinical Physiology CNR, Pisa (Italy); ³G. Monasterio Foundation, Pisa (Italy)

Aim of the study. The thyroid function tests, especially those related to measurement of free hormone (fT3, fT4) concentrations, actually presents theoretical as well as methodological difficulties. The aim of the study is to evaluate whether there is still present a large variability in measured values as well as in analytical performance among different fT3 and fT4 immunoassays. **Methods.** We considered the results obtained in the last three annual cycles of the EQA scheme Immunocheck organised by QualiMedLab, a spin-off company established in the Institute of Clinical Physiology of CNR. In this EQA scheme 54 serum samples were distributed and measured by about 1000 French and Italian laboratories.

Results. The total variability of fT3 measurements was 14.7% for concentrations less than 3 pg/mL, 13.9% for concentrations between 3 pg/mL and 4 pg/mL and 15.8% for concentrations greater than 4 pg/mL. The total variability was 22.3% for fT4 concentrations less than 7 pg/mL, 15.4% for concentrations between 7 pg/mL and 12 pg/mL and 15.7% for concentrations greater than 12 pg/mL, respectively. The average precision of fT3 methods (within-method, between laboratories variability) was 11.5 CV% for concentrations less than 3 pg/mL, 7.1 CV% for concentrations between 3 pg/mL and 4 pg/mL and 6.6 CV% for concentrations greater than 4 pg/mL, respectively. The average precision of fT4 methods was 12.0 CV% for concentrations less than 7 pg/mL, 7.1 CV% for concentrations between 7 pg/mL and 12 pg/mL and 6.1 CV% for concentrations greater than 12 pg/mL, respectively. The most commonly used methods in fT3 and fT4 assay are Centaur and Immulite (Siemens), Architect and AxSYM (Abbott), Modular and Elecsys (Roche), Access and DxI (Beckman), AIA (Tosoh) and Vidas (Biomérieux); these methods produce about 90% of all the measurements. To compare the results produced by the methods we calculated the percentage difference between the most used method (Centaur Siemens) and all other methods. Systematic differences among fT3 methods are generally lower than $\pm 15\%$ except Immulite Siemens that produces lower measurement (15-40% depending on the concentration range), while for fT4 methods the systematic differences are lower than $\pm 10\%$ except for Vidas Biomérieux (that produces lower measurement 20-30%) and AIA Tosoh (higher measurements of 25-30%).

Conclusions. Our study indicates that, despite more than 20 years of continuous research and development studies on this field, a very large variability in measured values as well as in analytical performance is still present among different immunoassays.

RESPONSABILIZZAZIONE DEL PERSONALE AMMINISTRATIVO E DELLA SALA PRELIEVI PER RIDURRE LE NON CONFORMITÀ PREANALITICHE: DESCRIZIONE DI UN'ESPERIENZA

C-22

G. Audisio, A. Bossano, M. Brienza, L. D'Errico, M. Nogara, L. Serafini, G. Villani, G. Orso Giaccone

Laboratorio Analisi Collegno (ora Rivoli) A.S.L. TO3

Scopo del lavoro. In una ottica di formazione e responsabilizzazione del personale, per ridurre gli errori nella fase pre-analitica, abbiamo cercato di dotarci di uno strumento di comunicazione con i centri prelievo esterni che ci permettesse verificare gli eventuali miglioramenti di qualità.

Materiali e metodi. E' stato costituito un gruppo di lavoro (due laureati e due tecnici) che, oltre alle usuali incombenze, si sono presi l'incarico di monitorare il processo. Chi trovava una non conformità (NC) era tenuto ad informare verbalmente i preposti. Questi provvedevano a trascriverla in modo completo su un apposito registro e si incaricavano di telefonare ad una persona di riferimento al centro prelievi interessato. Il tecnico del settore, dove era stata rinvenuta l'anomalia, provvedeva al foglio di richiamo e/o alle misure correttive del caso. Trimestralmente sono stati inviati a ciascun centro prelievo moduli riassuntivi che riportavano la percentuale di NC rilevate paragonandola con la media delle non conformità totali. Le NC amministrative considerate erano: errata imputazione di un esame, campione e/o esame non annullato, richieste scadute, dati anagrafici assenti o mancanti, errato caricamento esami con profilo, varie. Le NC pre-analitiche del personale sanitario erano: campione non identificato correttamente, campione insufficiente, campione emolizzato, campione non pervenuto, campione coagulato, campione non idoneo, campione discordante con la richiesta, campione coagulato, temperatura di conservazione non idonea, varie.

Risultati. I centri sono stati monitorati per 14 trimestri fino al 2009. I passaggi annuali sono stati mediamente 127.000 con un numero di esami intorno al milione. Da una situazione iniziale di 0,47% NC/passaggio per il personale sanitario gli ultimi trimestri si attestavano ad uno 0,08% di errore mentre per gli amministrativi da uno 0,36% ad uno 0,15%.

Discussione e conclusioni. Nel laboratorio di Collegno lavoravano 4 laureati (due biologi e due medici) e 10 tecnici. Il metodo da noi adottato ha portato sicuramente ad una riduzione dell'errore globale. E' risultato oltremodo impegnativo per i preposti sobbarcarsi l'onere di valutare le NC in aggiunta alle usuali attività lavorative. Rileviamo inoltre che le differenze nei vari centri prelievo sono risultate marcate nel tempo a significare che a parità di messaggio, esistono delle differenze comportamentali individuali molto difficile da uniformare nonostante i protocolli.

POLIMORFISMO NUTRIGENETICO IN OBESITA' E CARDIOPATIE**C-23****M. Borsa**

Biologa nutrizionista, libero professionista, Torino

Scopo del lavoro. I progressi compiuti dalla genetica con la decodifica del codice genetico hanno permesso di elaborare uno schema nutrizionale più aderente alle reali necessità dell'organismo. Scopo del lavoro è stato quello di verificare se specifici geni potessero essere associati a cardiopatie ed obesità ed essere predittivi di malattia permettendo in questo modo al nutrizionista di elaborare una dieta basata sulle caratteristiche genetiche a scopo terapeutico e preventivo.

Materiali e metodi. Sono stati esaminati i genotipi, previo tampone buccale, di 49 pazienti, cardiopatici/obesi. Sono state conteggiate le frequenze alleliche dei geni: ACE (angiotensin converting enzyme), MTHFR (metilen tetraidrofolato reductasi), PPARG (recettore dei proliferatori dei perossisomi), APOC3 (apolipoproteina C3), LPL (lipoprotein lipasi), 5HTT (trasportatore della serotonina) per valutare lo scostamento dalle percentuali presenti in letteratura e individuare un profilo caratteristico per obesità e cardiopatia utile per elaborare diete preventive nei confronti di tali patologie.

Risultati. Le varianti genetiche più frequenti nelle cardiopatie erano: variante II del gene ACE (59%, associata all'ipertensione), variante TT del gene MTHFR (217%, enzima con attività più bassa con effetti sulla sintesi dell'omocisteina). La Pro-Ala (gene PPARG associata a diminuzione del BMI, dei livelli di insulina, aumento di HDL e a minor rischio di diabete di tipo 2), risultava diminuita (-7%). Gene APOC3: aumentava CG (217%, allele G associato ad aumento di LDL e TG). Gene LPL: predominanza di CG (112%, allele G associato al profilo lipidico migliorato). Variante LL (43%, adattatore veloce allo stress), per il gene 5HTT. Negli obesi, per il gene ACE aumentava la variante ID e II (allele I associato all'ipertensione e sindrome metabolica con 19 e 22% rispettivamente). Gene MTHFR: TT molto elevato (257%). Gene PPARG: Pro-Ala (67%, protezione per diabete di tipo 2). Gene APOC3: variante CG (114%). Gene LPL: GG (150%). Anche negli obesi aumentava LL (41%).

Discussione e conclusioni. Ipertensione e aumento dell'omocisteina erano i fattori di rischio più importanti nelle cardiopatie (variante II del gene ACE e TT del MTHFR). Su questi due si poteva agire con la dieta diminuendo il sale e agendo sul metabolismo delle vitamine del gruppo B. Negli obesi aumentava la variante GG quindi con profilo lipidico migliorato, per cui questi pazienti avrebbero tratto beneficio dall'utilizzo di acidi grassi polinsaturi. Il polimorfismo LL del gene 5HTT (adattatore veloce allo stress ambientale e alimentare), presente sia in cardiopatici che obesi (pazienti che non resistono alla vista del cibo), poteva portarli ad esaurirsi più in fretta e a non individuare i propri limiti senza una dieta adeguata così potevano andare incontro più facilmente a patologie cardiache e obesità.

CALCEMIA E GRAVIDANZA IN UNA VALLE APPENNINICA TOSCANA**C-24****G. Ozzola¹, R. M. Dorizzi², E. Migali³, G. Polverini¹, C. Sommella⁴**

¹Laboratorio Analisi, Dipartimento Patologia Clinica, Ospedale Casentino USL8 (AR); ²Corelab, LaURo, AvR, Pievesestina, Cesena (FC); ³Laboratorio Analisi, Dipartimento Patologia Clinica, Ospedale Arezzo USL8-AR; ⁴Ostetricia e Ginecologia, Dipartimento Materno Infantile, Ospedale Casentino USL8-AR

Scopo del lavoro. Il calcio ha un ruolo importante nella contrazione muscolare e nel bilancio idrico nella cellula. La diminuzione del calcio circolante e l'aumento del calcio intracellulare possono aumentare la pressione arteriosa nella pre-eclampsia. La letteratura a riguardo non è univoca; alcuni studi hanno dimostrato concentrazioni di calcio diminuite nella preeclampsia ed hanno descritto una riduzione dei casi di pre-eclampsia dopo supplementazione di calcio [Int J Gynecol Obstet 2009; 104: 32-6; Int J Gynecol Obstet 2009; 85 (Suppl): S28-41] mentre l'FDA ha ritenuto molto improbabile una relazione tra calcio e rischio di pre-eclampsia (Nutrition Reviews 2007; 65: 78-87). Nel 2010 The Cochrane Collaboration (2010; Issue 8, Art.CD001059) ha tuttavia concluso che la supplementazione con calcio dimezza il rischio di pre-eclampsia rinnovando l'interesse sull'argomento. Scopo del lavoro è stato quello di verificare se l'intervallo di riferimento per la calcemia calcolato al di fuori della gravidanza consente di classificare correttamente le donne in gravidanza residenti in Casentino (AR) a rischio di eclampsia.

Materiali e metodi. La concentrazione di calcio è stata misurata in 178 donne in gravidanza (115 nel primo, 30 nel secondo e 33 nel terzo trimestre) residenti in Casentino (AR) il cui outcome della gravidanza è stato regolare (non è noto se assumevano integrazione di calcio con la dieta), ed in 50 donne donatrici di sangue non in gravidanza e di età confrontabile. La calcemia è stata misurata con metodo colorimetrico alla cresolofaleina su strumento ADVIA 2400 (Siemens Healthcare, Milano). La valutazione statistica è stata effettuata tramite il test di Mann-Whitney (Medcalc, Mariekerke, Belgio).

Risultati. Media, Deviazione Standard e mediana della calcemia delle donatrici e nelle donne nel primo, secondo e terzo trimestre di gravidanza sono risultate rispettivamente di 9.6+/-0.43 e 9.6 mg/dl; 9.7+/-0.38 e 9.7 mg/dl; 9.2+/-0.36 e 9.2 mg/dl; 9.0+/-0.39 e 9.0 mg/dl. La calcemia nelle donne non in gravidanza è risultata più bassa rispetto a quella nel secondo (p = 0.0003) e nel terzo trimestre (p = 0.0001) non rispetto a quella del primo (p = 0.0865).

Conclusioni. Questo lavoro conferma che anche valori di riferimento della calcemia in donne in gravidanza nel secondo e nel terzo trimestre residenti in Casentino sono più bassi rispetto a quelli delle donne non in gravidanza. Considerata la rilevanza clinica dell'argomento questo aspetto deve essere tenuto presente nel valutare il rischio di pre-eclampsia.

HELICOBACTER PYLORI INFLUENZA LO STATO REDOX DEL COENZIMA Q10 NEL DIABETE TIPO 2

C-25

R. Testa¹, G.P. Littarru², P. Bonazzi³, E. Bendia³, A. Di Sario³, L. Tiano², F. Principi², F. Brugè², A.R. Bonfigli¹, M. Marra¹, G. Brandoni¹, R. Ganzetti⁴, R. Festa^{1,3}

¹Centro Ric. Metaboliche, U.O. Farmacia 4, INRCA; ²Dip. Biochimica, ³Dip. Pat. Sperimentale, UNIVPM; Ancona

Scopo. Studiare i livelli plasmatici del Coenzima Q10 (CoQ) e il suo stato ossidoriduttivo ($\text{CoQ}_{\text{OX}}/\text{TOT}$) in relazione alla infezione gastrica da H. pylori (H.p.) in pazienti con diabete mellito tipo 2 (DM2). $\text{CoQ}_{\text{OX}}/\text{TOT}$ è infatti indice di stress ossidativo e il diabete è una condizione di stress ossidativo cronico, al quale H.p. può contribuire.

Materiali e Metodi. 310 pazienti con DM2 ben controllato sono stati arruolati e sottoposti ad urea breath test per la diagnosi di infezione da H.p. Su plasma eparinato prelevato contestualmente è stato dosato il CoQ tramite HPLC con rilevatore elettrochimico per la misura dello stato redox.

Risultati. Sono mostrati in tabella: i pazienti H.p.(+) mostrano un più alto $\text{CoQ}_{\text{OX}}/\text{TOT}$ ($\Delta=+15\%$; $p<0.01$).

Conclusioni. La maggior quota percentuale di CoQ_{OX} ossidato nei diabetici H.p.(+) è indice di incrementato stress ossidativo, benché vada chiarito il contributo di età e fumo. Questo può tradursi in una maggiore vulnerabilità all'insulto infiammatorio cronico rappresentato dal diabete in quella larga parte di pazienti che albergano il bacillo.

Confronto tra medie dei parametri valutati nei due gruppi di pazienti diabetici.

	Pazienti diabetici H.p.(-)		Pazienti diabetici H.p.(+)		p (*)
	Media	DS	Media	DS	
Età (anni)	60,7	9,3	62,8	8,1	0,032
Sesso (M/F)	78/79		74/79		0,863
IMC (kg/m ²)	29,7	5,0	29,3	4,9	0,547
Fumo (sì/no)	20/137		34/119		0,030
Glicemia (mg/dl)	148,6	36,3	147,7	38,1	0,819
HbA _{1c} (%HbA _{1c})	7,1	1,0	7,2	1,0	0,418
Colesterolo totale (mg/dl)	189,8	36,9	192,8	34,3	0,470
CoQ totale (µg/ml)	0,760	0,266	0,734	0,299	0,426
CoQ/colesterolo (nmol/mmol)	178,8	53,6	169,5	60,1	0,148
CoQ ossidato (µg/ml)	0,066	0,018	0,072	0,040	0,098
$\text{CoQ}_{\text{OX}}/\text{TOT}$ (%)	9,24	2,50	10,64	4,78	0,001

(*) Test t di Student per dati indipendenti o χ^2 per le variabili categoriche.

MODELLO ANIMALE PER LO STUDIO DEGLI EFFETTI METABOLICI INDESIDERATI DELLA TERAPIA ANTIRETROVIRALE HAART: VARIAZIONI DELLA COLESTEROLEMIA

C-26

L. Rossi¹, G. Cavallini², R. Marotta¹, L. Olivieri¹, R. Pardelli³, E. Bergamini², M.R. Metelli¹, P. Pietrini¹

¹UO Analisi Chimico Cliniche Specializzate – Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana – Pisa; ²Centro di Ricerca di Biologia e Patologia dell'Invecchiamento, Università di Pisa; ³Azienda Sanitaria Locale N° 6, Livorno

Introduzione. Grazie al trattamento HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy), l'infezione da virus HIV non è più letale ed è divenuta una malattia cronica che richiede una assistenza medica continua e una formazione del paziente a stili di vita utili a ridurre il rischio di complicazioni acute e a lungo termine. Le complicanze metaboliche (quali la dislipidemia, l'insulino-resistenza, il diabete mellito, l'obesità, le anomalie di distribuzione dell'adipe) sono associate ad un rischio elevato di malattia cardiovascolare. Oggi la malattia cardiovascolare è la più importante causa di morte dei pazienti infettati da HIV. I meccanismi delle alterazioni del metabolismo del colesterolo nei pazienti con infezione HIV trattati con HAART non sono ben noti.

Scopo: Obiettivo di questo studio è la messa a punto di un modello animale di sindrome metabolica HAART, da utilizzare per individuare i meccanismi responsabili di questa patologia nell'uomo.

Metodi: Ratti maschi Sprague Dawley (razza multiuso esogama di albino) di 5 mesi di età sono stati suddivisi in due gruppi: il gruppo A ha ricevuto il farmaco antiretrovirale (Kaletra) a dosaggio corrispondente a quello assunto dai pazienti adulti sottoposti a terapia HAART; il gruppo B ha avuto il solo veicolo. Il trattamento è stato fatto giornalmente, al mattino, per via orale. Peso e consumo di cibo sono stati registrati settimanalmente. Con cadenza mensile è stato fatto un prelievo di sangue venoso dalla coda per verificare gli effetti del trattamento sulla colesterolemia totale. Il colesterolo totale è stato dosato con metodica Roche su analizzatore automatizzato Cobas 6000.

Risultati: Il trattamento non ha avuto effetti significativi su peso corporeo e consumo di cibo, ma ha aumentato significativamente l'incremento età-associato dei livelli colesterolemici. I valori della colesterolemia già a due mesi dall'inizio del trattamento mostravano un aumento significativo rispetto ai valori di partenza nel gruppo A, nel gruppo B tale incremento non è stato osservato. Questa differenza fra i due gruppi si manteneva anche nel terzo mese di trattamento.

Conclusioni. I risultati ottenuti sembrano dimostrare che il trattamento con farmaci HAART dei roditori possa fornire un modello murino utile per lo studio dei meccanismi della lipodistrofia umana da trattamento HAART. Ulteriori studi sono però necessari per verificare la piena rispondenza fra modello animale e sindrome umana.

EFFETTI METABOLICI INDESIDERATI DELLA TERAPIA ANTIRETROVIRALE HAART E LORO PREVENZIONE CON TRATTAMENTO ANTIAGING “D.A.N.I.”

C-27

L. Rossi¹, G. Cavallini², L. Olivieri¹, R. Pardelli³, V. Palminteri⁴, M.R. Metelli¹, P. Pietrini¹, E. Bergamini²

¹UO Analisi Chimico Cliniche Specializzate – Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana – Pisa; ²Centro di Ricerca di Biologia e Patologia dell’Invecchiamento, Università di Pisa; ³Azienda Sanitaria Locale N° 6, Livorno; ⁴Centro Fisioterapico Palminteri, Livorno

Introduzione. La terapia antiretrovirale HAART causa, con frequenza e gravità crescente con la dose e la durata del trattamento, una sindrome da ridistribuzione del grasso corporeo o lipodistrofia e alterazioni del metabolismo glucidico e lipidico, inquadrabili nel contesto di una sindrome metabolica secondaria ad un invecchiamento accelerato dai farmaci antiproteolitici. L’iperlipidemia è presente in un elevato numero (70-80%) di soggetti HIV-positivi in terapia HAART.

Scopo. Valutare se gli effetti collaterali della terapia HAART possano essere contrastati senza interruzione della terapia salvavita mediante l’adozione di un protocollo di stile di vita antiinvecchiamento (D.A.N.I.: Dynamic Antiaging Nutritional Intervention) che integra gli effetti benefici di esercizio fisico, restrizione calorica intensificata da un farmaco antilipolitico e antiossidanti del vino rosso (DANIVIN).

Metodi. Un gruppo di pazienti in terapia HAART con effetti metabolici indesiderati ha chiesto di aderire allo stile di vita D.A.N.I. I dati qui presentati si riferiscono ai controlli laboratoristici bimestrali previsti dal protocollo terapeutico HAART, che includono trigliceridemia, colesterolemia, glicemia, AST, ALT e GGT. I test sono stati eseguiti con metodica Roche su analizzatore automatizzato Cobas 6000.

Risultati. L’adozione dello stile di vita antiinvecchiamento D.A.N.I. ha avuto l’effetto di migliorare (fino anche a normalizzare) i valori di trigliceridemia, colesterolemia e glicemia, con modalità e andamenti temporali diversi in funzione dell’entità e della durata dello sbilanciamento metabolico, senza che dovesse essere interrotta o modificata la terapia salvavita, e senza che comparissero aumenti della viremia da insorgenza di resistenze al trattamento HAART. Un risultato per vari aspetti sorprendente è il netto miglioramento del quadro enzimologico plasmatico (netto e rapido calo sia dei livelli di AST che quelli di ALT). La riduzione è stata osservata anche in pazienti con livelli enzimatici che ricadevano nell’ambito dei valori considerati normali. Questo dato induce a ritenere che i riferimenti attuali portino a considerare “normali” valori che includono segni di danno epatico subclinico.

Conclusioni. I risultati confermano l’ipotesi che la sindrome lipodistrofica da HAART debba essere considerata un forma di invecchiamento accelerato e suggeriscono efficaci modalità di intervento preventivo monitorabili laboratoristicamente nei loro effetti.

VERIFICA DELL’ELEVATA FREQUENZA DELLA MALATTIA CELIACA NELLA POPOLAZIONE RITENUTA A RISCHIO AFFERENTE AL LABORATORIO ANALISI DEL PRESIDIO OSPEDALIERO DI ALGHERO (SS)

C-28

A. Achenza, G. Maddau, S. Piras, G. Scanu, L. F. Simula

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Presidio Ospedaliero, Alghero (SS)

Scopo del lavoro. La Malattia Celiaca (MC) è una condizione morbosa caratterizzata sul piano clinico da una sindrome da malassorbimento e sul piano istologico da una enteropatia glutine-dipendente. La disponibilità di test sierologici sensibili e specifici ha permesso di ridefinire l’epidemiologia della malattia. Nella Regione Sardegna si riscontra una maggiore prevalenza della MC (1/84 nel bambino, 1/70 nell’adulto), rispetto al resto della popolazione italiana, nella quale questa varia, a seconda dei dati riportati in letteratura, tra 1/184 e 1/100. La maggiore prevalenza è probabilmente dovuta alla maggiore frequenza, nella popolazione dei residenti Sardi, delle condizioni genetiche predisponenti alla malattia (maggiore frequenza degli eterodimeri DQ2 e DQ8). Questo lavoro si propone di valutare la frequenza della MC nella popolazione con sospetto di MC afferente al Presidio Ospedaliero (PO) di Alghero.

Materiali e Metodi. Sono stati esaminati campioni di siero di pazienti giunti al Laboratorio Analisi del PO di Alghero sia come esterni sia come pazienti della Unità Operativa (UO) di Pediatria. Su ciascun siero sono stati effettuati, secondo richiesta, gli esami sierologici per MC utilizzando kit dell’Azienda Eurospital, Trieste. Il dosaggio degli anticorpi anti-gliadina IgA e IgG e anti-transglutaminasi tissutale, sono stati effettuati mediante metodica immunoenzimatica (α -Gliatest S IgA e S IgG Chromo, Eu-tTG IgA e IgG umana). Gli anticorpi anti-endomisio di classe IgA sono stati determinati con metodica di immunofluorescenza indiretta su vetrino (Antiendomysium 96).

Risultati. Nel periodo compreso fra il maggio 2006 e giugno 2010 sono stati analizzati 2650 sieri di pazienti con sospetto di MC. Di questi, 655 sono risultati positivi a uno o più test per la diagnosi sierologica della celiachia. Nell’ambito del totale dei sieri esaminati, 829 provenivano dalla UO di Pediatria; di questi, 350 presentavano uno o più test positivi per la diagnosi sierologica della MC. Tra tutti i pazienti con test positivi, 231 (193 femmine e 38 maschi) hanno avuto la conferma clinica della malattia.

Discussione e conclusioni. Dai dati ottenuti, la frequenza della MC presso il PO di Alghero limitatamente alla UO di Pediatria è risultata del 27%. Dalla nostra esperienza abbiamo constatato come la frequenza della MC nella popolazione a rischio da noi indagata sia effettivamente elevata, rispecchi l’andamento della patologia riscontrato in ambito regionale e rispetti anche la differente distribuzione della patologia nelle femmine rispetto ai maschi.

ASSOCIATION BETWEEN POLYMORPHISM -2221 MSPI C/T IN INSULIN GENE AND DIABETES MELLITUS TYPE 2

C-29

V. Bastos, N. Osório, A. Caseiro, A. Valado, F. Mendes, A. Gabriel, A. Girão

Análises Clínicas e Saúde Pública, Escola de Tecnologia da Saúde de Coimbra, Portugal

Introduction. Diabetes mellitus (DM) results from a metabolic disorder characterized by chronic hyperglycaemia resulting from a deficiency in the secretion or action of insulin (INS) or both. These changes at the production or function of the INS can be caused by genetic factors. Insulin has a central role in the pathogenesis of DM, thus the insulin gene has always been regarded as an ideal candidate in susceptibility to disease development. Polymorphism -2221 MspI C/T in INS gene has often been studied in Type 1 diabetes mellitus (T1DM) and several studies have found an association between this genetic disorder and this pathology. In Type 2 diabetes mellitus (T2DM), this same polymorphism has been poorly studied. **Objective.** To investigate the association between polymorphism -2221 MspI C/T and risk for the development of T2DM in a portuguese population.

Methods: The study focused on a Portuguese population belongs to the Guarda district, consists of 9 patients diagnosed with T2DM and 11 subjects without diagnosis of this pathology. The analysis of polymorphism 2221MspI C/T in the insulin gene was done by PCR-RFLP method (Polymerase Chain Reaction - Restriction fragment length polymorphism) using the restriction enzyme MspI.

Results. Was amplified a fragment 1300bp that includes -2221 position of the INS gene. This PCR product subject to the restriction enzyme MspI revealed the genotype of pathological samples vs control. Three fragments were visualized in all samples, 1300bp, 850bp and 450bp, which indicated the existence of only one genotype, CT.

Conclusion. The risk for developing T2DM is not associated with the polymorphism -2221 MspI C/T. The CT genotype for this polymorphism, may be more frequent in the Portuguese population. However, this hypothesis can only be confirmed with increasing the number of individuals in this study.

GLICEMIA NEL PRIMO TRIMESTRE DI GRAVIDANZA E TEST DI CARPENTER

C-30

G. Ozzola¹, E. Migali¹, G. Polverini¹, E. Santoro³, C. Sommella², F. Morello¹

¹Laboratorio Analisi chimico cliniche e Microbiologiche-Dipartimento Patologia Clinica- USL8, Arezzo; ²U.O. Ostetricia e Ginecologia-Dipartimento Materno infantile-USL8, Arezzo; ³U.O. Medicina Interna -Dipartimento Medicina e Chirurgia-USL8, Arezzo

Scopo del lavoro. Il diabete gestazionale (GDM) è una intolleranza ai carboidrati con inizio o primo riscontro in gravidanza. E' rilevante per la sua frequenza che in Italia è intorno al 6% e per l'esito della gravidanza in quanto può comportare gravi complicanze materne o fetali (preeclampsia, taglio cesareo, policitemia neonatale, iperbilirubinemia). Premesso che la diagnosi ed il trattamento del GDM sono efficaci in termini di costo/beneficio, con questo lavoro si valuta se la misurazione della glicemia nel primo trimestre di gravidanza (FPG) è correlabile col test di Carpenter e Coustan (GCT) e quindi permette l'applicazione di norme dietetiche già dal primo trimestre di gravidanza senza dover attendere l'esito della GCT che viene effettuato solo al terzo trimestre.

Materiali e metodi. A 492 donne in gravidanza è stata misurata la FPG nel primo trimestre di gravidanza e col test di Carpenter al terzo trimestre. La misurazione della glicemia è stata eseguita con strumento Cobas 501 (Ditta Roche) usando una metodica all'esochinasi. Le donne avevano una età media di anni 30.7 +/- 4.99. La valutazione statistica è stata effettuata determinando l'Odds Ratio.

Risultati. I soggetti con FPG maggiore di 126 mg/dl sono 119 (24.2%). Il 92% delle donne con FPG < 75mg/dl sono risultate avere GCT normale, il 72% di donne con FPG tra 75 e 79 mg/dl hanno avuto GCT normale, quelle con FPG 80-84 mg/dl sono risultate alla GCT normali nel 68% dei casi, le donne con FPG tra 85 e 89 mg/dl hanno avuto GCT normale nel 74% dei casi. L'incidenza di GCT patologica o normale per ognuna di queste categorie è risultata statisticamente significativa, cosa che non si è riscontrata nelle 2 categorie con FPG maggiore (90-94 mg/dl e maggiore di 94 mg/dl).

Discussione e conclusioni. I risultati indicano una associazione statisticamente significativa tra FPG inferiore a 90 mg/dl nel primo trimestre di gravidanza e l'esito della GCT perciò si conclude che, rispetto alla pratica corrente di fare screening del diabete gestazionale all'inizio del terzo trimestre tramite la GCT, si possa anticipare la valutazione di rischio di GDM con la semplice misura della glicemia a digiuno nel primo trimestre e quindi iniziare subito provvedimenti dietetici preventivi. I nostri dati concordano con la letteratura, ma si ricorda che, secondo le più recenti linee guida (RIMeL2010;6:180-3) viene comunque consigliato a tutte le donne con FPG nel primo trimestre inferiore a 92 mg/dl di eseguire, tra la 24a e la 28a settimana di gestazione, una curva da carico con 75 gr di glucosio.

ANALISI RETROSPETTIVA DEI RISULTATI DEI TEST DA CARICO ORALE DI GLUCOSIO ALLA LUCE DELLE NUOVE LINEE GUIDA DI DIAGNOSI DEL DIABETE GESTAZIONALE

C-31

R. Brivio, L. Carati, M. Casati, V. Minolfi

Lab. Analisi Chimico Cliniche, AO S. Gerardo, Monza

Introduzione. Recentemente sono state emanate linee guida per la diagnosi di Diabete Gestazionale (GDM) basate su studi, in particolare lo studio HAPO (Hyperglycemia and Pregnancy Adverse Outcome) (1), che ha evidenziato una correlazione fra livelli di glicemia e "outcome" avversi. In letteratura è inoltre descritta una possibile relazione fra iperglicemia proteinuria e pre-eclampsia.

Scopo del lavoro. 1) Analizzare retrospettivamente, secondo le nuove linee guida, i risultati dei Test da Carico Orale effettuati con 50 e 100 grammi di glucosio (OGTT50 e OGTT100) in pazienti gravide, nel periodo luglio 2004-giugno 2010 presso l'AO S.Gerardo di Monza; 2) Verificare la relazione fra risultati di OGTT e proteine urinarie.

Metodi. I risultati sono stati estrapolati mediante BrioQuery, le analisi statistiche condotte con Statcalc. Come statistica inferenziale è stato utilizzato il Rischio Relativo (RR). Sono state considerate positive le OGTT50 con glucosio plasmatico dopo 60' > 140 mg/dL, le OGTT100 quelle con almeno 2 risultati pari o oltre i seguenti valori soglia: a digiuno 95 mg/dL, dopo 60' 180 mg/dL, dopo 120' 155 mg/dL, dopo 180' 140 mg/dL. Per le OGTT risultate negative si è calcolato quante pazienti sarebbero state diagnosticate affette da GDM in base alle nuove linee guida (glucosio a digiuno $\geq$ 93 mg/dL). Su tutte le pazienti con OGTT negative sono stati valutati i risultati della proteinuria effettuata mediante esame chimico fisico (Atlas Siemens) o dosaggio quantitativo (Turbidimetrico-SSA): è stato considerato positivo ogni valore di proteine all'esame chimico fisico e risultati $\geq$ 150 mg/die su raccolte delle 24 h.

Risultati. Nel periodo in esame sono state effettuate: 2234 OGTT50, di cui 491 positive (21.1%) e 1798 negative (77.4%); 1649 OGTT100, di cui 251 positive (15.2%) e 1289 negative (78.2%). In accordo alle nuove linee guida, utilizzando il solo valore di glicemia a digiuno delle OGTT negative, sarebbero state classificate come GDM 64 pazienti per OGTT50 (3.6%) e 88 per OGTT100 (6.7%), aumentando in modo statisticamente significativo il numero di diagnosi: RR (IC 95%) è stato pari rispettivamente a 0.88 (0.80-0.98) e 0.74 (0.64-0.86). La proteinuria è risultata positiva nel 17.1% delle pazienti con glucosio $\geq$ 93 mg/dL e nel 14.5% di quelle con glucosio <93 mg/dL (p=ns).

Discussione e conclusioni. Secondo i nostri dati è ipotizzabile che l'applicazione delle nuove linee porti ad un incremento delle diagnosi di GDM, mentre la proteinuria, indicatore predittivo dello sviluppo di pre-eclampsia, non mostra alcuna correlazione coi livelli di glucosio riscontrati nelle pazienti riclassificate positive per GDM.

Bibliografia

1) HAPO Coop Res Group. Hyperglycaemia and Pregnancy Adverse Outcome. New Engl J Med 2008;358:1991-2000

DETERMINANTI METABOLICI DEL COENZIMA Q10 PLASMATICO NEL DIABETE TIPO 2

C-32

R. Testa¹, G.P. Littarru², L. Tiano², F. Principi², F. Brugè², A.R. Bonfigli¹, M. Marra¹, G. Brandoni¹, R. Festa^{1,3}

¹Centro Ric. Metaboliche, INRCA; ²Dip. Biochimica, ³Dip. Pat. Sperimentale, UNIVPM; Ancona

Scopo. Individuare i principali parametri correlati ai livelli plasmatici di Coenzima Q10 (CoQ), anche corretti per colesterolo (C), nel diabete tipo 2 (DM2). Il DM2 causa stress ossidativo e la terapia con CoQ è utile, benché siano riportati valori di CoQ aumentati, in una sorta di paradosso.

Materiali e Metodi. 70 pazienti con DM2 sono stati studiati e l'analisi statistica è stata condotta alla ricerca dei migliori modelli di regressione multipla.

Risultati. I dati principali sono in tabella, compresi i modelli statistici: regressione multivariata per CoQ: $r^2=0,65$; per CoQ/C: $r^2=0,59$; $p<0,01$.

Conclusioni. 1) Età: il CoQ tende a diminuire con l'età; 2) Sesso: il CoQ è più alto nei maschi e correlato alla colesterolemia; 3) Statine: abbassano il CoQ al di là dell'effetto sul C; 4) Infiammazione: il fibrinogeno è inversamente correlato col CoQ, mentre i FANS si associano a valori più alti; 5) Funzione cardiovascolare: il CoQ decresce all'aumento della pressione diastolica; 6) L'insulino-resistenza appare come determinante positivo indipendente, il che può spiegare l'apparente paradosso. Infatti essa causa sia stress ossidativo che alterazione del profilo delle lipoproteine, che veicolano il CoQ in circolo.

Medie e deviazioni standard dei parametri valutati e descrizione dei modelli di regressione multivariata.

	Media	DS	Unità di misura	RM (CoQ): Beta - p	RM (CoQ/C): Beta - p
Età	61.9	8.3	anni	-0.214 - 0.024	-0.221 - 0.031
Sesso	44/70		M/Tot	0.231 - 0.043	0.223 - 0.070
Fumo	24.3		%	0.190 - 0.027	0.229 - 0.015
Statine	12.9		%	-0.233 - 0.012	-0.281 - 0.006
FANS	21.4		%	0.393 - <0.001	0.439 - <0.001
BMI	28.8	4.6	kg/m ²	n.i.	n.i.
Vita/Fianchi	0.96	0.08	-	0.118 - 0.256	0.155 - 0.169
PA sistolica	128	18	mmHg	n.i.	n.i.
PA diastolica	74	12	mmHg	-0.381 - <0.001	-0.399 - <0.001
Frequenza cardiaca	75	11	bpm	0.233 - 0.021	0.249 - 0.023
Glicemia	153	35	mg/dl	-0.114 - 0.279	-0.102 - 0.374
Insulina	9.9	7.1	mU/L	n.i.	n.i.
HbA _{1c}	7.2	0.8	% Hb	0.083 - 0.405	0.056 - 0.601
Colesterolo totale	184	34	mg/dl	0.436 - 0.000	0.015 - 0.876
Trigliceridi	142	72	mg/dl	n.i.	n.i.
Fibrinogeno	229	65	mg/dl	-0.241 - 0.017	-0.273 - 0.013
Piastine	229.16	58.94	$\times 10^3/\mu$ l	0.200 - 0.050	0.187 - 0.090
Coenzima Q ₁₀	0.725	0.280	μ g/dl	n.i.	n.i.
CoQ/C	175.7	63.1	(nmol/mmol)	n.i.	n.i.
HOMA-IR	3.93	3.80	mmol ² mU/l ²	n.i.	n.i.
Log (HOMA-IR)	0.458	0.346	-	n.i.	n.i.
QUICKI	0.330	0.039	-	-0.251 - 0.009	-0.231 - 0.025
Regressione Multivariata			Costante	/ - 0.187	/ - 0.028
			R ² corretto	0.65	0.59
			p	<0.001	<0.001

RM = Regressione Multivariata (variabile dipendente); Beta = Coefficiente di regressione standardizzato; n.i. = non incluso.

CORRELAZIONE FRA LIVELLI CIRCOLANTI DI ADIPOCHINE E RIMODELLAMENTO VASCOLARE NELL'IPERCOLESTEROLEMIA COMBINATA FAMILIARE

C-33

M. Greco, V. Ventura, A. Castagna¹, A. Fava¹, F. Costantino, S. Rotundo¹, T. Montalcini¹, D. Foti, A. Pujia¹, E. Gulletta

Patologia Clinica, ¹Nutrizione Clinica, Policlinico Universitario, Facoltà di Medicina, Università "Magna Græcia" di Catanzaro

L'ipercolesterolemia combinata familiare (FCHL) è un'alterazione metabolica che, isolata o nel contesto della sindrome metabolica, si associa ad insulino-resistenza e ad un aumentato rischio cardiovascolare. Le adipochine, quali adiponectina, leptina e resistina, prodotte dal tessuto adiposo, possono avere un ruolo fisiopatologico tanto nell'insulino-resistenza quanto nel rischio cardiovascolare, rappresentando un possibile link con la disfunzione endoteliale. Sul piano clinico, una tappa precoce nell'evoluzione del danno vascolare è rappresentata dal rimodellamento dei vasi e la misurazione del diametro brachiale rappresenta un nuovo parametro predittivo di rischio cardiovascolare.

Scopo del lavoro. Valutare la correlazione fra diametro brachiale e livelli di adiponectina, leptina e resistina in pazienti con FCHL.

Materiali e metodi. In 38 pazienti (14 maschi, 24 femmine, età media: 50.39 ± 10.36) affetti da FCHL, sono stati determinati i livelli sierici di adiponectina, leptina e resistina mediante saggio immunoenzimatico ELISA (Mediagnost). La valutazione del diametro brachiale è stata effettuata mediante indagine ecografica.

Risultati. Nella coorte dei pazienti studiati, il diametro brachiale medio è pari a 3.94 ± 0.58 mm. Sono stati misurati i seguenti valori medi di adipochine: adiponectina (5.83 ± 3.52 µg/ml); leptina (18.23 ± 16.40 ng/ml); resistina (3.84 ± 1.53 ng/ml). Dall'analisi bivariata dei dati, i valori di adiponectina risultano inversamente correlati ai valori del diametro brachiale ($r = -0.377$; $P = 0.020$). L'analisi multivariata ha confermato l'associazione. Nessuna correlazione statisticamente significativa è stata riscontrata tra il parametro clinico ed i livelli sierici di leptina e resistina.

Discussione e conclusioni. L'ipercolesterolemia combinata familiare è un'alterazione metabolica in cui il rimodellamento vascolare correla significativamente con i livelli circolanti di adiponectina. Tale adipochina potrebbe quindi rappresentare un nuovo biomarcatore di laboratorio utile nella stratificazione del rischio cardiovascolare in questi pazienti.

LACK OF HEMOLYTIC POTENTIAL OF NEW FABA BEAN CULTIVARS WITH LOW CONTENT OF VICINE AND CONVICINE IN SUBJECTS WITH G6PD-DEFICIENCY

C-34

L.F. Simula¹, S. Mulas¹, L. Ara¹, P. Delrio¹, M. Bertora¹, F. Caria¹, B. Loi¹, S. Dettori¹, V. Gallo², T. Marrocco², E. Tambini², O. Skorokhod², G. Duc³, P. Arese²

¹Ospedale Civile, 07041 Alghero, Italy; ²Department of Genetics, Biology and Biochemistry, University of Torino, 10126 Torino, Italy; ³INRA Institut National de la Recherche Agronomique, UMR102, Génétique et Ecophysiologie des Légumineuses à Graines, BP 86510, 21065 Dijon, France

Aim of the study. Aim of the study was to show that faba beans (FB) with low levels of vicine and convicine (low V/C FB) are not toxic to highly susceptible glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient (G6PD-) individuals, and can be ingested in large amounts by those subjects without any harmful effect. Low V/C FB, generated by Duc et al., should not damage red blood cells (RBC) in G6PD- subjects. V/C are oxidant pyrimidine derivatives present in high amounts in normal FB causing favism in G6PD- subjects, i.e. massive/deadly destruction of RBC. G6PD is an enzyme important for anti-oxidant defence. Micromolar V/C elicits oxidative damage in G6PD- RBC: decreased glutathione (GSH, main oxidant scavenger); aggregation of membrane proteins; increased lipoperoxidation; loss of deformability, binding of opsonins, and massive removal by phagocytosis. The study was performed with heterozygous G6PD- volunteers fed with low V/C FB analyzing sensitive parameters modified by V/C and causally connected with hemolytic anemia. An additional study was performed in vitro to make sure that low V/C FB were indeed ineffective when studied in a in vitro system.

Methods. GSH: spectrophotometric method; hemichromes: luminescence assay; RBC opsonization, oxidative membrane modifications and 4-HNE adducts: FACS analysis; RBC deformability: filtration assay; clinical chemistry parameters: standard methods.

Results. We administered 500 g fresh FB seeds/70 kg body weight (10-fold a normal meal) of low V/C FB to 7 heterozygous G6PD- subjects. At hourly intervals RBC and blood plasma were isolated and a number of frank hemolysis parameters (RBCs, Hb concentration, Ht, haptoglobin, bilirubin) and more subtle indicators of oxidant damage were measured in RBC or plasma/serum until 10 h, and 24-48 h after FB ingestion. No change in any parameter of frank hemolysis or in any indicator of subtle oxidative damage in isolated RBC was observed in G6PD- subjects after consumption of low V/C FB.

Conclusions. In a sample of 7 heterozygous G6PD- subjects none of the parameters indicating hemolysis or oxidative RBC damage was modified either short-term or after up to 48 h after ingestion of large amounts of raw faba bean seeds with low V/C content. Those are the first data clearly indicating that low V/C FB can be administered in high amounts to G6PD- subjects without any risk.

Supported by Saskatchewan Pulse Growers, Saskatoon, Canada grant to P.A.

IPOPOTASSIEMIA ED RABDOMIOLISI CONSEGUENTI ALL'ABUSO DI LIQUIRIZIA**C-35****S. Valverde¹, E. Pierobon², E. Trabuio¹, F. Antico¹, L. Penzo¹, M. Urso², G. Gessoni¹**¹Medicina di Laboratorio Chioggia, ²Nefrologia e Dialisi Chioggia

Introduzione: L'abuso di liquirizia può portare ad una sindrome caratterizzata da ritenzione sodica, ipopotassiemia, alcalosi metabolica e talvolta miolisi.

Caso Clinico: QL, donna di 29 anni, presentava debolezza, faticabilità e mialgie, l'obiettività evidenziava ipertensione (PAO 180/100 mmHg), debolezza muscolare, iporiflessia. Gli esami di Laboratorio evidenziavano severa ipokaliemia (K 1,7 mmol/L). La paziente veniva inviata, la sera stessa, in Ospedale. Al ricovero si osservava alcalosi metabolica (pH 7,61, Be 19,7 mmol/L), ipokaliemia (K 1,5 mmol/L), marcata miolisi (CK 22000 UI/L, LDH 8400 UI/L, Aldolasi 1200 UI/L, Mioglobina 3100 ng/mL). QL veniva monitorata strettamente e supplementata con KCl e poteva essere dimessa in quinta giornata, sebbene il quadro enzimatico persistesse alterato.

Discussione: La sindrome ipertensione, ipopotassiemia, alcalosi metabolica, miolisi, provocata dall'abuso di liquirizia è legata alla azione aldosterone-simile dell'acido glicirrinico. La ipopotassiemia, come in questo caso, può raggiungere livelli pericolosi per la vita del soggetto. Una valutazione anamnestica accurata può permettere di individuare l'eziologia ed iniziare rapidamente un terapia efficace.

Tabella I. Andamento cinetico dei più significativi dati di Laboratorio

Parametro	10/08/09	10/09/09	10/10/09	10/11/09	12/12/09	Valori Normali
K (mmol/L)	1.5	1.6	2.0	2.8	3.1	3.5 – 5.1
CK (UI/L)	22,235	24,274	14,634	12,361	2,570	30 - 135
LDH (UI/L)	8,456	7,635	2,789	1,847	937	313 – 618
Aldolasi (UI/L)	1,180	N.D.	530	N.D.	134	0.1 - 7.6
AST (UI/L)	680	692	568	509	163	14 – 36
ALT (UI/L)	310	318	258	260	105	9 - 52
pH	7.61	7.54	7.52	7.49	7.42	7.35-7.45
B. Excess (mmol/L)	19.7	20.1	15.5	10.4	5.8	-2.3 – 2.3
HCO ₃ ⁻ (meq/L)	43.7	43.6	39.2	34.0	32.1	26 – 28
Myoglobin (ng/mL)	3,105	2,918	2,396	1,819	214	12 – 76

OMOCISTEINA IN PAZIENTI CON AUTOANTICORPI POSITIVI PER CELLULE PARIETALI GASTRICHE**C-36****L. Terzuoli^{1,2}, A. Cito¹, C. Scapellato², B. Porcelli^{1,2}**¹Dipartimento di Medicina Interna, Scienze Endocrino-Metaboliche e Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena;²Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

Scopo del lavoro. Negli ultimi decenni l'omocisteina ha rivestito sempre più importanza, soprattutto come fattore di rischio indipendente nelle patologie cardiovascolari e neurodegenerative. I livelli sierici di omocisteina possono variare sia per fattori genetici che acquisiti; tra questi ultimi i più frequenti sono la carenza di cofattori (acido folico, vitamina B12 e B6) interessanti il suo metabolismo. Inoltre l'omocisteina presenta un legame molto stretto con fenomeni di stress ossidativo. Stabilire i valori sierici di omocisteina e di alcuni parametri di stress ossidativo in patologie autoimmuni sarebbe importante per capire se, nel tempo, possa essere favorito lo sviluppo di aterosclerosi e/o malattie neurodegenerative. In questo studio preliminare abbiamo analizzato soggetti con PCA ad alto titolo, presumibilmente affetti da gastrite cronica di tipo autoimmune, per verificare se l'omocisteina potesse variare significativamente, anche in rapporto ad alcuni parametri di stress ossidativo.

Materiali e metodi. 50 soggetti controllo (A): maschi=13, femmine=37, età=47±8. 69 pazienti con PCA (titolo maggiore o uguale 1:160) (B): maschi=15, femmine=54, età=53±14.

Risultati. I valori ottenuti, espressi come µM, si riferiscono rispettivamente ad (A) e (B). Gruppi SH: 512±129, 262±170; cisteina: 207±69, 185±57; omocisteina: 10±5, 12±7; acido urico: 274±95, 321±101; ipoxantina: 7±6, 15±6; xantina: 9±4, 9±5. Dei parametri analizzati risultano variati significativamente rispetto ad (A) i gruppi SH, l'acido urico e l'ipoxantina.

Discussione e conclusioni. La gastrite autoimmune è una condizione di infiammazione cronica, caratterizzata da atrofia del corpo e del fondo dello stomaco e dalla presenza di autoanticorpi circolanti diretti contro le cellule parietali (PCA). La gastrite cronica può portare a una riduzione della secrezione gastrica, a ipergastrinemia, ad anemia per carenza di ferro e, in stadi avanzati, ad anemia perniziosa per carenza di vitamina B12. Questa patologia potrebbe portare ad una variazione importante del contenuto in omocisteina. I nostri dati confermano la presenza di un forte stress ossidativo in questi soggetti, mentre non sembrerebbe alterato il metabolismo dell'omocisteina. Questa molecola non rappresenterebbe quindi un marker di rischio e, da sola, non sembrerebbe riflettere un processo di stress ossidativo.

SERUM LEVELS OF MR-PROANP IN HIV AND HCV PATIENTS WITHOUT CRYOGLOBULINEMIA

C-37

E. Tabacco¹, G. Salerno¹, F. Leone¹, S. Battarelli¹, A. Pennica², M.T. Corsetti¹, G. Ferranti¹, L. Portaro¹, E. Capogreco¹, R. Amodio¹, P. Cipriani¹, P. Cardelli¹

¹Azienda Ospedaliera S. Andrea Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare - Università Sapienza di Roma; ²U.O.S Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera S. Andrea Roma

Aims of the study. Human immunodeficiency virus (HIV) is a lentivirus, a member of the retrovirus family, that causes acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), a condition in humans in which the immune system begins to fail, leading to life-threatening opportunistic infections. Hepatitis C virus (HCV) is the chief etiologic agent of non-A, non-B chronic hepatitis. The virus infection can cause cryoglobulinemia, kidney and lymphoproliferative alteration function. The patients with HCV and HIV infections can develop cardiac disorders. Cardiac biomarkers can provide useful prognostic information in HCV and HIV infections. The aims of this study are to evaluate: 1) the use of MR-proANP (1-98), which is the mid-regional portion of the prohormone of the active atrial natriuretic peptide (99-126) as an earlier predictor marker of cardiac impairment; 2) hs-PCR concentration, an acute-phase reactant that reflects low-grade systemic inflammation and risk assessment of coronary heart disease.

Methods. Blood samples were collected (-80°C) from 12 HIV positive patients (GR1) and 9 HCV positive patients (GR2) without cryoglobulinemia. The serum levels of MR-proANP (Brahms MR-Pro-ANP Kryptor), HCV-viremia (Cobas Amplicor HCV), HIV-viremia (kit HIV Architect Ag/Ab Combo; kit Cobas Amplicor HIV Monitor Ver 1.5) and hs-PCR (Vitros Fusion 5.1 Ortho Clinical Diagnostics) were assayed. The T-test and Mann-Whitney test were used to compared results.

Results. MR-Pro-ANP (range <85.2 pmol/l) serum levels were significantly higher ($p < 0.01$) in patients of GR1 (42.14 ± 33.37 pmol/l) respect to patients of GR2 (8.77 ± 2.99 pmol/l) even if physiological range. hs-PCR was significantly ($p < 0.05$) increased in GR2 (0.45 ± 0.27 mg/dl) vs GR1 (0.18 ± 0.16 mg/dl).

Conclusions. MR-Pro-ANP appear new marker for the cardiac and circulatory progression of the patients affections from HIV infection.

AAG AND AAT PROTEINS IN CRYOPRECIPITATE HCV POSITIVE PATIENTS

C-38

E. Tabacco¹, G. Salerno¹, F. Leone¹, S. Battarelli¹, A. Pennica², M.T. Corsetti¹, G. Ferranti¹, V. Polidori¹, E. Scaramucci¹, A. Tammeo¹, P. Cipriani¹, P. Cardelli¹

¹Azienda Ospedaliera S. Andrea Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare - Università Sapienza di Roma; ²U.O.S Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera S. Andrea Roma

Aim of the study. Cryoglobulinemia is characterized by the presence of cryoglobulins (classified with the Brouet classification) in the serum. In this study, we had valuated the levels of alpha-1-glycoprotein (AAG, 41-43-kDa sialylated protein) and alpha-1-antitrypsin (AAT, protease inhibitor, especially elastase), acute phase proteins, in serum and cryoprecipitate of patients with hepatitis C. AAG and AAT are proteins of hepatic synthesis and are correlated with liver's damage in HCV infection. The eventual presence of AAG-AAT in cryoprecipitate, can clarify the liver alteration and sialylated failure in AAG protein.

Methods. Blood samples and cryoprecipitates were collected (-80°C) from 10 patients with type II/III cryoglobulinemia and were tested on the kit HCV Axim Ag/Ab Combo-Cobas Amplicor HCV (viremia), kit Sebia 4 IF (cryoglobulins typization) and kits AAT-AAG BNII Siemens (AAT-AAG concentration). The cryoprecipitates were normalized at 0,8 g/L final concentration. Mann-Whitney t test and Spearman non parametric correlation were used to compared results.

Results. AAT and AAG were present in cryoprecipitates of all patients. The gradient serum-cryoprecipitates was significantly for AAT ($p < 0.01$) and AAG ($p < 0.01$). A positive correlation was observed between AAG vs AAT in the cryoprecipitate ($r^2 = 0.863$, $p = 0.001$). In the serum, the mean of AAT was significantly higher ($p < 0.01$) respect at AAG. Not significant variation showed AAT and AAG concentration between cryoprecipitate of type II and type III cryoglobulinemia.

Conclusions. The significant presence of AAG and AAT in HCV cryoprecipitates, deposes for an involvement of the acute phase proteins in the cryoprecipitate training, sustained by the positive correlation among the two proteins. AAG is produced by the liver, an alteration in the mechanism of hepatic sialylation, would explain the protein presence in cryoprecipitate. AAG and AAT in cryoprecipitate, as markers could be used in the monitoring of the HCV infection in patients with type II/III cryoglobulinemia.

SHORT TERM PROCALCITONIN VARIATION IN SEVERELY ILL PATIENTS ADMITTED TO INTENSIVE CARE UNIT WITHOUT INFECTION

C-39

E. Stenner¹, M. Viviani², A. Morriello¹, I. Martinello², V. Martellani¹, G. Berlot², B. Biasoli¹

¹Laboratory Medicine Dpt, AOU, Trieste; ²Anesthesia and Intensive Care Dpt, AOU, Trieste, Italy

Aim of the study. Procalcitonin (PCT) is a reliable biomarker of sepsis and daily measurements are recommended on intensive care units. However, to correctly interpret serial results, the reference change values (RCV) is needed and by now, only one previous study calculated PCT RCV on 16 healthy individuals. Pathologies as nonseptic SIRS, or surgery, or trauma without infection may increase markedly PCT values and likely modify the set-point and, more importantly, the variation around the set-point, compared to healthy individuals. This prospective observational study aimed to estimate the intra-individual biological variation (CVI) in critically ill patients admitted to intensive care unit (ICU) without infection to calculate the RCV.

Methods. All pts admitted to the ICU during 5 months, staying more than 2 days and without diagnosis of infection, were included. Exclusion criteria: rapid fatal prognosis, co-existing neuroendocrine cancer, intestinal infarction, local chronic infection, immunosuppressed pts, pts receiving corticosteroids/immunosuppressive therapy or antimicrobials for at least 24 hours before the admission to the ICU. The pts were monitored from admission until discharge for a maximum of 10 days. Age, sex, severity of illness (SAPS II score), organ dysfunction (SOFA score), cause of admission to ICU (trauma, medical and surgical), ICU stay and outcome at discharge from ICU were evaluated. PCT was assayed at admission (T0), after 12 (T12) and 24 (T24) hours. Preanalytical variation was minimized by standard conditions. All samples were frozen and assayed in duplicate once in a single analytical run, thereby eliminating between-run analytical variation. Instrument: Kryptor (Brahms Diagnostic), TRACE methodology. Within-run analytical variation (CVa) was estimated from replicate analyses of quality control materials. CVi was calculated according to Fraser (2001). RCV was calculated as: $RCV = 21/2 \times 1.96 \times (CVA2 + CVI2)^{1/2}$

Results. 34 of 149 pts were included. Sex: 13 female, 21 male. Median age: 63 years (IQR 48.25-73.25), SAPS II and SOFA score median values: 45(IQR 35-57.25) and 6.5(IQR 5-10) respectively. Main cause of admission: medical (41,2%), trauma (35.3%) and (23.5%) surgical. 26 pts were admitted to the ICU directly from the community, 8 from normal ward. The median ICU stay was 7.5 days (IQR 4-13). Biological variation components: CVA% = 3.80%, CVI% = 47.87, RCV= 133.

Conclusions. Marked changes are required for two results from a pts admitted to ICU to have changed significantly ($p \leq 0.05$) compared to healthy individuals.

PREVALENZA DI IPERALDOSTERONISMO PRIMARIO IN UNA POPOLAZIONE NON SELEZIONATA DI SOGGETTI IPERTESI

C-40

G. Lobreglio, S. Circhetta, A. Ecclesia, G. Errico, D. Turco, B. Diso¹

U.O. Medicina di Laboratorio, ¹Direzione Sanitaria, A.O. "Card G Panico", Tricase

Background e scopo del lavoro. Numerose evidenze scientifiche hanno dimostrato una secrezione di aldosterone inappropriatamente elevata e relativamente autonoma in una percentuale variabile dall'1% al 32,4% di soggetti affetti da ipertensione arteriosa, con danni cardiovascolari e renali rilevanti, anche indipendenti dall'elevata pressione arteriosa (1). La diagnosi precoce di tale condizione potrebbe consentire l'adeguato trattamento e la riduzione degli effetti avversi dell'aldosterone sugli organi target. Lo scopo di questo studio è di valutare la prevalenza di iperaldosteronismo primario in un'ampia popolazione di soggetti ipertesi del Salento.

Materiali e metodi. Sono stati valutati 1846 soggetti adulti ipertesi con PAS > 140 mmHg e/o diastolica > 90 mmHg (età media 53 ± 11 anni; M/F 3:1) afferenti consecutivamente al nostro ambulatorio. Il dosaggio dell'aldosterone sierico è stato effettuato con metodo RIA (DiaSorin S.p.A., Saluggia, Vercelli); la concentrazione di renina plasmatica è stata misurata con metodica chemiluminescente (LIAISON Direct Renin, DiaSorin); il rapporto aldosterone/renina (ARR) è stato calcolato mediante un algoritmo inserito nel sistema informativo del laboratorio. Nei soggetti con ARR e aldosterone elevati è stato eseguito il test di conferma con carico orale di sodio.

Risultati. 220 soggetti ipertesi (11,9%) presentavano valori di aldosterone sierico > di 15 ng/dl, ARR superiore a 3.79 ng/dl per mUI/L e valori di aldosterone urinario dopo carico orale di sodio > 14 mcg/24 ore, compatibili con la diagnosi di iperaldosteronismo primario.

Discussione e conclusioni. Gli studi pubblicati in letteratura dopo l'iniziale descrizione dell'iperaldosteronismo primitivo da parte di Conn (2) hanno riportato dati discordanti sulla prevalenza della condizione nei soggetti ipertesi, dovuti spesso al numero esiguo di soggetti valutati (1). Il nostro studio, effettuato su una casistica numerosa, ha evidenziato una elevata prevalenza di iperaldosteronismo primario in una popolazione non selezionata di soggetti ipertesi, che potrebbero essere opportunamente trattati con presidi antagonisti dei recettori dei mineralcorticoidi.

Bibliografia

1. Tomaschitz A, Pilz S, Ritz E, Obermayer-Pietsch B, Pieber TR. Aldosterone and arterial hypertension. Nat Rev Endocrinol 2010; 6: 83-93.
2. Conn JW. Presidential address. I. Painting background. II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. J Lab Clin Med 1955; 45: 3-17.

DIRECT MEASUREMENT OF LDL CHOLESTEROL IN SAMPLE WITH HIGH TRIGLYCERIDES CONCENTRATION

C-41

E. Barzon, A Bedin, F. Fabbi, F. Fortuna, S. Indico, G. Pinaffo, L. Urbani, D. Giavarina

Clinical Chemistry and Hematology Laboratory, San Bortolo Hospital, Vicenza

Aim of the study. To evaluate the performance of six homogeneous LDL-Cholesterol (LDL) assays provided by different distributors vs. the Friedewald formula (FF), in classifying patients according to National Cholesterol Education Program (NCEP) categories of risk, in patients (Pts) with high triglycerides (TG) concentration.

Methods. Lithium heparin blood samples with TG between 200 and 1000 mg/dL were obtained from 226 fasting in- and out-Pts (68 females, aged 50 ± 15 y and 158 males, aged 55 ± 14 y) referred to our laboratory for routine testing (lipid profile) during a 4 months period. Six homogeneous LDL-C methods (1. Roche Diagnostics, Basel, Switzerland; 2. Sentinel Diagnostics, Milan, Italy; 3. Beckman Coulter Diagnostics, Fullerton, CA, USA; 4. Thermo Diagnostics, West Lafayette, IN, USA; 5. Genzyme Diagnostics, Cambridge, United Kingdom; 6. Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) were assayed nearly simultaneously to ensure equivalent conditions on an ADVIA1800 automated analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics), according to the instructions provided by reagent manufacturers. TG concentrations were measured by using Siemens Healthcare Diagnostics reagents and calibrators. Samples were subdivided into two groups according to their TG concentrations (N=65 with TG 200-399 mg/dL; N=161 with TG 400-1000mg/dL) and both groups were assayed with all LDL-C methods to evaluate concordance with the FF calculation in classifying subjects into treatment groups according to NCEP cut-offs (LDL-C<100, 100-129, 130-159 and ≥ 160 mg/dL). Agreement among different methods was assessed by Pearson's correlation coefficient (r) and by calculation of Cohen's Weighted Kappa inter-rater test (Kw) (Kappa score: poor < 0.2; fair 0.21-0.40; moderate 0.41-0.60; good 0.61-0.80 and very good 0.81-1.00).

Results. In samples with TG < 400 mg/dL, r were 0.978, 0.824, 0.859, 0.976, 0.874 and 0.821 respectively, while in sample with TG>400 mg/dL, r were 0.837, 0.643, 0.726, 0.807, 0.575 and 0.648 respectively. In the first group, agreement with FF in the NCEP classification was Kw= 0.879, 0.879, 0.590, 0.891, 0.793, 0.721 respectively. As expected, agreement was worse in samples with TG>400 mg/dL: Kw = 0.803, 0.430, 0.484, 0.783, 0.484, 0.505. Roche and Thermo methods correctly classified 86.2% and 87.7% patients, respectively, with TG<400 mg/dL and 83.2% and 82.6% with TG > 400 mg/dL. Agreement of other methods with FF calculation was moderate, especially when samples with TG>400 mg/dL were tested (Sentinel 55.9%, Beckman 54.7%, Genzyme 59.0% and Siemens 63.4%).

Conclusions. Our data indicate that the use of direct measurement of LDL-C to classify patients according to NCEP categories of risk may results in different classifications when different methods are used. These findings have relevant clinical implications, since misclassification of patients may lead to inappropriate or unnecessary therapeutic interventions.

EFFECTS OF TREATMENT WITH CONTINUOUS ERYTHROPOIETIN RECEPTOR ACTIVATOR ON CARDIOVASCULAR RISK MARKERS IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS

C-42

M. Dessi¹, V. Botteri¹, A. Noce², O. Durante², S. Manca-di-Villahermosa², N. Di Daniele², M. Antonelli¹

¹Department of Laboratory Medicine; ²Nephrology and Dialysis Unit, Tor Vergata University Hospital, Rome

Aim. Aim of our study was to detect a possible direct effect of Continuous Erythropoietin Receptor Activator (C.E.R.A.) on markers of endothelial damage, inflammation and malnutrition in chronic kidney disease (CKD) patients.

Patients and methods. We investigated the effects of a six-month treatment with C.E.R.A. on HsCRP, alpha1-acid-glycoprotein, homocysteine, total, HDL and LDL-cholesterol, haemoglobin, albumin, pre-albumin, fibrinogen, serum iron and ferritin dosed at baseline (T0), after three (T1) and six months (T2) in 21 male and 19 female stage 3 and 4 CKD patients aged 64 to 82 years (mean $74,16 \pm 5,58$), on stable anaemia correction previously achieved with other erythropoietin stimulating agents. Baseline Body Mass Index was also calculated. $P < 0.05$ was considered significant.

Results: At 3 and 6 months we observed a significant reduction of homocysteine (T0 27.46 ± 8.42 T1 25.09 ± 8.12 and T2 23.52 ± 8.09 $\mu\text{mol/L}$; $p = 0,0011$ T0 vs. T1 and $0,001$ T0 vs. T2) and hsCRP (T0 10.28 ± 12.99 , T1 6.48 ± 7.99 and T2 4.07 ± 4.47 mg/dl; $p < 0,0001$ T0 vs. T1 and T0 vs. T2). At 6 months we observed also a significant decrease of fibrinogen (T0 413.83 ± 114.30 and T2 354.50 ± 97.48 mg/dl, $p = 0,0066$). Other markers were not significantly modified after 6-month C.E.R.A. In particular, plasma haemoglobin remained stable during the whole investigation period (T0 11.09 ± 1.18 , T1 11.19 ± 1.23 and T2 11.03 ± 1.05 g/dl; $p = 0.69$ T0 vs. T1 and 0.52 T0 vs. T2).

Conclusions: Renal anaemia is a multifactorial disorder related either to erythropoietin deficiency either to inflammation and malnutrition (reduced response to erythropoietin). Our results suggest that treatment with C.E.R.A. may influence some markers of inflammation and endothelial damage usually related to cardiovascular risk in renal patients, with a mechanism that seems unrelated to anaemia correction.

INTERFERENZA DA FATTORE REUMATOIDE SU ELETTROFORESI E IMMUNOFISSAZIONE

C-43

N. Camusso¹, S. Nonnis¹, G. Nespolo¹, R. Irde¹, C. Torti²¹Medicina di Laboratorio P.O. A.S.L. n°5 Oristano; ²Medical Systems Genova

La presenza del Fattore Reumatoide (RF), ovvero di anticorpi IgM rivolti verso la porzione Fc della catena pesante delle IgG, rappresenta un importante fattore di interferenza in molteplici diagnostiche. Nelle metodiche in elettroforesi la sua presenza può dar origine ad immunocomplessi (IC), alla comparsa di picchi a banda stretta e indurre all'indicazione di presenza di Componente M (CM) e quindi al sospetto di gammopatia monoclonale. Questo può essere particolarmente frequente in pazienti con macroglobulinemia di Waldenstrom (WMac) dove può coesistere attività RF e CM. Particolarmente per la diagnosi di WMac è importante quindi riuscire ad eliminare possibili interferenze da RF per chiarire il quadro elettroforetico. *Materiale e metodi.* Un paziente con WMac all'elettroforesi in gel d'agarosio (SAS 3/4 Medical Systems) ha presentato in posizione beta gamma un doppio picco con un aspetto anomalo (banda molto stretta). I dosaggi nefelometrici (BNII Siemens) hanno rivelato un aumento delle IgM e delle catene K, mentre le altre immunoglobuline erano nella norma. L'immunofissazione in gel d'agarosio ha mostrato la presenza di una netta banda in posizione IgM/K ma precipitati anche in posizione IgG e IgA, rendendo non conclusivo l'inquadramento diagnostico e facendo sospettare la presenza di interferenti. Un dosaggio nefelometrico del RF ha rivelato un valore di 8000 IU/L. Il campione è stato quindi diluito 1:2 con una soluzione di acetilcisteina con lo scopo di eliminare gli IC per la sua azione riducente.

Risultati. Il trattamento con acetilcisteina ha comportato la scomparsa del picco anomalo all'elettroforesi e una più netta caratterizzazione della CM. Un risultato analogo non è stato ottenuto all'immunofissazione è stato osservato un quadro immutato. La migliore definizione della CM all'elettroforesi, dopo trattamento con acetilcisteina, suggerisce la possibilità di meglio caratterizzare la presenza o l'assenza di CM in presenza di RF. La mancata eliminazione delle interferenze nell'immunofissazione evidenzia la particolare sensibilità del metodo alla presenza di RF e la possibilità che si formino immunocomplessi anche con l'antisiero utilizzato per la caratterizzazione delle eventuali CM.

Conclusioni. I dati confermano osservazioni riportate in letteratura e suggeriscono la necessità di una costante attenzione all'azione interferente del RF nelle metodiche elettroforetiche, in particolare nella diagnostica delle gammopatie monoclonali e tra queste la WMac.

INTERCHANGEABILITY OF B TYPE NATRIURETIC PEPTIDE MEASUREMENTS BETWEEN LITHIUM HEPARIN AND K2EDTA PLASMA: CLINICAL IMPLICATIONS

C-44

E. Stenner¹, A. Buiatti², A. Bussani¹, M. Merlo², G. Barbati³, G. Sinagra², B. Biasioli¹¹Laboratory Medicine Department, AOU, Trieste, ²Cardiovascular Department, AOU, Trieste, ³Department of Environmental Medicine and Public Health, University of Padua, Italy

Aim of the study. Clinical laboratories are developing new organizational models, based on integration and consolidation, basically to improve safety of operators, simplify pre-analytical phase management, reduce blood drawing, costs and turn around time. In this context, the use of only one primary tube per patient is suggested. Recent studies evaluated the lithium heparin (Hep) as an alternative to the recommended K2EDTA for B-type natriuretic peptide (BNP) determinations. However, the results have been controversial and no previous studies have evaluated the BNP diagnostic accuracy when Hep tubes are used instead of K2EDTA. This was the scope of present study.

Methods. Firstly, we assessed the agreement between matrices on 117 samples of patients admitted to Cardiovascular Department (CD) by Deming regression and Bland-Altman (BA) analysis. Secondly, we retrospectively evaluated the BNP diagnostic accuracy in both matrices (BNP-Hep; BNP-EDTA) by ROC curves for those pts whose BNP was performed within 24 hours (BNP-24h) since the admission to CD. Moreover, we made a simulation of the BNP-Hep values on CD BNP-EDTA data base (pts with BNP-24h and not included in BA test) and we compared the sensitivity and specificity between matrices. Technique: two primary tubes were used simultaneously (EDTA K2 and Hep), equally processed and analysed within 4 hours after being drawn. The BNP test (Triage BNP test, Biosite, San Diego, CA) was performed on Access2 (Beckman Coulter Fullerton, CA). The same lot of reagents were used. Within-run and between-day imprecision was calculated by daily quality controls (BIO-RAD Liquichek Immunoassay Plus Trilevel).

Results. Range of BNP-EDTA values: 16.8 to 1819.9 ng/L. Deming equation: $\text{BNP-Hep} = 0.97 \text{ (95\%CI: 0.90 to 1.03)} \times [\text{BNP-EDTA}] - 0.83 \text{ (95\%CI: -5.75 to 4.09)}$. BA: mean value: -3.9% (95% limits of agreement: -69.3% to 61.6%). No significant difference between the areas under the ROC curves. Simulation: to maintain the same accuracy, BNP-Hep cut-off was adjusted to 95.8 ng/L. However, based on BA 95% limits of agreement, cut-off values could range from 48.3 ng/L to 188.2 ng/L, leading to variations in sensitivity and specificity.

Conclusions. Our data support the possibility to use Hep as an alternative to K2EDTA while the simulation results highlight that its use in daily clinical practice could lead to misclassification of patients. Further studies are needed to definitively decide whether the two matrices are interchangeable.

DISTRIBUZIONE DELLE CONCENTRAZIONI DI OMOCISTEINA IN UNA POPOLAZIONE DI RIFERIMENTO

C-45

A. Fortunato, G. Rossetti, L. Bedin, G. Soffiati

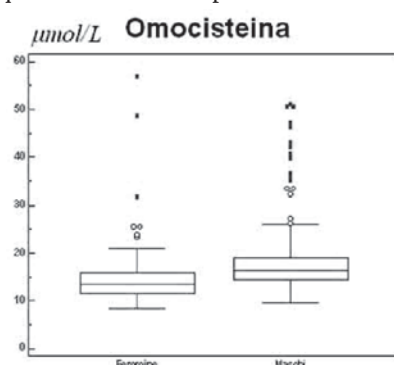
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" - Vicenza

Scopo del lavoro. L'omocisteina (HCY) è un amminoacido solforato, che si forma in seguito a perdita di un gruppo metilico da parte della metionina, che sembra essere un fattore di rischio indipendente poiché è in grado di aumentare l'incidenza di malattie cardiovascolari indipendentemente dalla presenza di altri fattori predisponenti. Nel presente studio è stata valutata la distribuzione delle concentrazioni di HCY in una popolazione di riferimento.

Materiali e metodi. L'HCY è stata misurata complessivamente in 419 soggetti presunti sani, 138 donne e 281 uomini selezionati per assenza di patologie acute o croniche e non assunzione di terapie farmacologiche, con metodo immunochimoluminescente sul sistema ADVIA Centaur (Siemens, Tarrytown - USA). Nella tabella è riportata la distribuzione delle età dei soggetti presi in esame. Il calcolo dei limiti di riferimento è stato effettuato con software GraphRoc con l'esclusione di 3 outlier per le donne e 15 per gli uomini.

Risultati. L'analisi della distribuzione delle concentrazioni nei due gruppi di soggetti evidenzia un valore medio leggermente più basso per le donne (14,5 $\mu\text{mol/L}$, IC 95%:13,5-15,5) rispetto agli uomini (17,9 $\mu\text{mol/L}$, IC 95%:17,2-18,7), ma tale differenza non risulta statisticamente significativa al t-test per distribuzioni indipendenti ($P < 0,0001$).

Discussione e conclusioni. Dalla nostra esperienza l'intervallo di riferimento da adottare nella valutazione dei livelli di HCY risulta compreso tra 9,9 e 23,9 $\mu\text{mol/L}$. In particolare il livello superiore, quello più importante dal punto di vista clinico, risulta più elevato di quanto indicato dal produttore.



	Popolazione					Omocisteina ($\mu\text{mol/L}$)			
	Numero	Età media	I.C. 95%	min	max	Val. inf.	Perc.ile	Val. sup.	Perc.ile
Femmine	138	40,8	38,6-42,9	18	65	8,7	3,0	23,2	97,8
Maschi	281	42,6	41,2-43,9	18	84	11,0	2,6	24,9	97,7
Tutti	419	42,0	40,8-43,1	18	84	9,9	2,7	23,9	97,5

GLI ORMONI TIROIDEI COME MARCATORI PREDITTIVI DI MORTALITÀ IN AMBITO GERIATRICO. L'ESPERIENZA DI UNA MEDICINA LUNGODEGENZA PER POST-ACUTI

C-46

P. Sanseverino, P. Intorcchia, G.C. Giuliani, L. Palazzi

Laboratorio Analisi, U.O. Medicina LungoDegenza, Casa di Cura "Villa Iris", Pianezza (To)

Premesse e scopo dello studio. L'importanza degli ormoni tiroidei in età geriatrica è da tempo nota, non solo per la loro correlazione con l'involutione cerebrale senile ma anche per risultare, una loro eventuale diminuzione, un indice prognostico particolarmente sfavorevole nel corso di gravi patologie tipo le cardiopatie e le neoplasie.

Materiali e metodi. Sono stati valutati i valori degli ormoni tiroidei (FT3-FT4 con metodo radioimmunologico, TSH con metodo immunometrico) in 1000 Pazienti Geriatrici nell'immediato post-ricovero all'interno di un Reparto di Medicina per post-acuti. Si tratta di Pazienti in particolari gravi condizioni, spesso terminali e con discreta comorbidità, con elevata età media (81,7 anni), prevalentemente di sesso femminile (68%) ed una media di patologie "critiche in atto" superiore a 4 per paziente. Principalmente sono Pazienti oncologici (33%), mentre i rimanenti sono affetti da patologie cardiologiche, respiratorie, vascolari e neurologiche.

Risultati. Il valore medio degli ormoni tiroidei relativo ai 1000 casi arruolati ha mostrato dati bassi, soprattutto per l'FT3 (pari a 3,2 pg/mL) ma anche per l'FT4 (pari a 13.76 pg/mL), mentre il TSH ha presentato valori medi. Circa il 72% dei Pazienti valutati ha mostrato valori di FT3 inferiori al range e quasi il 28% ha mostrato valori in range. Relativamente all'FT4 quasi il 10% ha presentato valori inferiori mentre l'86% presenta valori nella norma. I confronti tra più sottopopolazioni all'interno dei 1000 Pazienti ha evidenziato come i valori di FT3 fossero particolarmente e statisticamente più bassi nei soggetti che decedevano durante la degenza rispetto a quelli che sopravvivevano, con una proporzionalità indiretta con la durata della degenza. Dati simili hanno mostrato i soggetti oncologici vs i non oncologici, i cardiopatici vs i non cardiopatici, i decubitati vs i non decubitati ecc. L'FT4 ha mostrato dati simili ma meno evidenti. La valutazione per classi di età ha evidenziato come all'incremento dell'età si verificasse una diminuzione dei valori di FT3 e FT4.

Globalmente deve essere sottolineato come l'FT3 sia l'esame di laboratorio che abbia presentato la maggior sensibilità nel predire i soggetti terminali. Altre sono le valutazioni attualmente in corso e non ancora concluse (es: correlazione con il deterioramento cognitivo ed altre varie comorbidità)

Conclusioni. Si sottolinea l'importanza ed il ruolo degli ormoni tiroidei e delle loro alterazioni in età geriatrica (tipo la "Sindrome da bassa FT3"), soprattutto come indicatori prognostici sfavorevoli per l'evoluzione della degenza.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO DEI TEST TIROIDEI IN GRAVIDANZA SU MODULAR E170**C-47****E. Toffalori, A. Fortunato¹, M.T. Comberlato¹, M.R. Gorza, C. Defranceschi, P. Caciagli**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica Pergine Valsugana-APSS Trento

¹Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia-Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del lavoro. Stabilire gli intervalli di riferimento per i test di funzionalità tiroidea specifici per metodo e per trimestre di gravidanza, come indicato dalle linee guida NACB.

Materiali e metodi. Sono stati raccolti campioni di siero da 367 donne in gravidanza pervenute per test di screening agli ambulatori prelievi degli Ospedali di Trento (170) e di Vicenza (197); richiesta l'assenza di malattia tiroidea, di altre malattie in atto o recenti e assenza di terapie anche omeopatiche. I sieri aliquotati e conservati in freezer a -20°C sono stati testati per TSH, FT4, AbTPO e AbTG con metodo elettrochemiluminescente su analizzatore ROCHE Modular E 170. Elaborazione di tutti i dati disponibili con software MedCalc.

Risultati. Esclusi 25 campioni perchè positivi per autoanticorpi antitiroidei, 342 campioni considerati provenivano da 332 donne caucasiche, 7 africane, 3 asiatiche; età media 32 anni (mediana 32 range 20-44); 147 nel primo trimestre media 11.6 settimane (mediana 12 range 6-12); 162 nel secondo trimestre media 22.1 settimane (mediana 24 range 13-28); 33 nel terzo trimestre media 32 settimane (mediana 32.6 range 29-38).

Risultati di TSH e FT4 con Modular E170 Roche Diagnostics

TSH mU/L	N°	Media	95% I.C.	DS	Me-diana	95% I.C.	Min	Max	2.5 - 97.5 p.le
1° Trim	147	1.6	1,45 - 1,78	1.02	1.5	1,28 - 1,71	0.006	4.88	0,036 - 4,435
2° Trim	162	2.0	1,86 - 2,17	0.97	1.8	1,63 - 1,98	0.005	5.49	0,635 - 4,341
3° Trim	33	2.3	1,97 - 2,64	0.94	2.3	1,65 - 2,53	0.864	4.71	0,918 - 4,544
FT4 ng/dL									
1° Trim	147	1.2	1,17 - 1,23	0.16	1.2	1,16 - 1,21	0.84	2.03	0,923 - 1,593
2° Trim	159	1.0	0,97 - 1,02	0.15	1.0	0,95 - 1,00	0.76	1.59	0,780 - 1,355
3° Trim	32	0.9	0,87 - 0,95	0.10	0.9	0,84 - 0,96	0.75	1.1	0,753 - 1,097

Discussione e conclusioni. Gli IR elaborati per FT4 concordano per tutti i trimestri con quelli indicati per gravidanza dalla ditta; per TSH riscontriamo nei primi due trimestri valori concordanti al 97.5 percentile e differenze al 2.5 percentile (1 Trim, 0.036 al posto di 0.33; 2 Trim, 0.635 al posto di 0.35), mentre nel terzo trimestre troviamo valori più elevati e sarà necessario aumentarne il campionamento.

LONG-TERM VARIABILITY IN SERUM THYROID HORMONES IN HEALTHY SUBJECTS**C-48****V. Brescia, M. Tampoia, A. Mileti, A. Losito, G. Urso, F. Di Serio**

Patologia Clinica I, Policlinico Bari

Background. Many authors have been estimating the within (CVw) and between-subject variation (CVg) using an observation period not exceeding six months and more determinations. The aim of our study was to determine the biological variability of thyroid hormones by using a longer observation period.

Materials. Were assessed 35 (19 males and 16 females) normal blood donors, apparently healthy. In each subject four determinations were performed, one every three months, of TSH, FT4 and FT3. The observation period was 1 year. Determinations were performed on Centaur (Siemens). The analysis of variance (ANOVA) was used to assess the significance of the variability of monthly average of IQC and the calculation of the Grand Mean (GM) of CVw and CVg. Data on biological variation were obtained by subtracting the analytical CV (CVA). The data obtained were compared with those reported in the literature: <http://www.westgard.com>. Index of Individuality (II=CVw/CVg) was calculated.

Results. The table show the CVA obtained during the observation period and the quality specifications reported, the data of biological variability reported in the literature and those obtained by us considering the long term biological variability.

Analytes		min - max	GM	CVA %	CVA %	database of biologic variation			OUR DATA		
				our data	desirable	CVw %	CVg %	II	CVw %	CVg %	II
TSH	UI/L	0,39-4,44	1,65	3,47	4,80	9,5	24,6	0,39	12,53	85,53	0,15
FT4	UI/L	0,84-1,58	1,15	3,91	12,20	5,7	12,1	0,47	4,47	15,49	0,29
FT3	UI/L	2,54-4,31	3,30	3,97	6,00	12,1	17,6	0,69	1,23	11,18	0,11

Conclusions. Our data on biological variability showed values of CVw and CVg of TSH greater than those reported in the literature, but coherent with the physiology of the regulation of hormone secretion. Some authors (eg Hosogaya and Kume) believe that prolonging the observation time analytical variables are introduced, but our CVA has not exceeded the acceptability criteria set. A stable analytical system allows the assessment of biological variability using a frequency of less sampling and more time observing. The variability resulting best describes the biological variability in hormone secretion in healthy subjects.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO DEI TEST TIROIDEI IN GRAVIDANZA SU DIMENSION VISTA

C-49

A. Fortunato¹, E. Toffalori², M.T. Comberlato¹, M.R. Gorza², L. Pecoraro², G. Soffiati¹¹Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia-Ospedale San Bortolo, Vicenza²Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica Pergine Valsugana-APSS Trento

Scopo del lavoro. Stabilire gli intervalli di riferimento per i test di funzionalità tiroidea specifici per metodo e per trimestre di gravidanza come indicato dalle linee guida NACB.

Materiali e metodi. Sono stati raccolti campioni di siero da 423 donne in gravidanza pervenute per test di screening agli ambulatori prelievi degli Ospedali di Trento (193) e di Vicenza (230); è stata verificata l'assenza di malattia tiroidea, di altre malattie in atto o recenti e l'assenza di terapie anche omeopatiche. Sui sieri, aliquotati e conservati a -20°C, sono stati determinati il TSH e l'FT4 con metodo chemiluminescente in fase omogenea (tecnologia LOCI®) su analizzatore Dimension Vista 1500, mentre le determinazioni di Ab-TPO e Ab-TG sono state eseguite con sistema Advia Centaur (Siemens H. D., Tarrytown US).

Risultati. Esclusi 25 campioni perchè positivi per autoanticorpi antitiroidei, i 398 campioni considerati provenivano da 388 donne caucasiche, 7 africane, 3 asiatiche; età media 32,1 anni (mediana 32,0 range 18-44); 195 nel primo trimestre media 11,6 settimane (mediana 12 range 6-12); 171 nel secondo trimestre media 21,4 settimane (mediana 24 range 13-28); 32 nel terzo trimestre media 32 settimane (mediana 32,5 range 29-38).

Risultati di TSH e FT4 con sistema Dimension Vista 1500:

TSH mU/L	N	Media	IC 95 %	SD	Me-diana	IC 95 %	Min	Max	2.5 - 97.5 P.le
1° Trim	195	1,38	1,25 - 1,50	0,87	1,21	1,080 - 1,356	0,008	4,99	0,097 - 3,801
2° Trim	171	1,72	1,59 - 1,84	0,83	1,50	1,423 - 1,680	0,005	4,56	0,533 - 3,763
3° Trim	32	2,05	1,73 - 2,36	0,87	2,01	1,601 - 2,314	0,758	5,01	0,795 - 4,512
FT4 ng/dL									
1° Trim	195	1,10	1,08-1,12	0,15	1,09	1,06-1,11	0,81	1,95	0,82-1,41
2° Trim	171	0,96	0,94-0,98	0,14	0,94	0,92-0,98	0,70	1,48	0,76-1,28
3° Trim	32	0,88	0,84-0,91	0,10	0,87	0,80-0,94	0,73	1,08	0,73-1,07

Discussione e conclusioni. I valori di riferimento trovati per FT4 e TSH sono compatibili, per tutti i trimestri, con quelli indicati dal produttore per la popolazione normale (per il TSH non sono riportate indicazioni per la gravidanza, mentre per l'FT4 non sono indicate differenze nonostante il livello elevato di TBG). Anche se i valori delle medie sono diversi per i vari trimestri, le differenze non sono statisticamente significative ($p < 0,0001$ per FT4 e $p = 0,0001$ per TSH).

INTERFERENZE DELLE VARIANTI EMOGLOBINICHE NEL DOSAGGIO IN HPLC DELL'EMOGLOBINA GLICATA: NOSTRA ESPERIENZA

C-50

I. Cataldo, C. D'Ortona, P. Peca

Lab. Patologia Clinica, Ospedale SS. Annunziata, Chieti

Scopo del lavoro. La cromatografia a scambio ionico ad alta prestazione (HPLC) costituisce una delle metodiche più utilizzate per la determinazione dell'emoglobina glicata (HbA1c). Il dosaggio dell'emoglobina glicata è un parametro essenziale per la valutazione del controllo glicemico nei soggetti diabetici. Purtroppo la presenza di varianti emoglobiniche può determinare delle interferenze sulla separazione cromatografica e causare quindi una inaccuratezza della misura dell'HbA1c. Nel nostro lavoro abbiamo voluto valutare i casi di pazienti con varianti emoglobiniche individuate con il dosaggio dell'HbA1c in un periodo di un anno.

Materiale e Metodi. Abbiamo esaminato 790 pazienti afferenti al Centro Diabetologico dell'Ospedale SS. Annunziata di Chieti. Il dosaggio dell'emoglobina glicata è stato eseguito con il metodo della cromatografia ad alta pressione (Biorad HPLC Variant II metodica A1c). Lo studio delle emoglobine varianti è stato eseguito sempre con lo stesso sistema ma con una corsa cromatografica più lunga (Biorad HPLC Variant II metodica β -Thal).

Risultati. Abbiamo ottenuto 8 casi (1%) di pazienti con varianti emoglobiniche, di questi 4 pazienti presentavano una emoglobina C, 3 una emoglobina di tipo S e un paziente aveva una emoglobina delta. Inoltre 65 soggetti (8,2 %) presentavano valori di HbF elevati.

Discussione e conclusioni. La presenza di emoglobina variante HbS e HbC allo stato di eterozigote e la presenza di una emoglobina fetale aumentata non ha evidenziato una particolare interferenza nella determinazione dell'HbA1c, anche se la sua misura è meno accurata. E' importante segnalare che i pazienti non erano a conoscenza della presenza delle varianti emoglobiniche o di essere portatore di beta talassemia eterozigote. E' utile quindi la segnalazione da parte del laboratorio nella refertazione dell'HbA1c. Inoltre viene raccomandata un ulteriore approfondimento del caso con lo studio dell'assetto emoglobinico completo in alcuni casi anche dei componenti del nucleo familiare.

Bibliografia

Galanello R, Barrella S, Gasperini D. Evaluation of a new automatic HPLC analyser for talassemia and haemoglobin variants screening. Journal of Automated Chemistry 1995; 17:73-6.

CONCENTRAZIONE DI MR-proANP E NT-proBNP IN PAZIENTI CON FIBRILLAZIONE ATRIALE PRIMA E DOPO CARDIOVERSIONE ELETTRICA

C-51

E. Toffalori, G. Stefani, S. Quintarelli¹, E. Minchio¹, E.C. Dal Piaz¹, M. Disertori¹, R. Bonmassari¹, P. Caciagli

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale Santa Chiara, APSS Trento; ¹UO Cardiologia Ospedale Santa Chiara, APSS Trento

Scopo del lavoro. Analizzare l'andamento delle concentrazioni del propeptide natriuretico atriale MR-proANP e del propeptide natriuretico brain NT-proBNP in pazienti con fibrillazione atriale (FA) prima e dopo cardioversione elettrica (CVEL).

Materiali e metodi. Arruolati 22 pazienti con primo episodio di FA che richiedeva CVEL eseguito non in urgenza; assenza di patologie infiammatorie croniche, non pregressa cardiopatia significativa e consenso informato; compilazione di scheda clinica e terapeutica; ECG e prelievo di sangue la mattina prima della CVEL, il giorno dopo e dopo un mese; ecocardiografia pre-cardioversione e dopo un mese. Concentrazioni plasmatiche di MR-proANP con dosaggio immunofluorescente BRAHMS analizzatore Kryptor e NT-proBNP con metodo ECLIA Roche Diagnostics analizzatore Modular E170.

Risultati. Dei 22 pazienti (età media 69 anni, range 37-89) per 8 non raccolti i dati al controllo del mese. La correlazione complessiva dei dosaggi MR-proANP e NT-proBNP risulta con $r^2 = 0.48$ e valore analogo si ottiene escludendo i dosaggi dopo un mese. MR-proANP: concentrazioni pre-CVEL tutte elevate (media 265 pmol/L DS 91 range 107-526); dosaggi del giorno dopo (media 176 pmol/L DS 92 range 51-451) tutti diminuiti in media del 33.5% (range -69, -4%) mantenimento della diminuzione per 9/14 pazienti controllati dopo un mese. NT-proBNP: concentrazioni pre-CVEL (media 1277 pg/mL DS 709 range 192-2795) con 11 casi indicative di scompenso cardiaco (9 tra 50-75 anni >900, 2 oltre 75 anni >1800 pg/mL); dosaggi del giorno dopo (media 766 pg/mL, DS 659 range 42-2625) diminuiti del 40% (range -83, +40%) ma con incremento per due pazienti; mantenimento della diminuzione dopo un mese per 12/14 controlli. Ritorno a RS per 18/22 pazienti (82%) con calo di MR-proANP medio -40.8% e di NT-proBNP -52.5% contro la media per i 4 con CVEL inefficace rispettivamente di -12.4% e -17.3%. Dei 6 pazienti che dopo un mese non erano a RS, 4 avevano un incremento di MR-proANP o ritorno a valori pre CVEL e di questi 2 dimostravano un incremento di NT-proBNP.

Conclusioni. Entrambi i propeptidi evidenziano mediamente un notevole calo il giorno dopo con minima riduzione se CVEL inefficace. La valutazione con t di Student delle diminuzioni prima e dopo CVEL dimostra come siano significative le differenze tra le medie osservate nel gruppo con RS e nel gruppo con persistenza di FA in particolare per MR-proANP $p = 0.0015$ (NT-proBNP $p = 0.0301$). Il comportamento delle variazioni ormonali nel tempo non sono sempre concordanti: l'interpretazione dei dati richiede una valutazione clinico-laboratoristica più estesa ed approfondita.

SERUM CYSTATIN C AND RISK OF MORTALITY IN CARDIAC-SURGICAL PATIENTS

C-52

M. Dessi¹, M. Antonelli¹, V. Botteri¹, A. Noce², M. Ferrannini², M. Scognamiglio³, A. Pellegrino³, G. Federici¹

¹Dept of Laboratory Medicine, ²Nephrology and Dialysis Unit, ³Cardiac-Surgery Tor Vergata University Hospital, Rome

Aim. To assess the long-term prognostic value of serum cystatin C (sCysC) on mortality in adult cardiac-surgical patients.

Materials and Methods. We conducted a prospective observational study (2007-2009) on 424 patients (250 male and 174 female, mean age 67.72 ± 10.76 years) recovered in cardiac-surgery department. All patients were evaluated for renal function with sCr and sCys at admission. 173 were submitted to coronary artery bypass graft (CABG), 44 CABG and valvular prosthesis, 131 valvular prosthesis only, 74 for other kinds of cardiac surgery. Patients were subdivided in quartiles according to their sCys C values: Q1 sCys C <0.81 mg/L (29 patients), Q2 sCys C 0.81-0.92 mg/L (81 patients), Q3 sCys C 0.93-1.10 mg/L (29 patients) and Q4 sCys C >1.11 mg/L (285 patients). Kaplan -Meier cumulative survival curves were plotted for sCys C quartiles with a follow-up of 24 months (Fig. 1).

Results: Patients in Q3 and Q4 showed a higher cumulative probability of mortality compared to patients in the lowest quartiles ($p=0.0007$).

Conclusion: Increased levels of serum Cystatin C may be considered a predictor of cardiovascular mortality at two-years follow-up in cardiac-surgical patients.

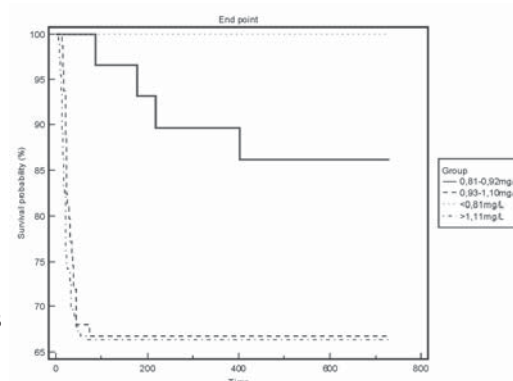


Figure 1: Kaplan-Meier estimates for the rates of cardiovascular deaths at two-years follow-up.

ANALISI DELLA DISTRIBUZIONE DEI VALORI DI VITAMINA D IN UNA POPOLAZIONE NON SELEZIONATA

C-53

A. Fortunato, C. Marchetti, L. Zanuso, G. Soffiati

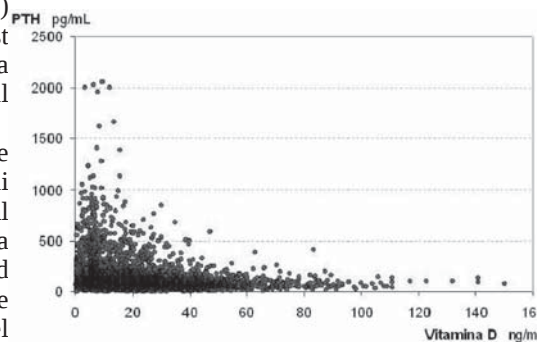
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" - Vicenza

Scopo del lavoro. La crescente attenzione posta nella valutazione del metabolismo osseo, in particolare nel monitoraggio della patologia osteoporotica, ed il riscontro sempre più frequente che, nella maggior parte della popolazione, l'apporto di vitamina D con l'alimentazione risulta carente ha valorizzato il ruolo del laboratorio nella misura della concentrazione di tale parametro. È stata valutata la distribuzione delle concentrazioni di vitamina D riscontrate nei pazienti afferenti al nostro Laboratorio.

Materiali e metodi. Sono state considerate le determinazioni effettuate con sistema immunochemioluminescente automatizzato (Liaison®, DiaSorin, Saluggia, VC) in 9610 pazienti, 7880 donne e 1730 uomini con età compresa tra 1 mese e 102 anni (media 65,9 anni - I.C. 95%: 65,6-66,3). I prelievi sono stati eseguiti nelle varie stagioni: 2083 in inverno, 2449 in inverno, 2130 in estate e 2130 in primavera.

Risultati. I valori medi di vitamina D riscontrati nelle varie stagioni sono: 23,7 ng/mL (I.C. 95%: 22,6-24,4) per l'autunno, 24,8 ng/mL (I.C. 95%: 24,0-25,7) per l'estate, 18,9 ng/mL (I.C. 95%: 18,2-19,6) per l'inverno e 21,4 ng/mL (I.C. 95%: 20,8-22,0) per la primavera. Il t-test indica come non significativa (P compreso tra <0,0001 e 0,0319) la differenza tra le distribuzioni riscontrate nelle varie stagioni, anche se il valore medio è superiore nel periodo estivo e inferiore in inverno.

Discussione e conclusioni. Si evidenzia, nonostante nella popolazione considerata siano presenti pazienti in corso di supplementazione di vitamina D, che il 76,9% delle determinazioni effettuate risulta inferiore al limite di 30 ng/mL, indicato dalla letteratura come la concentrazione minima che rispecchia un sufficiente apporto di vitamina tra alimentazione ed esposizione al sole. Inoltre il 45,5% dei campioni considerati risulta inferiore a 18 ng/mL, considerato come il limite di concentrazione al di sotto del quale si considera il paziente in una situazione di carenza di vitamina D. L'effetto clinico negativo dell'insufficiente apporto di vitamina D si evidenzia anche dall'andamento, inversamente proporzionale, riscontrato per le concentrazioni di PTH negli stessi campioni: nei campioni in cui è stato riscontrato un livello di vitamina D inferiore a 30 ng/mL, la concentrazione di PTH misurata è risultata superiore al 75° percentile della distribuzione dei valori nella popolazione di riferimento.



“LA TIROIDE SCENDE IN PIAZZA”: RESOCONTO DELLE MANIFESTAZIONI 2008-2010

C-54

A. Ferrari, R. Castello¹, L. Furlani², C. Cocco, B. Caruso, A. Cremon, L. Lippa, A. Massocco, N. Melloni, D. Nicolis, M. Nundini, M.S. Graziani

Laboratorio Analisi dO, Dip. di Patologia e Diagnostica, AOUI Verona; ¹U.O. Medicina Generale ad ind. Endocrinologico dO, AOUI Verona; ²Servizio di Endocrinologia, Ospedale Sacro Cuore, Negrar

Introduzione. Tra il 2008 e il 2010 sono state organizzate 4 manifestazioni denominate “La tiroide scende in piazza” per sensibilizzare la popolazione di Verona e provincia sulle patologie tiroidee. Il laboratorio è stato coinvolto nella gestione informatica dei dati anagrafici, anamnestici e diagnostici e nell'esecuzione dei test di funzionalità tiroidea.

Scopo del lavoro. Utilizzare un database per la gestione rigorosa dei dati al fine di aggiornare l'intervallo di riferimento (IR) del TSH e le soglie decisionali del TSH riflesso (TSHr).

Materiali e metodi. Su cittadini privi di patologia tiroidea, lo studio ha previsto: accettazione anagrafica, anamnesi e visita endocrinologica, prelievo ematico ed ecografia del collo. I test di funzionalità tiroidea sono stati eseguiti con Advia Centaur XP (Siemens). Tutti i dati sono stati inseriti in un database di MS Access®, allestito dal personale del laboratorio. Per l'IR del TSH sono stati selezionati 646 individui sulla base di: familiarità, visita, positività ad AbTPO, ecografia e terapia. Per la verifica dell'algoritmo del TSHr sono stati considerati 3874 pazienti afferenti al Laboratorio: n=2834 con TSH 4,3-10 mU/L, n=654 con TSH >10 mU/L, n=386 con TSH 0,15-0,35 mU/L. Per il calcolo dei percentili (2,5 e 97,5) e degli intervalli di confidenza (IC) al 99% è stato utilizzato Stata® (STATA Corp LP-USA).

Risultati. Sono stati valutati 2916 cittadini (31% M e 69% F): l'8,5% presenta alterata funzionalità tiroidea. In 1293 cittadini (44,3%) è stato rilevato almeno un nodulo: a 775 (26,6%) è stato consigliato l'agoaspirato, a 480 un follow-up ecografico. L'IR per il TSH è risultato fra 0,45 mU/L (IC 0,42-0,52) e 3,02 mU/L (IC 2,70-3,29) e abbiamo fissato la soglia decisionale per dosare gli AbTPO a 3 mU/L. Nei pazienti del laboratorio, per valori di TSH 4,3-10 mU/L, l'fT4 (IR 10-23 pmol/L) è risultato fra 9 pmol/L (IC 9-9) e 20 pmol/L (IC 20-21), mentre per TSH >10 mU/L è risultato 3,4 pmol/L (IC 3-4) e 19 pmol/L (IC 17-19,5). È possibile dosare fT4 e AbTPO quando il TSH >10 mU/L. Con TSH 0,15-0,35 mU/L i valori di fT4 sono risultati entro l'IR, quindi 0,15 mU/L può rappresentare la soglia decisionale inferiore. Pertanto abbiamo fissato l'IR e le soglie dell'algoritmo del TSHr a 0,15-3,00 mU/L.

Conclusioni. Il database ha consentito di confrontare i dati raccolti, di effettuare una valutazione dello stato di salute della tiroide dei partecipanti e di aggiornare l'IR del TSH e l'algoritmo diagnostico del TSHr, con miglioramento dell'appropriatezza nella richiesta degli esami di laboratorio.

IL MARCATORE TUMORALE CA125 NELLE FASI AVANZATE DI SCOMPENSO CARDIACO: RELAZIONE CON NT-proBNP

C-55

G. Zipoli¹, A. Buggiani², S. De Cesaris²

¹Università degli studi di Firenze, ²U.O.C Analisi chimico-cliniche Ospedale San Giuseppe, Empoli

Scopo dello studio. Lo scopo di questo studio è stato quello di validare il potere diagnostico e la relazione fra NT-proBNP e CA125 in pazienti anziani con scompenso cardiaco e gravi comorbidità, ai fini della diagnosi e della stadiazione clinica.

Materiali e Metodi. 35 pazienti di sesso maschile di età ≥ 75 anni con conclamata diagnosi di scompenso cardiaco sono stati raggruppati secondo i criteri NYHA in tre classi di scompenso: lieve (NYHA I-II), moderato (NYHA III), severo (NYHA IV). I tre gruppi sono stati confrontati con una popolazione di controllo di 33 soggetti di sesso maschile di età >75 anni in assenza di segni clinici di scompenso cardiaco. I sistemi di analisi utilizzati sono stati il Vidas® per il dosaggio dell'NT-proBNP e l'ARCHITECT 2000SR per il dosaggio del CA125.

Risultati. CA125 e NT-proBNP sono significativamente elevati nel gruppo con scompenso cardiaco diversamente dal gruppo di controllo ($p < 0,001$). Gli stessi valori risultano molto elevati nel gruppo con scompenso severo e sono significativamente minori nel gruppo con scompenso lieve ($p < 0,05$). I livelli di CA125 e NT-proBNP riscontrati nei vari gruppi sono stati rispettivamente: $10,0 \pm 4,5$ U/mL e $327,1 \pm 428,9$ pg/mL nel gruppo di controllo; $15,4 \pm 5,8$ U/mL e $1568,5 \pm 1706,7$ pg/mL nel gruppo NYHA I-II; $48,1 \pm 21,2$ U/mL e $8709,3 \pm 8434,0$ pg/mL nel gruppo NYHA III; $174,7 \pm 99,1$ U/mL e $9889,6 \pm 10208,3$ pg/mL nel gruppo NYHA IV. Per valutare la correlazione tra le concentrazioni plasmatiche di CA125 e quelle di NT-proBNP è stato utilizzato l'indice di correlazione R per ranghi di Spearman, dimostrando una correlazione lineare altamente significativa tra i due marcatori ($\rho = 0,693$ $p < 0,0001$). Per individuare il valore diagnostico di cut-off delle concentrazioni plasmatiche di CA125 e di NT-proBNP è stata effettuata l'analisi delle curve ROC nel sottogruppo di pazienti con scompenso cardiaco avanzato (NYHA III-IV). In tal caso l'analisi ha evidenziato per il CA125 un cut-off di 22,5 U/mL e per l'NT-proBNP di 579 pg/mL. Per confrontare la performance dei due test è stato eseguito il confronto dell'area sottesa alle curve (area CA125=1,00 e area NT-proBNP=0,914) con un rapporto pari a 0,086 e $p < 0,05$ valore che indica una differenza statisticamente significativa del potere diagnostico dei due test.

Conclusioni. L'analisi statistica dei risultati ha evidenziato che nelle fasi avanzate di scompenso cardiaco (NYHA III-IV) in soggetti anziani con gravi comorbidità, il CA125 risulta più sensibile e specifico rispetto all'NT-proBNP. CA125 è fortemente correlato alla severità dello scompenso cardiaco e rappresenta una valida alternativa nella diagnosi di questa patologia.

CARDIOTOSSICITA' E NEFROTOSSICITA' DA FARMACI CHEMIOTERAPICI IN PAZIENTI CON TUMORE ALLA MAMMELLA: STUDIO PREDITTIVO

C-56

R. Villano¹, D. Bilancia², G. Mazzitelli¹, R. Beneventi¹

¹U.O.S. Laboratorio di Urgenza; ²U.O.S. D.H. Oncologia, A.O. San Carlo Potenza

Scopo del lavoro. La cardiotoxicità e la nefrotossicità rappresentano i principali fattori limitanti l'uso dei farmaci chemioterapici, in soggetti oncologici. Nel presente studio si è voluta verificare la possibilità di identificare precocemente pazienti ad alto rischio per tali patologie, monitorando per 6 mesi un gruppo di soggetti con tumore della mammella in terapia precauzionale con antracicline liposomiali (Myocet).

Materiali e metodi. Su 39 soggetti si è effettuato in contemporanea immunodosaggio della TnI su strumento ACCESS II BECKMAN in campioni raccolti in eparinato di litio e dei livelli di NGAL in immunofluorescenza su BIOSITE MeterPlus in campioni in K3EDTA.

Risultati. In uno solo dei soggetti esaminati si è evidenziato aumento significativo della TnI e del Ngal non seguito, come evidenziato dal monitoraggio mensile né da IMA né da AKI. Per quanto concerne il NGAL si sono riscontrati aumenti del marcatore in 19 soggetti, ma in nessuno si è instaurata IRA.

Conclusioni. L'alto valore predittivo negativo dei due marcatori (TnI e Ngal) utilizzati nel presente studio, sebbene preliminare, ha consentito di evidenziare con una buona percentuale di sicurezza le pazienti a basso rischio di cardiotoxicità e nefrotossicità. I livelli di TnI e di NGAL riscontrati in una sola paziente si ritiene possano essere messi in relazione alla dose del farmaco, e/o all'intervallo di somministrazione. Le informazioni fornite precocemente, prima del instaurarsi del danno funzionale e/o della sintomatologia, consentono di attuare strategie terapeutiche preventive, in una fase in cui il danno cardiaco o renale è ancora potenzialmente prevenibile. Infine, i due marcatori potrebbero essere utilizzati in futuro per valutare e confrontare l'efficacia e la sicurezza di nuovi farmaci antineoplastici.

DESCRIZIONE DI UN CASO “ANOMALO” DI LMC INFANTILE

C-57

R. Villano¹, R. Beneventi¹, M.T. Barnaba¹, A. Picerno¹, E. Ferri²¹U.O. Laboratorio di Patologia Clinica; ²U.O. Anatomia Patologica - A. O. San Carlo Potenza

Scopo del lavoro. Descrivere un caso “anomalo” di leucemia mieloide cronica. La L.M.C. appartiene al gruppo delle sindromi mieloproliferative, colpisce prevalentemente soggetti di sesso maschile di età >50 anni, nel 90% dei casi è presente il cromosoma PH+. Il riscontro di tale quadro clinico in età infantile è estremamente raro (2%).

Materiali e metodi. Una bambina di 4 anni in buone condizioni psicofisiche presenta episodi febbrili ricorrenti con tonsillite e diarrea ed è pervenuta alla osservazione per un esame emocromocitometrico di routine, richiesto dalla pediatra a seguito del rilievo di modesta splenomegalia. L'emocromo eseguito su ADVIA 120 ha evidenziato: WBC 319.000 x10³/μl, PLT 1.083 (109/L), HB 8(gr/dL). La formula leucocitaria mostra nettissima prevalenza di neutrofili (92.7%), ed allarmi LEFT SHIFT e IG. Sul citogramma della Perox le cellule formano un fitto ed esteso raggruppamento nella zona dell'alta attività perossidasi, di solito riservata ai neutrofili. Il citogramma dei BASO conferma l'ampia distribuzione delle cellule leucemiche, che si spingono ad invadere il settore dei basofili, con conseguente iperbasofilia (14.2%). Anisocitosi e ipocromia a carico della serie rossa. Il controllo su SISME X-XT 2000I ha evidenziato estensione del cluster dei neutrofili, verso l'alto, in una zona ad alta fluorescenza nello scattergram DIFF suggerendo la presenza di IG. I numerosi elementi contati nell'area dei BASO nello scattergram WBC/BASOFILI indicano presenza di cellule immature di grandi dimensioni. La lettura microscopica dello striscio periferico ha evidenziato una popolazione eterogenea della serie granulocitaria con presenza di neutrofili a banda, metamielociti, mielociti, rari promielociti e numerosi basofili. Si è inoltre riscontrato aumento di LDH (1.268 UI/ml), Vit. B12 (10.260 pg/ml) ed uricemia (6.5 mg/dl). Mediante studi molecolari si è ricercato il gene BCR/ABL presso l'U.O. di Anatomia Patologica.

Risultati. Il campione è risultato positivo per la traslocazione bilanciata reciproca (9;22) tra le braccia lunghe dei cromosomi 9 e 22, t(9;22)(q34;q11) in cui sono coinvolti l'oncogene ABL sul cr. 9 ed il gene BCR, sul cr. 22, confermata dalla FISH.

Discussione e conclusioni. La caratteristica peculiare che rende questo caso “particolare” e lo differenzia dalla L.M.C.G. classica (classificazione FAB) che colpisce i bambini di età inferiore ai 5 anni, è l'assoluta mancanza, nel quadro ematologico, di monocitosi e la presenza della t(9-22). Per la conferma del sospetto diagnostico il campione è stato inviato ad un centro genetico specialistico in altra sede, che, mediante ibridazione con sonde genetiche, ha confermato la diagnosi di LMC.

DATI PRELIMINARI DEL DOSAGGIO DEL NGAL IN SOGGETTI POLITRAUMATIZZATI

C-58

R. Beneventi, R. Villano, G. Mazzitelli

U.O.S. Laboratorio di Urgenza A. O. San Carlo Potenza

Scopo del lavoro. La Ngal è una proteina di piccole dimensioni che si libera rapidamente dopo una qualsiasi noxa patogena a livello renale. Nel presente lavoro sono stati studiati, nel corso di 4 mesi, pazienti pervenuti all'U.O. di PS a seguito di politraumi al fine di evidenziare precocemente, mediante il dosaggio del NGAL, l'eventuale insorgenza di AKI.

Materiali e Metodi. 34 pazienti politraumatizzati giunti all'U.O. di Pronto Soccorso a seguito di incidenti stradali, lavorativi e domestici. In tutti i pazienti è stato effettuato all'atto della prima osservazione il dosaggio in immunofluorescenza del NGAL su strumento Meter Plus BIOSITE in campioni raccolti in K3EDTA e la creatininemia su UNICEL Dx C 600i BECKMAN. I pazienti arruolati nello studio sono stati monitorizzati per 24 -48 e 72 ore dall'evento traumatico. Per tre soggetti il monitoraggio si è protratto oltre la 72° ora fino a 12 giorni.

Risultati: I 34 pazienti studiati (26 maschi e 8 femmine) sono stati divisi per età media 27.9 per i maschi e 45.22 per le femmine. Il criterio di inclusione nello studio è stato il valore della creatininemia all'atto della prima osservazione: sono stati arruolati solo i soggetti con valori nella norma. In 9 soggetti di sesso maschile ed in 1 sesso femminile i valori di NGAL sono risultati superiori a quelli di riferimento del laboratorio (0-148ng/ml) con un valore massimo di 240 ng/ml. Il monitoraggio a 12-24-48 e 72 ore ha evidenziato in un solo dei soggetti insorgenza di AKI, a distanza di 96 ore. In tutti gli altri soggetti con valori elevati all'atto del ricovero, non si è registrata AKI. In 3 degli 8 casi con valori iniziali più elevati si è assistito un andamento caratterizzato da un acme alla 24 h e successiva riduzione a partire dalla 72° ora e ritorno a valori di normalità in IV giornata. In 2 soggetti maschi di 14 e 16 anni, compresi nello studio, i valori di NGAL si sono mantenuti nella norma dalla prima osservazione e non hanno presentato durante il monitoraggio, fino ad exitus sopravvenuto rispettivamente dopo 9 e 12 giorni, aumenti del valore del NGAL.

Discussione e conclusioni. In base ai dati emersi dal presente studio si ritiene che il dosaggio del NGAL può essere utilizzato dalla prima osservazione come marker precoce, non invasivo, di insorgenza di AKI in soggetti politraumatizzati. E' tuttavia da sottolineare che il riscontro di valori elevati di NGAL, nelle prime ore dal trauma, non sempre è predittivo di insorgenza di AKI ma potrebbe essere interpretato quale espressione di uno stress renale transitorio, probabilmente legato a fenomeni di ipoafflusso o a concomitanti infezioni connesse a tipo e sede del traumatismo.

NGAL MARKER PREDITTIVO DI AKI IN REGIME DI URGENZA**C-59****R. Beneventi, R. Villano, C. Lapadula, S. Brindisi, D. Tummillo, G. Mazzitelli**

U.O.S. Laboratorio di Urgenza A.O. San Carlo Potenza

Scopo del lavoro. Definire se la NGAL possa essere considerato un marker predittivo, precoce e affidabile nella diagnosi rapida di AKI in soggetti “critici”, valutare sensibilità e specificità dell’aumento precoce del NGAL, migliorare l’outcome dei pazienti, ridurre degenza e costi ospedalieri, evitare la cronicizzazione del danno renale. L’AKI è un problema clinico ad alta incidenza (5%) nei pazienti ospedalizzati per morbidità e mortalità: nell’ambito dell’ “Interventistica Chirurgica e Radiologica” è una temibile complicanza e segno di un grave stato di shock o di sepsi. La NGAL (Gelatinasi Neutrofila Associata alla Lipocalina), proteina con funzioni di regolatore cellulare in corso di infezioni, infiammazioni, ischemie e neoplasie, è presente a livello renale, indipendentemente da processi infiammatori o infettivi, ed aumenta subito dopo una qualsiasi “noxa nefrotossica” a livello tubulare, per cui rappresenterebbe il marker di elezione di danno renale acuto.

Materiali e metodi. 60 soggetti adulti: 17 dall’U.T.I Cardiochirurgica, 17 dalla Rianimazione, 26 dal P.S. Il dosaggio del NGAL è stato effettuato su Triage Biosite in campioni raccolti in K3EDTA ed esaminati immediatamente o centrifugati e stoccati a -20°. In tutti è stata dosata la creatinina (Beckman UniCel DX C600i)

Risultati. Dei 17 soggetti esaminati dell’U.O. UTI Cardiochirurgica (bypass aortocoronarico, rottura aorta addominale, sostituzione valvolare), 8 (47%) hanno presentato aumenti di NGAL (V.M. 290) seguiti da insorgenza di AKI a 48-72 ore. Dei 17 pazienti dell’U.O. Rianimazione: in 6(35.3%) i valori NGAL sono risultati aumentati (V.M.750): in tutti a distanza di 4-5 giorni casi si è instaurata AKI; 3 sono andati incontro ad “exitus” dopo 2-7 e 22 giorni e 1 è in dialisi. I soggetti positivi presentavano patologie eterogenee. Dei 26 politraumatizzati del P.S. in 2 (7.7%) si è verificato un aumento del NGAL (V.M.161) e nessuno, dopo 20 giorni, ha presentato AKI. Nei 16 soggetti con valori di NGAL >148 si è riscontrato un aumento della creatinemia a distanza di 24-48 h.

Discussione e Conclusioni: Dal presente studio sono emerse una serie di considerazioni: i marcatori “storici” di danno renale datati 50 anni (aumento di creatinina e contrazione della diuresi) presentano variazioni tardive, apprezzabili molte ore dopo il danno molecolare e sono solo espressione di danno “funzionale”. Il dosaggio del NGAL non presenta difficoltà metodologiche e può essere effettuato in urgenza. L’aumento del NGAL consente interventi terapeutici tempestivi con riflessi positivi sul decorso dell’AKI e sulla scelta ed efficacia delle strategie terapeutiche (dialisi). NGAL è un nuovo marcatore di danno renale, una proteina idonea al precoce riconoscimento dell’AKI in grado di predirne l’insorgenza entro poche ore dall’istaurarsi dell’insulto renale.

STUDIO EPIDEMIOLOGICO RETROSPETTIVO DELLA NGAL NELLA PREECLAMPSIA**C-60****D. Tummillo, C. Ramunno, R. Beneventi**

U.O.S. Laboratorio di Urgenza A.O. San Carlo, Potenza

Scopo del lavoro. Studio retrospettivo sull’andamento della NGAL in donne in gravidanza complicata da preeclampsia (PE), per valutarne i livelli sierici come marcatore precoce ed affidabile al fine di attuare una terapia tempestiva a tutela della salute della gravida e del feto.

Materiali e metodi. Sono state selezionate 35 donne in gravidanza: 15 che hanno sviluppato PE dopo la 24a settimana e 20 con gravidanza non complicata (gruppo di controllo). Il dosaggio della NGAL è stato effettuato su TRIAGE Biosite in campioni raccolti in K3EDTA ed esaminati immediatamente o centrifugati e stoccati a -20°. In tutti è stata dosata la creatinina (Beckman UniCel DX C600i).

Risultati. Dati come riferimento valori compresi tra 0 e 148 ng/ml, delle 20 gravide che costituivano il gruppo di controllo, 17 hanno mostrato valori nella norma (valore medio 77 ng/ml) e 3 valori rispettivamente di 188, 152 e 450, pur non presentando alcuna sintomatologia. Il test ha quindi dimostrato una specificità del 85%. In tutte le pazienti la creatinemia era nella norma. Delle 15 pazienti con PE, 10 hanno presentato valori superiori a 148 ng/ml (valore medio 261,7) con un valore minimo di 151 e uno massimo di 739 ng/ml (sensibilità test 66%). Nelle 10 pazienti positive si è riscontrata proteinuria e ipertensione, e in 3 presenza di alti valori di D-Dimero ed FDP (anch’essi correlabili con la PE). La creatinemia delle pazienti preeclamptiche è risultata nella norma.

Discussione e conclusioni. La PE è una sindrome caratterizzata dalla presenza, isolata o in associazione, di ipertensione, proteinuria ed edema, che si verifica in circa il 5-10 % delle donne gravide. La patogenesi è riconducibile ad una inadeguata invasione endovascolare delle arterie spirali da parte del citotrofoblasto nella fase dell’impianto, con conseguente insufficienza placentare e vasocostrizione. L’ipertensione derivata causa alterazione della funzionalità renale a livello glomerulare (proteinuria), con danno endoteliale. A seguito di tale danno si è riscontrato un aumento di Gelatinasi Neutrofila Associata alla Lipocalina (NGAL), proteina di piccole dimensioni presente normalmente a livello renale che aumenta in caso di una qualsiasi “noxa nefrotossica”. Dal presente studio è emersa una correlazione tra NGAL e i sintomi della PE, che consente di utilizzarla come marker predittivo, precoce e affidabile in caso di PE per prevenirne le complicanze (eclampsia) ed attuare una terapia tempestiva per prolungare la gestazione e ridurre i rischi connessi alla prematurità fetale), o, qualora la settimana di gestazione lo consenta, di effettuare un parto cesareo. Va tuttavia sottolineato che il dosaggio della NGAL deve essere utilizzato in correlazione ad altri indici biochimici e clinici.

IL CASO CLINICO: IL SOSPETTO FALSO POSITIVO DA ANTICORPI ETEROFILI NELLE DETERMINAZIONI DI TROPONINA È SEMPRE VERO?

C-61

M. Varani, S. Tagliavini, P. Natali, AM. Cenci

Corelab, Dip.Pat.Clin., NOCSAE-AUSL Modena

Introduzione. L'interferenza analitica "è l'errore sistematico della misura causata da un componente del campione che da solo non viene rilevato nel sistema di misura"(IFCC). Essa, scoperta spesso solo per la segnalazione dell'incongruenza di un risultato rispetto alla clinica del paziente, è particolarmente insidiosa nei dosaggi immunometrici. Analita-dipendenti o analita-indipendenti, le interferenze danno aumenti o diminuzioni nel dosaggio, a seconda dell'architettura dell'analisi (competitiva o non competitiva). Clinicamente queste situazioni risultano molto pericolose nei risultati di marker biologici valutati in termini di variazione temporale e di cut-off, ad es. marker tumorali e troponine (Tn). Interferenti comuni sono costituiti dagli anticorpi (Ab) anti-animale (IgG, IgA, IgM); risultato di cause iatrogene e non, essi comprendono Ab anti-topo, coniglio, capra, pecora, maiale, cavallo, mucca, chimerici e Ab con più specificità. Presenti a concentrazioni anche di g/L e persistenti per anni, mostrano una prevalenza di 10.4% nei non trasfusi e di 14.4% nei trasfusi.

Scopo. In dosaggi non competitivi come la Tn, gli Ab eterofili generano risultati falsamente positivi legando 2 Ab anche in assenza dell'antigene nel campione; indipendentemente dal metodo, sono responsabili di circa il 22% di falsi positivi per Tn. Si valuta 1 caso erroneamente interpretato come interferenza da Ab eterofili nel dosaggio della TnI.

Materiali e metodi. TnI è eseguito in chemiluminescenza su DxI800 (21.300 TnI/anno); le verifiche per interferenze da eterofili avvengono con Scantibodies HBT, provetta che sottrae specificamente gli Ab alla reazione. Il caso è di donna, 64 anni, degente in T.I.P.O. dopo intervento di chirurgia maggiore dell'addome, con TnI elevata non correttamente inquadrabile, supposta errata perché in assenza di clinica da IMA. Si esegue conferma su altro prelievo, su tre differenti strumenti (DxI e Access Beckman Coulter; Stratus Siemens), e in HBT. Si decide quindi di eseguire prelievi seriali (Pn) a tempi standard.

Risultati. Valori di Tn nel tempo (ng/ml): P1 54; P2 68.01; P3 38.12; P4 35.29; P5 16.6; P6 8.75. Si giunge nel frattempo alla diagnosi di stato settico e disfunzione d'organo.

Discussione e conclusioni. È nota da tempo per la Tn la possibilità di alti dosaggi non legati ad IMA, ad esempio la sepsi, da considerare nella valutazione del dato. L'utilizzo di prelievi seriali aiuta la conferma di valori realmente elevati dell'analisi. HBT, su segnalazione dello stesso produttore, non è sempre in grado di rilevare interferenze da Ab eterofili in dosaggi con Ab murini, come per AccuTnI, non potendo così essere considerato mezzo unico di indagine nei casi sospetti, in cui, in prima analisi, conviene ancora affidarsi a test di diluizione.

PATTERN CITOCINICO, LIVELLI CIRCOLANTI DI EPC E STIFFNESS VASCOLARE NELL'IPERTENSIONE ARTERIOSA ESSENZIALE

C-62

M. Greco¹, A. Sciacqua², V. Ventura¹, E.J. Tassone², M. Quero², S. Miceli², F. Accattato¹, D.P. Foti¹, F. Perticone², E. Gulletta¹

¹Patologia clinica, UMG, Catanzaro, ²UO Malattie Cardiovascolari, UMG, Catanzaro

L'endotelio, attraverso la modulazione del tono vascolare ed il controllo dei processi emocoagulativi e di crescita cellulare, esplica un ruolo chiave nella prevenzione del processo aterosclerotico. Le cellule progenitrici endoteliali (EPC) attivano la neoangiogenesi e mantengono l'integrità vascolare; il loro numero e la loro capacità funzionale risultano ridotte in pazienti affetti da IA. La disfunzione endoteliale e la rigidità (stiffness) arteriosa, caratterizzano uno stadio precoce nello sviluppo del processo aterosclerotico e sono indicatori subclinici di danno d'organo nel paziente iperteso.

Scopo del lavoro. Abbiamo valutato l'associazione tra i parametri di stiffness arteriosa ed i livelli circolanti di EPC e di citochine infiammatorie in pazienti affetti da IA essenziale.

Materiali e metodi. Sono stati valutati 60 pazienti ipertesi di nuova diagnosi, 33 maschi e 27 femmine, con età media di 46.3±13.5, non in trattamento farmacologico, senza complicanze cardiovascolari né diabete mellito. La stiffness arteriosa è stata misurata mediante pulse wave velocity (PWV) carotido-femorale (m/sec), usando un tonometro semiautomatico (SphygmoCor). Il pool circolante di EPC è stato determinato mediante analisi citofluorimetria degli antigeni di superficie CD34, CD133 e VEGFR2 (KDR). Il network citochinico è stato valutato su campioni di plasma quale misurazione simultanea di IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, IL1- α , IL1- β , TNF α , IFN γ , MCP-1, VEGF, EGF (Multi-analyte biochip array, Randox Labs).

Risultati. La PWV era significativamente ed inversamente correlata con i livelli circolanti delle EPC ($r=-0.564$, $P<0.0001$), direttamente e significativamente correlata con i livelli di TNF- α ($r=0.533$, $P<0.0001$), di IL-6 ($r=0.496$, $P<0.0001$) ed in misura minore di IL-1 β ($r=0.252$, $P=0.026$). I livelli circolanti di EPC erano correlati in modo inverso e significativo con IL-6 ($r=-0.248$, $P=0.028$), TNF- α ($r=-0.293$, $P=0.012$) ed IL-1 β ($r=-0.169$, $P=0.047$). L'analisi di regressione multipla stepwise, considerando la PWV come variabile dipendente ed includendo le misure antropometriche, emodinamiche ed ematochimiche come covariate, ha dimostrato che i livelli di EPC rappresentano il più forte predittore indipendente di PWV.

Conclusioni. I livelli circolanti delle EPC, così come quelli di alcune citochine infiammatorie, risultano strettamente correlati con la stiffness della parete arteriosa. In particolare, in presenza di elevati livelli circolanti di citochine infiammatorie, soprattutto del TNF- α , bassi livelli di EPC sono associati ad un aumento della stiffness arteriosa, fattore favorente l'insorgenza e la progressione del processo aterosclerotico.

MATRIX METALLOPROTEINASE-2 AND -9 CONCENTRATION AND ENZYMATIC ACTIVITY EVALUATION IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

C-63

A. Cardoso¹, F. Mendes¹, L. Guerra¹, M.J. Gonçalves¹, N. António², L. Gonçalves², J.P. Figueiredo³, N. Osório¹, A. Valado¹, A. Paiva¹, A. Gabriel¹, A. Caseiro¹

¹Clinical Analysis and Public Health Department, Coimbra College of Health Technology, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ²Cardiology Service, Coimbra's University Hospitals, Coimbra, Portugal; ³Complementary Sciences Department – Epidemiology and Statistical Scientific Areas, Coimbra College of Health Technology, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal

Introduction: Acute Myocardial Infarction (AMI) is commonly the result of a disruption in the vascular endothelium associated with an unstable atherosclerotic plaque. This stimulates the formation of an intracoronary thrombus that promotes coronary artery blood flow occlusion. This block of the blood supply to the heart leads to an ischemic state with irreversible myocardial cell damage. Subsequent to the AMI, severe pro-inflammatory events take place leading to specific cytokines secretion, activated leukocytes infiltration, proteases activation and extracellular matrix (ECM) degradation. These pathophysiological conditions result in an upregulation of specific matrix metalloproteinase's (MMPs) secretion and enzymatic activity, promoting an adverse left ventricular (LV) remodelling due to the excessive proteolysis and disruption of ECM components. In this remodelling process post-AMI, MMP-2 and -9 (gelatinase A and B, respectively) have emerged as important players.

Objective: To evaluate MMP-2 and -9 levels and enzymatic activities in serum of patients with AMI in two different stages post-AMI, in order to relate them with the outcome of the disease.

Methods: In this study, serum MMP-2 and -9 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay and MMP-2 and -9 enzymatic activity was assayed by gelatin zymography, in samples from a control group (n=12) and AMI group (n=12), on the first day after AMI (first moment), and two months after AMI (second moment).

Results: MMP-2 and -9 levels were significantly higher in the first day after AMI when compared with the control group (p=0,018 and p=0,029) and showed increases from the first to the second moment. The enzymatic activity of MMP-9 showed was increased in the first day post-AMI when compared with the control group, not being statistically significant.

Conclusion: Serum MMP-2 and -9 levels and their correspondent enzymatic activity can be helpful to assess the risk of an adverse LV remodeling in AMI patients.

E-GFR: CONFRONTO TRA MDRD E CKP-EPI NELLA CLASSIFICAZIONE DEI PAZIENTI IN UN TEMPO DI OSSERVAZIONE DI 2 ANNI

C-64

D. Giavarina, A. Bevilacqua, S. Consolaro, U. Pizzolato, L. Scarpato, G. Secco, F. Zerbato, G. Soffiati

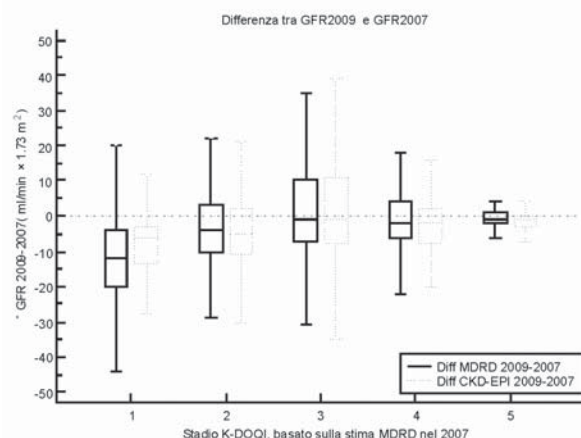
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. La maggiore accuratezza della nuova formula per la stima della velocità di filtrazione glomerulare (e-GFR) proposta dalla *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKP-EPI), rispetto alla formula MDRD, riduce il numero di falsi positivi negli stadi K-DOQI I-III e consente la refertazione per valori oltre > 60 mL/min per 1.73m². Questo lavoro valuta le differenze delle due formule nella previsione di perdita di capacità filtrante del rene.

Metodi. La e-GFR è stata calcolata secondo le formule CKD-EPI e MDRD in 15.822 soggetti di età compresa tra 20 e 75 anni (7.604 Femmine, 1.333 Int.; 6.271 Ext., mediana 57 anni, interquartile 43-67; 8.218 Maschi, 1347 Int.; 6871 Ext., mediana 57 anni, interquartile 44-67) con una determinazione di creatinina nel periodo luglio-dicembre 2009 e con un risultato precedente, eseguito presso lo stesso laboratorio nel periodo luglio-dicembre 2007 (età 18-73 anni). Pazienti con determinazioni sierate sono stati esclusi. La creatinina è stata misurata con metodo enzimatico (Advia 2400, Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA).

Risultati. La perdita di capacità filtrante è mediamente nulla per gli stadi 3, 4 e 5, senza differenze tra le due formule. Nello stadio 0-2 la perdita è mediamente di 5 ml/min in due anni, senza differenze. Nello stadio 0-1 CKP-EPI stima ancora una perdita di 5 ml/min, mentre la MDRD stima una riduzione di 10 ml/min (figura).

Discussione. Nonostante la formula MDRD classifichi meno soggetti negli stadi 0-1 e 0-2, rispetto alla CKD-EPI, fornisce una stima di perdita della capacità filtrante maggiore, in un periodo di 2 anni, confermando l'inaccuratezza per valori di e-GFR > 60 ml/min x 1,73m². Nessuna differenza significativa si evidenzia per gli stadi K-DOQI 3-5.



COPEPTIN OR HIGH SENSITIVITY TROPONIN FOR A RAPID RULE OUT OF MYOCARDIAL DAMAGE?

C-65

D. Giavarina, M. Carta, A. Fortunato, L. Bedin, M.T. Comberlato, A. Tomasini, B. Faresin, G. Rossetti, D. Urbani, G. Soffiati

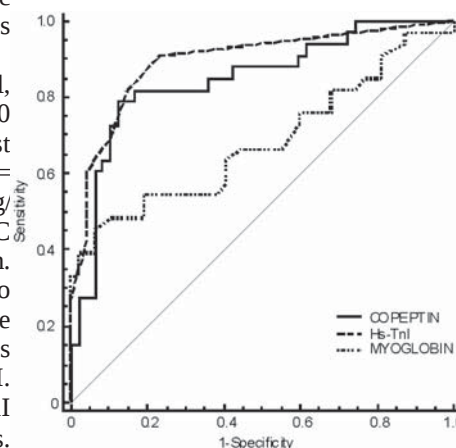
Clinical Chemistry and Hematology Laboratory, San Bortolo Hospital, Vicenza.

Aim of the study. This study evaluates the potential role of copeptin for a rapid rule out of acute myocardial damage.

Methods. 33 subjects with suspected AMI presenting consecutively at the Emergency Medical Services (EMS), with a negative high sensitivity troponin-I (hs-TnI) (TnI Ultra assay, Siemens) level ($\leq 0.05 \mu\text{g/L}$) at presentation but with at least a positive hs-TnI result ($> 0.10 \mu\text{g/L}$) in the subsequent specimens (3, 6 and 12 hours after) were enrolled in this study. As negative group, 47 subjects were selected in the same days of a positive case, with symptoms suggestive of AMI at the presentation at EMS and with a negative high sensitivity hs-TnI both at presentation and in the subsequent specimens. Copeptin was measured by sandwich immunoluminometric assay (CTproAVPLIA BRAHMS AG, Hennigsdorf, Germany), on a Kryptor system (BRAHMS). Routine laboratory parameters were measured immediately after blood withdrawal by standardized methods on an ADVIA 2400 instrument (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA). Myoglobin and hs-TnI was determined on an ADVIA Centaur XP® system (Siemens). Diagnostic performances were evaluated by Receiver-operator characteristic (ROC) curves analysis.

Results. The areas under the ROC curve (AUC) were 0.85 (95% confidence interval, CI: 0.75 to 0.92) for copeptin, 0.68 (95% CI: 0.57 to 0.78) for myoglobin and 0.90 (95% CI: 0.81 to 0.95) for hs-TnI, respectively. The cut-offs with the highest average of sensitivity (Se) and specificity (Sp) were: hs-TnI: $>0.01 \mu\text{g/L}$ (Se= 0.91; Sp= 0.77); copeptin $> 28.5 \text{ pmol/L}$ (Se= 0.79; Sp= 0.87); myoglobin $> 65 \mu\text{g/L}$ (Se= 0.46; Sp= 0.94). Combination of hs-TnI and copeptin resulted in an AUC of 0.94 (95% CI: 0.86 to 0.98), 0.90 (95% CI: 0.82 to 0.96) for hs-TnI and myoglobin.

Conclusions. Our data confirm the superiority of copeptin comparing to myoglobin. Incremental value of copeptin to hs-TnI is + 0.04 AUC, while myoglobin seems to add anything to the hs-TnI. In the rule out of subjects suspected for AMI, copeptin measurement alone is not better than new hs-TnI. Notwithstanding the confirmed high sensitivity, a serial measurement of hs-TnI remains mandatory to avoid a possible erroneous rule out in about 3% of subjects.



NGAL: MARKER PREDITTIVO DI INSUFFICIENZA RENALE NEI PAZIENTI TRAPIANTATI?

C-66

D. Tummillo, G. Mazzitelli, R. Beneventi

U.O.S. Laboratorio d'Urgenza A.O. "San Carlo" Potenza

Scopo del lavoro. Il dosaggio del NGAL (gelatinasi neutrofila associata alla lipocalina), piccola proteina espressa dai neutrofili attivati e da vari epiteli (tubuli renali prossimali), dagli ultimi studi riportati in letteratura, sembra rappresentare un marker diagnostico e prognostico di primaria importanza nella diagnosi di danno renale acuto: aumenti ematici ed urinari si verificano due ore dopo un qualsiasi insulto nefrotossico. Lo scopo che il lavoro si è prefissato, è di verificare se il dosaggio del NGAL, possa essere utile ed affidabile, nel monitoraggio del follow-up di soggetti sottoposti a trapianto d'organo in trattamento farmacologico, nell'evidenziare precocemente l'insorgenza di AKI.

Materiali e metodi. 38 pazienti di provenienza eterogenea da varie U.O. in terapia immunomodulante, sottoposti a trapianto d'organo (8 di midollo, 4 di fegato, 25 di rene e 1 di cuore), sono stati monitorizzati per 6 mesi effettuando la determinazione del NGAL, su strumento TRIAGE Plus BIOSITE, mediante immunodosaggio a fluorescenza in campioni raccolti in K3EDTA.

Risultati. I 38 soggetti sono stati suddivisi in base all'età media (49 per il sesso maschile, 43 per il femminile), il sesso (27 maschi ed 11 femmine) ed il tipo di terapia (25 con ciclosporina e 13 con tacrolimus). In tutti i pazienti sono stati effettuati dosaggi contemporanei della creatinina che è risultata nella norma. Dallo studio è emerso che solo in tre pazienti, tutti in terapia con ciclosporina, i valori di NGAL sono risultati nell'ambito della normalità; negli altri 36, i valori medi riscontrati sono compresi fra 185 e 390 ng/ml. Tre pazienti (2 midollari ed 1 renale in terapia con ciclosporina) hanno presentato un andamento dei valori "anomalo di tipo altalenante" con picchi rispettivamente di 970, 500 e 1300 ng/ml, seguiti da normalizzazione in 7 giorni e successive significative elevazioni e normalizzazione.

Discussione e conclusioni. Dai dati ottenuti nel presente lavoro, si è ipotizzato che la somministrazione di tacrolimus e ciclosporina, rappresenti una noxa nefrotossica, tale da indurre aumenti transitori dei livelli di NGAL, pur non conducendo ad insorgenza di AKI. Si è inoltre rilevato, che i 13 pazienti in terapia con tacrolimus, hanno presentato valori di NGAL al di sopra della norma. Si ritiene pertanto, data anche la praticabilità del metodo, che il dosaggio del NGAL possa essere utilizzato all'inizio e nel monitoraggio della terapia farmacologica per evidenziare precocemente i soggetti a rischio.

IL DOSAGGIO DELLA COPEPTINA NELLA DIAGNOSI DI SINDROME CORONARICA ACUTA (SCA)

C-67

D. Rubin, P. Bulian¹, M. Cassin², G.L. Nicolosi², P. Cappelletti

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, ²UO di Cardiologia Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli Pordenone, ¹CRO Aviano°

Scopo del lavoro. La letteratura scientifica più recente ha suggerito la copeptina come marcatore di SCA, in associazione con la cTnI. Scopo del lavoro è valutare la sensibilità e specificità di copeptina nella diagnosi di infarto miocardico in un campione di pazienti afferenti al Dipartimento di Emergenza (DE).

Materiali e metodi. Sono stati studiati 87 pazienti (età 24-90 anni, 35% donne) afferenti al DE per dolore toracico non traumatico e 14 donatori sani. Copeptina è stata misurata al ricovero con dosaggio immunologico a sandwich (Kriptor Brahms) e Troponina (cTnI) con Xpand (Siemens) al tempo 0 e dopo 4 ore.

Risultati. Il valore mediano di copeptina è risultato pari a 0 (range 0-9.7) nei donatori sani, 39.4 (0-1360) nei 32 pazienti con dolore toracico ma non infartuati, 25.8 (range 5.5-935) nei 31 pazienti infartuati con cTnI > soglia decisionale (0.13 ng/mL), 79.7 (8.2-503.2) nei 9 pazienti infartuati con cTnI negativa al tempo 0 ma positiva a 4 ore, 30.2 (0-761) nei 11 pazienti con cTnI borderline. I valori mediani di cTnI al tempo 0 nei tre gruppi di infartuati erano rispettivamente 1.2, 0.05, 0.16. Nei sottogruppi STEMI e NSTEMI la mediana di copeptina era rispettivamente 44.2 e 26.5. La sensibilità, specificità, PPV, NPV, indice di Youden sono stati calcolati su tre livelli decisionali: ≥10: sensibilità 80, specificità 46, PPV 62, NPV 68 e indice di Youden 0.26; ≥13: sensibilità 76, specificità 50, PPV 63, NPV 66 e indice di Youden 0.26; ≥19: sensibilità 71, specificità 54, PPV 63, NPV 62 e indice di Youden 0.25

Discussione e conclusioni. I valori di performance di copeptina sull'intera popolazione studiata rappresenta una limitata utilità nel rule out dei pazienti in DE. Tuttavia copeptina può avere una grande importanza nei pazienti con sospetta SCA e primo valore di cTnI negativa.

VITAMINA D: CONTRIBUTO ALLA VALUTAZIONE DELLO STATUS VITAMINICO IN UN CAMPIONE DI POPOLAZIONE SANA DEL FRIULI

C-68

U. Qualizza, A. Colatutto, B. Marcon, G. Barbina, S. Mazzolini, A. Daminato, E. Tonutti, P. Sala

DPT di Medicina di Laboratorio, AOU S. Maria della Misericordia, Udine

Scopo dello studio. Variazioni delle concentrazioni della Vitamina D (Vit. D) hanno assunto negli ultimi tempi crescente significato in quanto appaiono correlate, oltre a situazioni concernenti il metabolismo osseo, anche a quadri di patologia cardiovascolare, pneumologica, neoplastica ed autoimmune. Quadri carenziali più o meno manifesti sono presenti nell'anziano e nel sesso femminile. Nel presente studio ci siamo proposti di valutare la variabilità delle concentrazioni della Vit. D in una popolazione sana della nostra Regione.

Materiali e Metodi. Sono stati processati 190 campioni di siero da pazienti afferenti al Centro Prelievi. Tra i criteri di ammissione allo studio vi era, oltre all'assoluta assenza di patologia, la provenienza dall'hinterland udinese a 46,5° di Latitudine Nord. La Vit. D è stata dosata con metodo immunologico diretto a competizione con rilevazione in chemiluminescenza (CLIA). Parallelamente è stata dosata la concentrazione di Ormone Paratiroidale (PTH) con metodo immunometrico sequenziale con rilevazione in chemiluminescenza, allo scopo di determinarne la distribuzione nella popolazione.

Risultati. Il 78.4% dei pazienti analizzati era di sesso maschile mentre il 21.6% era di sesso femminile, con un'età media di 43 anni ed una distribuzione tra 19 e 70 anni. L'intervallo di concentrazione si poneva da 8.0 a 162.0 nM/L con una mediana di 60.8 nM/L mentre l'intervallo osservato dal 2.5° al 97.5° percentile si situava tra 21.5 e 150 nM/L. L'analisi statistica relativa al parametro PTH evidenziava una concentrazione media di 42.6 pg/mL ed il 95% dei soggetti aveva una concentrazione compresa tra 16.3 e 88.0 pg/mL. Tra la concentrazione del PTH e quella della Vit. D emerge una correlazione inversa come descritto in letteratura.

Discussione e Conclusioni. I nostri dati dimostrano una distribuzione dei valori di Vit. D nella popolazione considerata tra 21,5 – 150 nM/L e confermano la presenza di una carenza subclinica di Vit. D: il 68% dei pazienti studiati si troverebbe in uno stato di insufficiente apporto vitaminico, considerando che il limite inferiore auspicabile è 75 nM/L. Pertanto si ribadisce che anche in un campione di popolazione apparentemente in buona salute, l'apporto di Vit. D è verosimilmente insufficiente.

CONFRONTO DEI VALORI DI PTH IN UNA POPOLAZIONE DI RIFERIMENTO OTTENUTI CON DIFFERENTI GENERAZIONI DI REAGENTI SULLO STESSO ANALIZZATORE

C-69

A. Fortunato, C. Marchetti, L. Zanuso, G. Soffiati

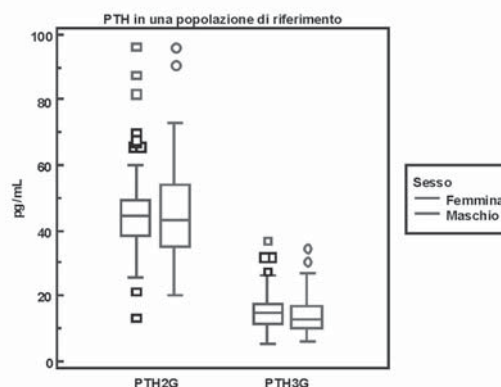
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" - Vicenza

Scopo del lavoro: il paratormone (PTH) è un polipeptide a catena singola formato da 84 amminoacidi sintetizzato dalle ghiandole paratiroidi: esercita il controllo del metabolismo del calcio regolandone l'assorbimento nell'intestino tenue e l'escrezione a livello renale e rappresenta un indice fondamentale per un corretto studio del metabolismo fosfo-calcico. La presenza in circolo di numerosi tipi di frammenti della molecola del PTH, con variabile attività biologica, rende essenziale la conoscenza della specificità del metodo di misura determinata dalla combinazione degli anticorpi utilizzati. Nel nostro laboratorio è stata valutata la distribuzione dei valori di PTH ottenuti, in una popolazione di riferimento, con reagenti caratterizzati da differente specificità disponibili per lo stesso analizzatore Liaison® (DiaSorin – Saluggia, VC).

Materiali e metodi: il PTH è stato misurato complessivamente in 120 soggetti presunti sani, 60 donne e 60 uomini selezionati per assenza di patologie acute o croniche e non assunzione di terapie farmacologiche, con due metodi N-tact™ PTH di seconda generazione (PTH2G) e PTH di terza generazione (PTH3G). Entrambi i metodi utilizzano una coppia di anticorpi che permette di riconoscere la molecola intera (1-84) ma dimostrano una differente sensibilità alla reazione crociata con il frammento 7-84.

Risultati: i valori misurati con i reagenti PTH2G hanno mostrato un valore medio di 46,5 pg/mL (I.C. 95%: 43,2-49,9) e deviazione standard di 16,1. Con i reagenti PTH3G il valore medio è 14,9 pg/mL (I.C. 95%: 13,5-16,2) e deviazione standard di 6,6. La differenza tra le due distribuzioni risulta statisticamente significativa ($P < 0,0001$) mentre, per entrambi i reagenti, non risulta significativa la differenza tra i valori riscontrati per gli uomini e le donne ($P = 0,6098$ e $P = 0,3993$).

Discussione e conclusioni: gli intervalli di riferimento calcolati risultano da 20,0 a 90,5 pg/mL per i reagenti PTH2G e da 5,7 a 32,4 pg/mL per i reagenti PTH3G: si evidenzia così l'importanza della corretta traduzione della misura analitica in una adeguata informazione clinica.



MARKERS DI TURNOVER OSSEO PREDITTIVI DELL'EFFICACIA DELLA TERAPIA FISIATRICA

C-70

V. Ventura, D. Marchese¹, M. Greco, M. Falbo, M. D'Andrea¹, T. Montalcini², S. Rotundo², D. Foti, A. Pujia², M. Iocco¹, E. Gulletta

Patologia Clinica, ¹Fisiatria, ²Nutrizione Clinica, UMG, Catanzaro

L'esercizio fisico a scopo terapeutico è in grado di ridurre il rischio di frattura e garantire l'incremento della massa ossea. Questo aspetto delle terapie fisiatriche è particolarmente significativo per l'incidenza che può avere sulla qualità della vita e sullo stato di salute globale in donne con osteopenia e anamnesi non-atletica.

Scopo del lavoro. Abbiamo voluto verificare se la valutazione dei marker di turnover osseo può essere predittiva del buon esito dell'esercizio terapeutico e, quindi, significativa anche in un ambito clinico non usuale, quale quello fisiatrico.

Materiali e metodi. Sono state arruolate in questo studio 22 donne in menopausa, con diagnosi densitometrica di osteopenia (T-Score compreso tra -1 e -2.5). Le pazienti sono state suddivise in due gruppi: uno sottoposto ad attività cinesiterapica e un gruppo di controllo che non ha modificato l'attività fisica. Tutte sono state valutate all'inizio dello studio e dopo 24 settimane. Tra i parametri di laboratorio, osteocalcina sierica, marcatore di neoformazione ossea, è stata misurata mediante hOST-EASIA (BIOSource) e CTX sierico (Telopeptide C-terminale del collagene I), marcatore di riassorbimento osseo, è stato misurato mediante Serum CrossLaps ELISA. Al fine di normalizzare tutte le pazienti, per i livelli plasmatici di 25-OH-Vitamina D, a tutte le donne arruolate, ancor prima della randomizzazione e della assegnazione ai due gruppi, è stata prescritta l'assunzione di un singolo bolo di 100.000 UI di colecalciferolo.

Risultati. E' stata dimostrata una riduzione della concentrazione media di CTX (24.5%) e OC (15%) nel gruppo che è stato sottoposto al programma di esercizi specifici per 24 settimane e un aumento nel gruppo controllo, rispettivamente per CTX (11%) e per OC (25%).

Discussione e conclusioni. Uno dei più importanti fattori di rischio per fratture osteoporotiche nelle donne in età post-menopausale è un elevato turnover osseo, come indicato dall'incremento dei livelli sierici dei marcatori specifici. I risultati del nostro studio suggeriscono che la valutazione di marcatori di metabolismo osseo, quali CTX ed OC, può essere predittiva dell'efficacia terapeutica dell'esercizio fisico programmato teso a migliorare forza, trofismo muscolare, coordinazione ed equilibrio; incrementare la massa ossea, la funzione neuromuscolare e lo stato di salute.

ESPRESSIONE DEI VALORI DI CTx POST-MENOPAUSA COME SCOSTAMENTO DALLA MEDIANA DI UNA POPOLAZIONE DI DONNE IN ETÀ FERTILE

C-71

A. Fortunato, C. Marchetti, G. Soffiati

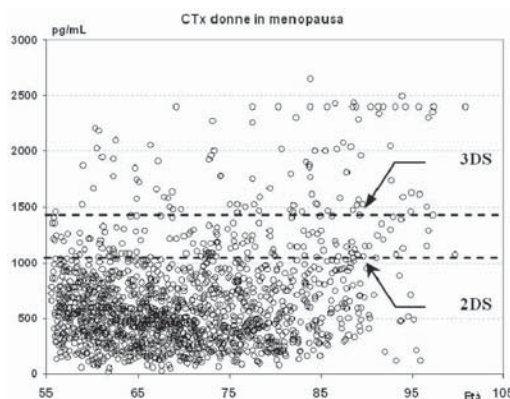
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" - Vicenza

Scopo del lavoro. I marcatori di rimodellamento osseo sono ampiamente utilizzati per la gestione delle pazienti con osteoporosi, la loro concentrazione nella popolazione pre-menopausale può rappresentare l'obiettivo terapeutico da raggiungere per i trattamenti delle osteoporosi post-menopausali con farmaci antirassorbitivi. Nel nostro studio abbiamo valutato la concentrazione nel siero dei frammenti del collagene di tipo I, telopeptidi C-terminali o β cross-links (CTx), in una popolazione di donne in età fertile e verificato l'interpretazione delle concentrazioni, ottenute in donne in menopausa, rispetto sia a tale distribuzione che agli intervalli di riferimento relativi all'età.

Materiali e metodi. I CTx sono stati misurati con metodo immunoenzimatico (Immuno Diagnostic Systems, UK) in 92 donne in età fertile (media 31,2 anni – I.C. 95%: 29,9-32,5), selezionate per assenza di patologie acute o croniche e non assunzione di terapie farmacologiche, e in 1608 donne in menopausa (età media 70,2 anni – I.C. 95%: 69,7-70,7) afferenti al laboratorio per il monitoraggio dei marcatori di rimodellamento osseo.

Risultati. La distribuzione dei valori di CTx nelle donne in età fertile è risultata leptocurtica con una leggera asimmetria a sinistra ($p < 0,0001$). I valori sono risultati compresi tra 167 e 1889 ng/mL, con una mediana di 426 pg/mL (I.C. 95%: 371-520) e deviazione standard di 313 pg/mL. Nelle donne in menopausa il CTx aveva concentrazioni comprese tra 12 e 2650 pg/mL con una mediana di 543 (I.C. 95%: 520-566).

Discussione e conclusioni. La valutazione dei risultati delle donne in menopausa secondo gli intervalli di riferimento attualmente in uso porta a classificare come elevati il 7% dei campioni; confrontando questi campioni, considerati positivi, con la distribuzione delle donne in età fertile, risultano avere il CTx superiore al valore della mediana più 3,2 deviazione standard. Se nella valutazione delle concentrazioni di CTx riscontrate nelle donne in menopausa viene utilizzato il limite di 2 deviazione standard oltre il valore della mediana, considerato come scostamento significativo, i campioni classificati come elevati sono il 23%. Questo metodo di valutazione del parametro di riassorbimento osseo, nella nostra esperienza, risulta un metodo migliore per evidenziare la distanza della popolazione osservata dall'obiettivo terapeutico.



ANA ED ANTI-ENA: STUDIO DI INCIDENZA NELLA POPOLAZIONE DELLA ZONA OCCIDENTALE DELLA ASL TARANTO

D-01

M. Laneve, M.G. Tinelli, C. Cavallo

Laboratorio di Patologia Clinica P.O. Occidentale (Mottola) ASL TA

Scopo del lavoro: Per la diagnosi delle malattie autoimmuni sistemiche si utilizzano criteri clinici e immunologici. Nell'ambito di quest'ultimi, fondamentale è la ricerca degli anticorpi anti-nucleo (ANA) e degli anticorpi diretti contro gli antigeni nucleari specifici (ENA). Il nostro studio ha l'obiettivo di valutare l'incidenza di positività degli ANA e degli ENA nella popolazione della zona occidentale della provincia di Taranto.

Materiali e metodi: L'indagine è stata condotta sul siero di 784 pazienti (pz) pervenuti come ricoverati e ambulatoriali esterni, tra Luglio 2009 e Luglio 2010. Di questi pz solo 352 presentavano anche la richiesta del dosaggio degli anti-ENA. In questo studio sono stati ricercati gli ANA in immunofluorescenza indiretta (IFI) su substrato di cellule HEp-2, cellule di carcinoma laringeo umano (Scimedex). La diluizione dei sieri, utilizzata per lo screening, è stata 1/80, in quanto il titolo 1/40 ha maggiore sensibilità ma minore specificità verso la malattia; i campioni positivi sono stati poi diluiti cominciando dal titolo 1/160 che è la prima diluizione avente significatività clinica. Per il dosaggio degli anti-ENA è stato utilizzato il kit EUROLINE (Euroimmun), un test qualitativo in vitro per la determinazione degli anticorpi umani di classe IgG diretti contro gli antigeni: nRNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1, che sono gli ENA principalmente ricercati ed altri antigeni come PM-Scl, CENP B, PCNA, dsDNA, nucleosomi, istoni, proteina P-ribosomiale.

Risultati: Dei 784 sieri analizzati, gli ANA positivi, con titolo $> 1:40$ e $\leq 1:80$, sono stati 35 (4,46%); gli ANA positivi con titolo $\geq 1:160$ sono stati 72 (9,2%). Dei 352 sieri analizzati per la ricerca degli anticorpi anti-ENA sono risultati positivi 112 (31,8%): 68 SS-A, 8 SS-B, 4 Scl70, 1 Jo-1, 16 Sm, 4 RNP/Sm, 8 PM-Scl, 4 CENP B, 4 dsDNA, 4 nucleosomi e 4 istoni. Gli ENA positivi erano tutti anche ANA positivi.

Conclusioni: I dati di questo lavoro dimostrano che complessivamente risulta bassa la percentuale di pz ANA positivi nella popolazione studiata. Inoltre la percentuale di positività agli anti-ENA, per titoli anticorpali elevati di ANA positivi, è $> 90\%$. La nostra esperienza mette in risalto che titoli inferiori a 1:160, in assenza di sintomi specifici, non devono indurre ad ulteriori approfondimenti diagnostici, bensì a monitoraggio nel tempo. Sono tuttavia ancora numerose le richieste inappropriate di esami che non tengono conto di uno screening iniziale e delle linee guida vigenti. Tale problema potrebbe essere superato mediante un migliore confronto ed una più ottimale comunicazione tra laboratoristi e clinici che produrrebbe una maggiore appropriatezza delle richieste ed un più corretto uso dei risultati dei test.

RELAZIONE TRA POSITIVITÀ DEGLI ANTICORPI ANTI ANTIGENI ESTRAIBILI (ENA) E RICERCA DI ANTICORPI ANTI ANTIGENI NUCLEARI (ANA)

D-02

M. Daves, F. Rossi, C. Berenzi, P. Dal Checco, N. Lovat, D. Tumiatti, G. Cosio, M. Floreani, F. Rizza

Laboratorio di Biochimica Clinica, Comprensorio Sanitario di Bolzano, Azienda Sanitaria dell'Alto Adige

Scopo dello studio: nel nostro laboratorio giungono in un anno circa 4600 richieste di determinazioni per la ricerca di ANA e circa 3000 richieste per ricerca di anti ENA (autoanticorpi anti RNP, Sm; SS-A, SS-B, Scl-70, Jo-1). Abbiamo voluto verificare la percentuale di ENA positivi in relazione al risultato della ricerca di ANA

Materiali e metodi: sono state valutate 1036 richieste che prevedevano la determinazione di ANA e ENA contemporaneamente. La ricerca di ANA è stata eseguita in immunofluorescenza indiretta su cellule Hep-2 (Inova Diagnostics Inc.). La ricerca degli anticorpi facenti parte del gruppo ENA è stata eseguita mediante metodica ELISA (Inova).

Risultati: su 1036 richieste abbiamo riscontrato 200 ANA positivi (titolo $\geq 1/160$) e 39 ENA con positività per almeno un autoanticorpo. Tra questi 35 sono risultati associati alla presenza di positività ANA: 20 con titolo $\geq 1/1280$ (12 pattern speckled spe, e 8 omogeneo omo), 4 con titolo 1/640 (3 spe, 1 omo), 4 con titolo 1/320 (3 spe, 1 omo) e 7 con titolo 1/160 (4 spe, 1 omo). Per quanto riguarda gli anticorpi evidenziati in ELISA nel profilo ENA abbiamo osservato i seguenti campioni positivi per un autoanticorpo: 12 SS-A, 5 anti-RNP, 3 anti Scl-70, 1 anti SS-B e i seguenti campioni positivi per più di un autoanticorpo: 7 SS-A + SS-B, 4 anti-RNP + SS-A, 2 anti-RNP + Sm + SS-A, 1 anti-RNP + Sm + Scl-70. Abbiamo riscontrato anche 4 positività ENA associate ad ANA negativi, 3 di queste riguardavano campioni che in ELISA erano debolmente positivi per Jo-1 ma che valutati con metodica Immunoblot (Innogenetics) presentavano Jo-1 negativo. Il quarto campione è risultato debole positivo per SS-A.

Discussione e conclusioni: da tale studio risulta che la positività ENA risulta associata alla positività ANA soprattutto a titolo elevato, in linea con i dati della letteratura. In presenza di ANA con titolo inferiore a 1/160 la ricerca degli anti-ENA non dovrebbe essere eseguita tranne nel caso di sospetta sindrome di Sjögren o poli/dermatomiosite, dove, data la scarsità degli antigeni SS-A e Jo-1 nei substrati cellulari, è consigliabile la ricerca degli anti ENA anche in caso di ANA negativo. Come già avvenuto in altri laboratori, anche nella nostra realtà stiamo riorganizzando le procedure diagnostiche per i test autoanticorpali, per raggiungere un grado di efficienza maggiore.

STUDIO EPIDEMIOLOGICO SUGLI Ab-TPO e Ab-Tg

D-03

M.G. Tinelli, M. Laneve, C. Cavallo

Laboratorio di Patologia Clinica P.O. Occidentale (Mottola) ASL TA

Scopo del lavoro: La perossidasi tiroidea (TPO) e la tireoglobulina (Tg) sono antigeni bersaglio degli autoanticorpi presenti nelle patologie tiroidee autoimmuni. Tali autoanticorpi sono presenti in circolo nel 60- 80% dei pazienti (pz) con tiroidite di Hashimoto, nel 30-60% di pz. con Morbo di Basedow, in circa il 10% dei pz con tireopatie non autoimmuni e nel 5% di soggetti normali. Il nostro studio mira a valutare la presenza degli anticorpi anti-tireoperossidasi (Ab-TPO) e anti-tireoglobulina (Ab-Tg) nella popolazione della zona occidentale della provincia di Taranto, stimando in particolare la distribuzione in relazione al sesso.

Materiali e Metodi: L'indagine è stata condotta sul siero di pz, ricoverati e ambulatoriali esterni, tra Luglio 2009 e Luglio 2010. I campioni sono stati processati sull'analizzatore AIA-1800 (TOSOH) che utilizza il metodo MEIA, una determinazione immunoenzimatica a cattura di microparticelle.

Risultati: Nel corso delle analisi da noi svolte sono stati esaminati 2276 pz differenziandoli per sesso, ottenendo i dati riportati nella tabella.

Conclusioni: Dai nostri risultati analitici sembra possibile confermare che, ugualmente a quanto riportato in letteratura, la più elevata percentuale di positività per gli Ab-TPO e gli Ab-Tg è stata osservata nei soggetti di sesso femminile.

	MASCHI	FEMMINE	TOTALE
PZ POSITIVI Ab-TPO	28 (1,23%)	212 (9,31%)	240 (10,54%)
PZ POSITIVI Ab-Tg	28 (1,23%)	148 (6,50%)	176 (7,73%)
PZ POSITIVI Ab-TPO E Ab-Tg	56 (2,46%)	324 (14,23%)	380 (16,69%)
TOT PZ POSITIVI	112 (4,92%)	684 (30,05%)	796 (34,97%)
PZ NEGATIVI AGLI ANTICORPI	88 (3,86%)	1392 (61,16%)	1480 (65,02%)
TOTALE PAZIENTI	200 (8,78%)	2076 (91,21%)	2276

N.B Le percentuali si riferiscono al totale dei pazienti studiati

UNA POSSIBILE CAUSA DI ERRORE NEL DOSAGGIO IMMUNOTURBIDIMETRICO DELLE IGM MONOCLONALI: “EFFETTO TEST DI SIA”

D-04

S. Mazzolini, F. De Biasi, L. Fornasir, A. Colatutto, P. Sala

SOC Analisi di Elezione, AOU S. Maria delle Misericordia, Udine

Scopo dello studio: si segnala un singolare caso di severa sottostima di una componente monoclonale IgM dosata con metodo immunoturbidimetrico, della cui evenienza si è avuta percezione soltanto grazie al controllo incrociato elettroforesi sieroproteica / dosaggio immunoglobuline, regolarmente praticato nel nostro laboratorio.

Materiali e Metodi: il campione di siero, da paziente non noto, veniva sottoposto su richiesta del Curante, ad una serie di indagini ematochimiche fra cui il dosaggio delle immunoglobuline IgG, IgM e IgA; come da nostro protocollo, veniva integrata ed eseguita la elettroforesi sieroproteica. Il dosaggio delle Ig veniva eseguito con metodica immunoturbidimetrica su apparecchiatura automatica AU 2700 Olympus con i reattivi della Ditta stessa, mentre l'elettroforesi veniva eseguita con tecnica capillare su apparecchiatura Capiyllaris Sebia.

Risultati: il dosaggio delle Ig forniva i seguenti dati: IgG 298.4 mg/dL, IgM 346.8 mg/dL, IgA 28.5 mg/dL, mentre la elettroforesi metteva in evidenza un picco di aspetto monoclonale (tipizzato mediante Immunofissazione come IgM tipo Kappa) valutabile in 1500 mg/dl circa. La ricerca della causa di tale sottostima metteva in evidenza che dopo un primo dosaggio fuori scala, l'apparecchio di chimica clinica aveva eseguito una diluizione e un rerun: tale diluizione viene eseguita con acqua distillata, ed in questo caso si è venuta a creare nella cuvetta una situazione riconducibile a quella del vecchio test “di labilità colloidale” detto test di Sia¹. In tale desueto test si osservava la flocculazione delle Ig allorché il siero veniva in contatto con acqua distillata, soprattutto nei casi di macroglobulinemia. In tale modo, la proteina IgM è stata in gran parte sottratta alla successiva reazione immunochimica con l'antisiero specifico: tale comportamento è stato da noi verificato in provetta a contatto con acqua distillata, ma non con fisiologica e altri tamponi.

Discussione e Conclusioni: a parte la singolarità di questa causa di errore nel dosaggio delle Ig – ne esistono altri ben noti – ribadiamo con questo caso la grande importanza che i dosaggi siero proteici – e soprattutto delle Ig, la cui fisiopatologia comporta grande variabilità inter e intra individuale – siano costantemente accompagnati da una analisi elettroforetica delle siero proteine: la scansione densitometrica delle componenti monoclonali è d'altra parte comunemente ritenuta il metodo “meno inaccurato” per la valutazione quantitativa delle stesse.

Bibliografia

1) Di Guglielmo R. I Plasmocitomi. pag 102- 104, Abruzzini Ed. Roma 1955

UTILIZZO DEL TEST CITOTOSSICO NELL'APPROCCIO NUTRIZIONALE IN CONDIZIONI PATOLOGICHE

D-05

M. Borsa

Biologa nutrizionista, libero professionista, Torino

Scopo del lavoro: Nel 2004 è stata documentata da parte della Società statunitense di Allergologia, l'esistenza di una reazione immunologica ritardata, dovuta alla ripetizione dello stimolo alimentare per più giorni consecutivi, ovvero il fenomeno conosciuto come intolleranza alimentare. Scopo del lavoro è stato quello di verificare se una dieta di eliminazione elaborata previa diagnosi di intolleranza alimentare, poteva determinare riduzione o scomparsa di patologie e/o sintomatologie.

Materiali e metodi: La diagnosi di intolleranza alimentare è stata attenuata col CYTOTOXIC® TEST (Cytodiagnostic srl Falciano-RSM). Sono stati esaminati 1546 pazienti positivi al test citotossico, affetti da: obesità, iperlipemie, iperglicemia, attacchi di panico, stanchezza cronica, cefalee/emicrania, stipsi, gastriti, coliti, dermatiti. I pazienti presentatisi al controllo (727), sono stati suddivisi in 7 fasce di età da 11-20 fino a 71-80 e nelle patologie elencate sopra. I dati statistici sono stati rilevati da una base dati in formato Access/Jet (mdb). Le statistiche e i relativi grafici sono stati ottenuti con query in sql e codice scritto in VBA (Visual Basic for Application). Il sintomo/patologia è stato classificato in scomparso, diminuito, invariato, aumentato. Per questa classificazione si sono utilizzati gli esami ematologici, determinazione del peso corporeo, ecc.

Risultati ottenuti: Le coliti e dermatiti erano le patologie che rispondevano meglio alla dieta, tutti i pazienti controllati, presentavano diminuzione e/o scomparsa dei sintomi. Le iperglicemie avevano alta percentuale di diminuzione del sintomo (88,9%), a seguire obesità/sovrappeso (77,7%). Cardiopatie, stati ansiosi e stanchezza cronica avevano 62,7%, 60,4% e 61,1% di diminuzione rispettivamente. Cefalee/emicranie presentavano la percentuale più bassa di peggioramento o di sintomo invariato (3,8%). La gastrite (49,4% di scomparsa del sintomo), aveva la percentuale più elevata di peggioramenti (2,5%). Per quanto riguardava la statistica per fasce di età si osservava un andamento simile in tutte le fasce.

Discussioni e Conclusioni: Dermatiti, coliti, gastriti, sono risultate le patologie ricevanti maggior beneficio dall'utilizzo della dieta di eliminazione (si evitava l'alimento intollerante e la famiglia biologica di appartenenza per 4-6 settimane). Infatti la pelle e il sistema gastro-intestinale rappresentano i distretti maggiormente colpiti dalle intolleranze alimentari. Si sottolinea l'importanza di utilizzare la dieta di eliminazione dopo aver individuato le intolleranze alimentari in modo corretto (mediante test citotossico) come supporto terapeutico nutrizionale in diverse patologie e in situazioni di disagio anche psicologico.

NEW STRATEGIES IN COELIAC DISEASE DETECTION

D-06

B. Porcelli^{1,2}, C. Scapellato², P. Rossi², L. Pieri², C. Vindigni³, L. Terzuoli^{1,2}

¹Department of Internal Medicine, Endocrine-Metabolic Science and Biochemistry, University of Siena, Siena;

²Laboratory of Clinical Analysis, University Hospital Organization, Siena; ³Pathological Anatomy, Siena University Hospital, Siena

Aim of the study. Coeliac disease (CD) is a gluten-dependent enteropathy characterized by several clinical manifestations. Many cases can be completely asymptomatic, and still run the risk of developing a number of gluten-related complications such as osteoporosis, intestinal lymphoma, ataxia and autoimmune disorders. Referring to the literature, for each recognized CD patient there are eight silent/latent cases. For this reason, population screening could be a possibly cost-effective strategy for detecting undiagnosed CD, but this is possible only if screening tests are highly sensitive and specific for the target disease. In this study, we assess the performance of two screening assays with a well-characterized cohort of subjects.

Methods. We enrolled 41 CD patients (25 adults and 16 children). Diagnosis of CD was based on histological and serological criteria. As a control population, we enrolled 169 subjects: 145 disease controls and 24 sex-matched blood donors as normal controls. Samples were tested for:

IgA antibodies to tissue transglutaminase (a-tTG): Eu-tTG IgA, Eurospital, Trieste, Italy

IgG a-tTG: Eu-tTG IgG, Eurospital, Trieste, Italy

IgA antibodies to deamidated gliadin peptides (a-DGP): QUANTA Lite TM Gliadin IgA II, INOVA Diagnostic Inc., San Diego, CA

IgG a-DGP: QUANTA Lite TM Gliadin IgG II, INOVA Diagnostic Inc., San Diego, CA

IgA anti-endomysial antibodies (EMA): Eurospital, Trieste, Italy

IgA and IgG of a-tTG and a-DGP in a single assay: QUANTA Lite TM h-tTG/DGP Screen, INOVA Diagnostic Inc., San Diego, CA

IgA a-tTG, a-DGP and a-GPTC (antibodies to deamidated gliadin peptide/transglutaminase complex) in a single assay: Aeskulisa tTG-A New Generation, Aesku Diagnostic, Wendelsheim, Germany

IgG a-tTG, a-DGP and a-GPTC in a single assay: Aeskulisa tTG-G New Generation, Aesku Diagnostic, Wendelsheim, Germany

Results. In CD patients, the h-tTG/DGP Screen and tTG-A New Generation showed a 100% sensitivity, while tTG-G New Generation was positive in 80%. h-tTG/DGP Screen showed a 98% specificity; tTG-A New Generation showed a 99% specificity; tTG-G New Generation showed a 95% specificity.

Conclusions. The results obtained demonstrate not only high sensitivity, but also high specificity, which is difficult to find in screening tests. Due to their high level of diagnostic accuracy, the two screening assays constitute reliable screening tests for the diagnosis of celiac disease. These new efficient and cost effective strategies could prevent both social and personal costs and increase the quality of life of a multitude of individuals potentially affected by CD.

UN METODO AUTOMATIZZATO PER LA DIAGNOSI PRECOCE DELLA SEPSI: DATI PRELIMINARI

D-07

R. Spina, F. Airò, L. Ciardelli

Laboratorio Analisi, IRCCS - Policlinico San Matteo, Pavia

Scopo del lavoro. Il sistema ematologico Cell-Dyn Sapphire Abbott, utilizza la citofluorimetria a flusso per analizzare l'anticorpo monoclonale CD64. Studi recenti dimostrano che il CD64 può essere usato come marker diagnostico predittivo per la sepsi. Il CD64 espresso sui polimorfonucleati (PMN) aumenta in presenza di sepsi/infezioni sistemiche, ha un'alta specificità e sensibilità. Scopo di questo lavoro è quello di valutare l'efficacia del CD64 come marcatore prognostico di sepsi; lo studio è stato effettuato su una popolazione di pazienti con febbre non correlata alla patologia provenienti dalla Clinica Ematologia.

Materiali e metodi. Sono stati analizzati 42 pazienti con il Kit diagnostico Leuco64 Assay utilizzando 50 µl di sangue eparinato, analisi automatizzata dei dati dei file listmode con il software incluso nel kit. I risultati sono espressi come PMNCD64 index.

Risultati. La correlazione tra indice di CD64 ed emocoltura positiva è intorno a 2,4 in 21 dei 42 pazienti in esame; il valore della mediana per i 21 pazienti con emocoltura negativa è intorno a 1,5.

Discussione e conclusioni. Da questi studi preliminari si evince come i PMN che esprimono CD64 diventano un potente strumento per il clinico per attuare una terapia in maniera immediata in un evento che può essere fatale per il paziente.

Fig.1: Correlazione PMNCD64 ed emocolture

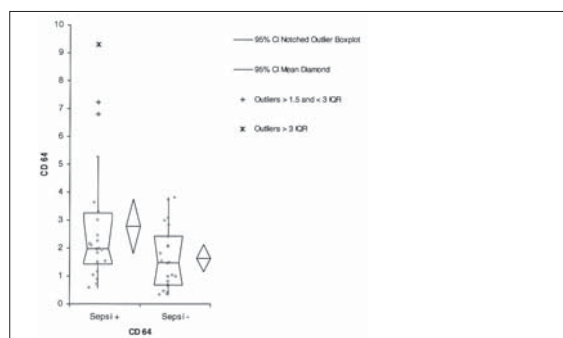
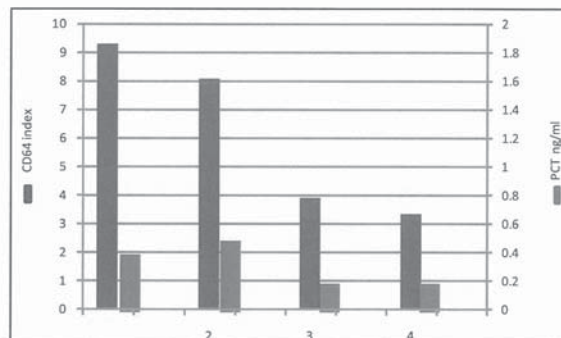


Fig 2: Correlazione tra PMN CD64 e procalcitonina



CARATTERIZZAZIONE ANTICORPALE NELLA SCLERODERMIA**D-08****M. Lotzniker, S. Finazzi, G. Re, M. Curcillo, P. Faggioli¹**Laboratorio Analisi e ¹Medicina Interna - A.O. Ospedale Civile di Legnano

Scopo del lavoro: Il pattern flurescopico nucleolare, insieme ad anticorpi anti centromero (ACA) e anti Scl70, è un riscontro caratteristico nella sclerodermia. A differenza di questi ultimi, peraltro, non si può considerare routinaria la caratterizzazione biochimica degli anticorpi anti nucleolo. Scopo del presente studio è di valutare opportunità/praticabilità dell'inserimento routinario nei protocolli diagnostici in uso anche di questa caratterizzazione.

Materiali e metodi: 44 sieri con positività nucleolare per lo più isolata e/o diagnosi di sclerodermia sono stati esaminati mediante immunodot (Euroline Sclerosi Sistemica, Euroimmun) in grado di evidenziare, oltre ad anticorpi anti Scl70 e CENP-A e B, anche anticorpi anti RNA polimerasi (RP11 e 155), anti fibrillarina, NOR 90, Th/To, PM-Scl 75 e 100 e Ku.

Risultati: A fronte di morfologia nucleolare apparentemente univoca (pattern omogeneo, speckled, clumpy) gli anticorpi riscontrati appaiono eterogenei e solo in alcuni casi associati al pattern nucleolare caratteristico.

L'adozione di questa metodologia ha permesso di caratterizzare meglio 14 dei 44 sieri esaminati con il riscontro di positività per: Ab anti RNA polimerasi n=3, anti fibrillarina n=4, anti Th/To n=2, anti NOR 90 n=3, anti Ku n=2, anti PM Scl n=3. In due dei casi analizzati, in assenza di anticorpi maggiori, il riscontro anticorpale è stato multiplo, rispettivamente anti fibrillarina e PmScl in SSc in overlap DM/PM e anti RNA polimerasi e Nor 90 nell'altro. In due casi, in presenza di positività nota per anti Scl70, si è rilevata presenza anche di anti Fibrillarina+ PmScl e di anti Ku rispettivamente.

Discussione e conclusioni: In fase diagnostica, soprattutto in assenza degli "anticorpi maggiori" ACA e anti Scl70, la determinazione multiplex mediante immunodot di "anticorpi minori" presenti nella sclerodermia costituisce, anche in funzione dell'agevole praticabilità, un significativo arricchimento dell'inquadramento del paziente in caso di sospetto clinico di sclerodermia. La tecnica di immunofluorescenza indiretta su HEp-2 rimane fondamentale per il primo inquadramento del paziente ma si compendia efficacemente con metodologie di 2° livello quale quella oggetto del presente studio.

UNA PATOLOGIA TROPPO SPESSO MISCONOSCIUTA: AUTOIMMUNE INNER EAR DISEASE (AIED)**D-09****L. Bettoni¹, L. Manisco¹, B. Milanese²**¹SIMT A.O. Desenzano del Garda (BS), ²Dip. Medicina di Laboratorio A.O. Desenzano del Garda (BS)

Scopo dello studio: La malattia autoimmune dell'orecchio interno è patologia rara e spesso misconosciuta. Le primissime osservazioni risalgono al 1979, allorché un gruppo di soggetti con ipoacusia neurosensoriale si mostrò inaspettatamente sensibile alla terapia immunosoppressiva. Se ne descrive un caso tipico.

Metodi: F.C. è una donna di 44 anni. Anamnesticamente si documenta una trombosi della vena centrale retinica avvenuta all'età di 20 anni, senza rilievo di alterazioni dell'assetto emocoagulativo. A 40 anni insorgenza di ipotiroidismo autoimmune per il quale assume 125 mcg/die di L-Tiroxina, mantenendo uno stabile eutiroidismo.

Risultati: Nel dicembre 2007 comparsa di ipoacusia neurosensoriale all'orecchio destro, improvvisa. "Restitutio ad integrum" dopo pochi giorni con Prednisone 25 mg al dì per due settimane, associato poi a Flunarizina 10 mg al dì per 3 mesi. In agosto 2008 recidiva di ipoacusia all'orecchio controlaterale, preceduto ed accompagnato da vertigini e ronzii persistenti. Effettua RMN encefalo con mdc: negativa. Totale risoluzione dei sintomi dopo circa un mese con la stessa terapia del precedente episodio. In novembre 2008 e luglio 2009 nuove recidive a carico dell'orecchio destro. In quest'ultima occasione, nonostante la terapia, residua ipoacusia zonale destra. Effettua angio-RMN encefalo: negativa. In gennaio 2010, infine nuovo episodio a sinistra, preceduto da intenso acufene. Si esegue allora un pannello di esami immunologici e si rileva la presenza di anticorpi anti HSP-70. La paziente inizia boli di steroide (Idrocortisone 1 gr) cui segue poi terapia continuativa con Prednisone 6,25 al dì ed Azatioprina 200 mg al dì (successivamente sostituito da Metotressato 7,5 mg ogni settimana per lieve e temporanea recidiva). Si documenta un pieno recupero uditivo bilaterale.

Conclusioni: Le ipoacusie autoimmuni sono neurosensoriali a localizzazione elettiva cocleare, spesso bilaterali. Come nel caso descritto, spesso si associano a patologie autoimmuni sistemiche oppure organo-specifiche. Oltre alle caratteristiche cliniche risulta certamente utile sia ai fini diagnostici, sia per valutare la risposta alla terapia, il test denominato "OTOblot": esso ricerca ed identifica gli anticorpi diretti verso un antigene da 68 KDa (HSP-70) associato a perdite uditive autoimmuni. Il corretto riconoscimento della etiologia della sordità in pazienti giovani si rivela quindi fondamentale ai fini di una adeguata impostazione terapeutica con agenti immunomodulanti e/o immunosoppressori, condizione indispensabile per scongiurare ipoacusie irreversibili.

ANTI-CENP-F ANTIBODIES: SURVEILLANCE AS IN MGUS?

D-10

S. Valaperta¹, M. Monari¹, C. Alpini², A. Montanelli¹

¹Laboratorio Analisi Cliniche, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (Milano); ²Servizio Analisi Chimico-Cliniche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

Aim of the study. Some Autoantibodies (aAbs) antedate the full clinical expression of disease or they serve as predictors of disease outcome. In particular, because many of these aAbs have a little clinical diagnostic value in autoimmune diseases, they are relegated to a category of “esoteric aAbs”. They were also observed in apparent unrelated conditions such as infections and malignancy. Today the clinical importance of “esoteric aAbs” is uncommon or not considered to be specific for certain diseases. In IFI, the presence of aAbs to centromere protein (CENP-F or mitotin) is characterized by speckled staining of metaphase cells. The CENP-F protein plays a role in mitotic functions, in the regulation of cell division and it is considered as a marker of malignant cell growth. More recent studies indicate that in patients cohort with anti-CENP-F aAbs the prevalence of malignancy is very high (50-80%). During 2008-10 period, we have observed 4 cases of anti-CENP-F aAbs not associated with malignancy. The 4 patients are respectively affected by: infertility, pancreatitis, arthropathy and recurrent infections. We discuss the role and results of our surveillance timetable.

Materials and methods. In the semi-quantitative detection of antinuclear antibody in human serum by an indirect fluorescent antibody test (HEP 2000® IgG Fluorescent ANA-Ro Test System, Immunoconcepts, Hannover, Germany) we observed the typical speckled staining of metaphase cells referred to presence of anti-CENP-F aAbs.

Results. In our program of surveillance, 71 months-patient, anti-CENP-F aAbs are confirmed in all laboratory detections and contemporary we have not evidenced malignancies.

Discussion and conclusions. The clinical management of patients with anti-CENP-F aAbs is resulted particularly difficult for the absence of specific diagnostic protocol guide-lines. The most important problem emerged is the standardization of results description and the timing of laboratory and/or clinical surveillance timetable. We think that the long experience achieved in MGUS (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance) management could be an optimal base to propose a specific laboratory surveillance protocol for anti-CENP-F aAbs by clinical pathologists.

Reference

Fritzler M.J. The clinical paradox of esoteric and novel autoantibodies. In: Conrad K, Chan EKL, Fritzler MJ, Humbel RL, von Landenberg P, Shonfeld Y. From pathogenesis to therapy of autoimmune diseases, Pabst Science Publisher, Lengerich, Germany, 2009

VALUTAZIONE DELLA CALPROTECTINA FECALE IN PATOLOGIE INFETTIVE GASTROINTESTINALI

D-11

D. Bassetti, V. Todeschi, P. Lanzafame

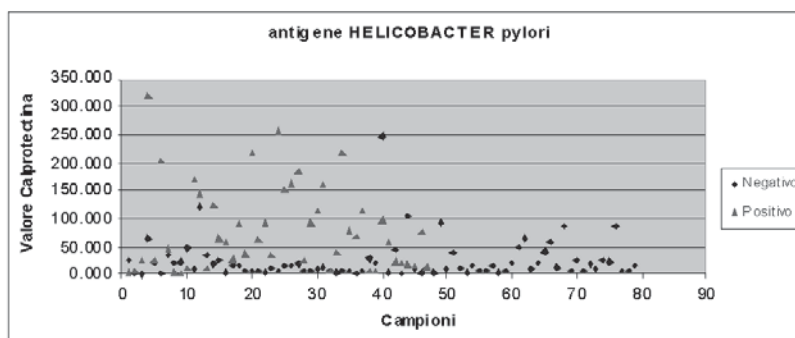
Microbiologia e Virologia - Ospedale S. Chiara di Trento

Introduzione: La Calprotectina (Cal) fecale è stata oggetto di numerosi studi che hanno evidenziato i suoi incrementi correlati alla forma attiva delle IBD, come il Morbo di Crohn e la Colite Ulcerosa. Scopo di questo studio è la valutazione della Cal in soggetti con patologie gastrointestinali infettive per un suo possibile utilizzo con finalità di diagnosi o di valutazione di attività infiammatoria.

Materiali e Metodi: È stata effettuata la ricerca di Cal in 189 campioni di feci di pazienti, nei quali erano state eseguite ricerche batteriologiche colturali e/o di antigeni (*Helicobacter pylori*-Hp, Adenovirus, Rotavirus), utilizzando il kit Calprest® della ditta Eurospital SpA-Trieste.

Risultati: La concordanza tra la ricerca della Cal e gli esami colturali e/o ricerche di antigeni risulta pari al 66% (k Cohen 0.24) globalmente, del 72% (k 0.37) nei campioni con ricerca di Hp, del 52% (k 0.06) nei restanti campioni.

Discussione e Conclusioni: I dati della nostra ricerca, allineandosi a recente bibliografia, evidenziano una correlazione non soddisfacente tra la Cal fecale e patologie gastrointestinali infettive, pur in presenza di concordanza medio/alta soprattutto per infezione Hp. Ulteriori studi correlati a rilievi istopatologici, con esclusione di IBD, potranno verificare un utilizzo del test Cal nella definizione di attività infiammatoria correlabile al grading classificativo delle gastriti “Sydney System” nei casi incerti o di scarsa risposta ai protocolli terapeutici.



RESPONSE TO THERAPY AND VITAMIN D LEVELS IN RHEUMATOID ARTHRITIS**D-12****S. Valaperta¹, C. Alpini², F. Bobbio-Pallavicini³, S. Avalle², M. Monari¹, G.B. Vadacca², A. Montanelli¹**¹Laboratorio Analisi Cliniche, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (Milano); ²Servizio Analisi Chimico-Cliniche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ³Unità Operativa di Reumatologia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

Background and aim. Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disorder of unknown aetiology in which both genetic and non-genetic factors contribute to disease susceptibility. Over the past two decades, it is now recognized that Vitamin D not only is important for calcium metabolism, maintenance of bone health throughout life and immunomodulatory effects, but also it plays an important role to reduce risk of many chronic diseases including RA. This study proposes to evaluate the relationship between Vitamin D levels and clinical response to the pharmacological therapy.

Material and methods. In 6 patients with diagnose of RA, and considered no responsive to conventional drugs (Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs), we have evaluated the plasmatic levels of 25(OH)-Vitamin D (Vitamin D TOTAL, Liaison® Diasorin, USA) and PTH (PTH intact, Architect® Abbott, USA) pre and during therapy with a biological drug (chimeric monoclonal antibody specific for human CD20- targeting B lymphocytes-Rituximab). In all patients the positive clinical response to this new therapy are documented in according to EULAR 2010 criteria.

Results. Plasmatic levels of 25(OH)Vit-D: medium value pre 16.9±8.7 µg/L; medium value during 15.6±8.3 µg/L. Plasmatic levels of PTH: medium value pre 38.7±27.4 pg/mL; medium value during 48.3±26.6 pg/mL (normal range 12-68 pg/mL). Methods performance: 25(OH) Vit-D: CV intraserie 5%, CV interseries 10%; PTH: CV intraserie 5%, CV interseries 7%.

Discussion and conclusion. Vitamin D implementation may reduce RA disease activity, but no consensus exists for what level of 25(OH)Vit-D is adequate. Expert opinion has focused on the need to maintain 25(OH)Vit-D levels above a point where PTH is in the normal range, but the relationship between 25(OH)Vit-D and PTH is not straightforward.

In our patients we have not documented variation of levels of 25(OH)Vit-D and/or PTH after the response to the therapy; these results suggest that Vitamin D levels have not an important role as a cofactor to determine or to document the response to the therapy in RA patients. Our observation is in according to the studies those have shown no relationship between 25(OH)Vit-D and CRP or ESR.

References

1-Leventis P. and Patel S. Clinical aspects of Vitamin D in the management of rheumatoid arthritis. Rheumatology 2008; 47:1617-1621.
2-Hein G., Eidner T., Oelzner P., Rose M., Wilke A., Wolf G., Franke S. Influence of Rituximab on markers of bone remodeling in patients with rheumatoid arthritis: a prospective open-label pilot study. Rheumatol. Int. 2010; Jul 27.

**AUTOIMMUNITÀ E CANCRO:
IDENTIFICAZIONE DI AUTOANTICORPI IN PAZIENTI ONCOLOGICI****D-13****A. Tedesco, L. Capozzolo, M. Visconti, A. Rosolia**

Laboratorio "Analisi Cliniche Mater Dei", Pagani (SA)

Scopo del lavoro: negli ultimi anni tra patologie tumorali e malattie autoimmuni si è osservata una sempre più stretta relazione, intesa sia come comparsa di tumori in pazienti affetti da malattie autoimmuni, che come insorgenza di reazioni di tipo autoimmune in pazienti oncologici. Le sindromi paraneoplastiche del SNC, i tumori gastrici in corso di malattia celiaca, i carcinomi della tiroide associati a tiroidite di Hashimoto sono alcuni esempi di questo stretto legame patogenetico tra le due condizioni morbose. Lo scopo di questo studio, pertanto, è stato l'osservazione della prevalenza dei più comuni autoanticorpi in soggetti affetti da neoplasie.

Materiali e Metodi: sono stati analizzati i sieri di 50 pazienti affetti da varie forme di neoplasie. Come controllo, sono stati testati 20 soggetti sani. In tali campioni sono stati ricercati anticorpi anti-nucleo (ANA), anti-muscolo liscio (ASMA), anti-mitocondri (AMA) e anti-parete gastrica (APCA). I test sono stati eseguiti mediante tecniche di immunofluorescenza indiretta (IFI) su cellule HEP-2, per la valutazione degli ANA, e su fegato, rene e stomaco di ratto per gli altri autoanticorpi.

Risultati: le analisi condotte sui 50 campioni derivanti da pazienti oncologici hanno riscontrato la presenza di ANA in 30 campioni (60%), la maggior parte dei quali con titolo medio-basso (1:80, 1:160 e 1:320). Solo due campioni risultavano ANA-positivi con titolo alto (1:640 e 1:1280). I pattern fluoroscopici più frequenti evidenziati dall'analisi sono stati quello speckled (60%) e quello citoplasmatico (25%), ma sono stati riscontrati anche i pattern nucleolare (7%) e omogeneo (7%). Soltanto 4 campioni presentavano autoanticorpi anti-muscolo liscio, con pattern di tipo vasale, e 2 autoanticorpi anti-parete gastrica, ma tutti con titolo basso. I 20 campioni provenienti da soggetti sani sottoposti alle stesse analisi sono risultati tutti negativi per gli autoanticorpi ricercati.

Discussione e conclusioni: è oramai documentato che cellule tumorali possono attivare la risposta immune nell'ospite. Gli antigeni tumorali vengono riconosciuti dalle cellule del sistema immunitario, e possono stimolare una risposta contro il tumore stesso (funzione di immunosorveglianza). Il presupposto dell'efficacia di tale risposta risiede proprio nei meccanismi di evasione della tolleranza immunologica, poiché gli antigeni tumorali sono riconosciuti come self. Pertanto la risposta che il sistema immunitario dell'ospite scatena nei confronti del tumore è di tipo autoimmune, e sono stati anche identificati e purificati da siero umano autoanticorpi diretti contro antigeni tumorali. La presenza di autoanticorpi in pazienti oncologici, evidenziata dal presente studio, rappresenta pertanto un ulteriore riscontro dell'esistenza di una relazione tra autoimmunità e tumori.

QUANDO LA MEDICINA DI LABORATORIO “CHIUDE IL CERCHIO”

D-14

A.T. Scacchetti¹, A. Melegari¹, D. Campioli², G. Bonacorsi³, G. Manieri¹, A.M. Cenci¹, T. Trenti¹

¹Dip. Pat. Clinica, NOCSAE, AUSL Modena; ²Lab. Analisi Chimico Cliniche, AO Universitaria Policlinico Modena; ³ Ematologia, AO Universitaria Policlinico Modena

Scopo del lavoro: l'attuale momento di evoluzione della Medicina di Laboratorio, legato anche all'innovazione tecnologica e particolarmente evidente nelle aree specialistiche, consente al patologo clinico di garantire la tradizionale accuratezza analitica esercitando contemporaneamente una funzione di approfondimento e consulenza con informazioni estremamente utili alla clinica. Si illustrano 3 casi in cui il ruolo dei professionisti di laboratorio è determinante per le conclusioni cliniche. *Materiali e metodi:* 1) ♂, a.8, esegue test di laboratorio per scarso accrescimento, dolori addominali frequenti durante e dopo i pasti. Sono richiesti emocromo completo, sideremia, immunoglobuline, Ab anti-transglutaminasi IgA, AGA IgA e IgG.

2) ♂, a.23, presenta da circa due anni dolori addominali e ventre gonfio, con verosimile collegamento al pesce come scatenante; viene richiesto dosaggio IgE per questo allergene. All'anamnesi: dubbi i risultati dei test in vivo eseguiti per l'allergia alimentare presunta; dieta senza esclusione del pesce; antistaminici al bisogno. 3) ♂, a.80, presenta segni clinici di pancitopenia e diarrea da circa un mese.

Risultati e conclusioni: 1) non alterazioni nei test; negativi Ab per celiachia. Si evidenzia solo conta di granulociti eosinofili pari a 1.11 migl./mmc. Pur non essendoci sempre ipereosinofilia in allergia/sensibilizzazione, il patologo ritiene in questo caso appropriato eseguire screening mirato per allergeni maggiori alimentari/inalatori. Per la positività ottenuta, espande il pannello pediatrico, con conferma positiva significativa per gramigna dei prati (31.10 KUA/L) e moderata per alimenti cross-reagenti. 2) indagini per pesci, crostacei, molluschi ed altri alimenti testati negative. La sintomatologia suggestiva e la dichiarata abitudine anamnestica ad assunzione di pesce crudo, suggeriscono test per allergia all'Anisakis Simplex, con esito positivo [2.94 KUA/L]. L'Anisakiasi è dovuta alla perforazione della mucosa e sottomucosa gastrointestinali da parte delle larve e alla reazione allergica sostenuta dal nematode. 3) all'agoaspirato midollare: ipercellularità, fibrosi, CD34:15%, CD61:30-40% con displasia megacariocitica. L'assenza di altri parametri di infiammazione depone per una sottostante patologia ematologica. Diagnosi definitiva: Panmielosi acuta con mielofibrosi. Contemporaneamente, si riscontra un valore di 120 U/ml per Ab antiTransglutaminasi IgA e forte positività di Ab antiEndomisio in IFA, con presenza di eterodimero DQ2 completo (DQA1*05, DQB1*02). Come noto, la malattia celiaca non trattata fa da trigger per altri disordini autoimmuni, e circa il 10-28% dei pazienti cronici sviluppa una seconda patologia.

ANTICORPI ANTI-PEPTIDI DEAMIDATI DI GLIADINA: VALUTAZIONE DELLA LORO UTILITA' DIAGNOSTICA

D-15

B. Porcelli^{1,2}, C. Scapellato², P. Rossi², L. Pieri², L. Terzuoli^{1,2}

¹Dipartimento di Medicina Interna, Scienze-Endocrino Metaboliche e Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena;

²UOC Laboratorio Analisi Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

Scopo del lavoro. Fino a poco tempo fa, nell'ambito della diagnosi sierologica della malattia celiaca (MC), veniva utilizzata, assieme alla ricerca degli anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (tTG) e degli anticorpi anti-endomisio (EMA) anche la ricerca degli anticorpi anti-gliadina (AGA) IgA ed IgG. Con il passare degli anni questo tipo di dosaggio ha perso sempre più significato. Recentemente, sono stati sviluppati test per la determinazione di anticorpi anti-peptidi deamidati di gliadina (DGP-AGA) IgA e IgG. I risultati ottenuti da Volta et al (1) suggeriscono che questi anticorpi rappresentino un test utile per la diagnosi e il follow up della MC: in particolare, nei soggetti con MC sottoposti a dieta viene evidenziato come la presenza di DGP-AGA IgG sia significativamente associata alla persistenza del danno a livello della mucosa intestinale, mentre la loro scomparsa sia indice di un miglioramento delle lesioni istopatologiche. In questo studio abbiamo valutato le indicazioni pratiche suggerite dal lavoro di Volta per l'utilizzo degli anticorpi DGP-AGA.

Materiali e Metodi. Abbiamo arruolato 52 soggetti con MC, 40 soggetti a dieta priva di glutine e 128 soggetti controllo. Tutti i kit utilizzati per tTG, EMA, AGA e DGP-AGA erano della Ditta Eurospital, Trieste.

Risultati. Sensibilità delle AGA IgA: 80%, specificità: 87% (cut-off 8); sensibilità delle AGA IgG: 76%, specificità: 65% (cut-off 50); sensibilità delle DGP-AGA IgA: 83%, specificità: 95% (cut-off 5); sensibilità delle DGP-AGA IgG: 86%, specificità: 95% (cut-off 15). Nei soggetti a dieta, 18 presentavano concordanza tra DGP-AGA IgG e tTG IgA, e 22 presentavano valori discordi: in particolare, 10 soggetti risultavano positivi per le tTG IgA e negativi per le GDP-AGA IgG, mentre 12 risultavano negativi per le tTG IgA e positivi per le GDP-AGA IgG.

Discussione e Conclusioni. I risultati da noi ottenuti confermano la migliore performance delle GDP-AGA rispetto alle AGA tradizionali. La specificità delle DGP-AGA IgG è risultata elevata ma più bassa di quella ottenuta da Volta et al (98,5%). Questi risultati ci fanno considerare che i valori di specificità sono ancora molto eterogenei a seconda del kit utilizzato per cui, in queste condizioni, non possiamo configurare le DGP-AGA come un test utile da aggiungere nella diagnosi MC. Al contrario, risultano utili nei soggetti a dieta che presentano valori discordi perchè, come suggerito da Volta, potrebbero indicare una permanenza del danno a livello intestinale, aiutando il clinico a seguire meglio il decorso della dieta.

Bibliografia

1. Volta U. et al Dig Dis Sci (2008) 53;1582-1588.

AUTOANTICORPI ANTI-F-ACTINA: UN VALIDO AIUTO NELLA DIAGNOSI DI MALATTIA CELIACA

D-16

L. Terzuoli^{1,2}, C. Scapellato², C. Vindigni³, S. Ugolini⁴, B. Porcelli^{1,2}

¹Dipartimento di Medicina Interna, Scienze-Endocrino Metaboliche e Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena;

²UOC Laboratorio di Analisi Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena; ³Anatomia Patologica I, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena; ⁴Eurospital SpA, Trieste

Scopo del lavoro. Pur essendo gli anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (tTG) e gli anticorpi antiendomio (EMA) eccellenti test sierologici per indirizzare verso la diagnosi di malattia celiaca, i loro valori non risultano correlare con la severità della lesione intestinale. Costituiscono, pertanto, solo l'indicazione ad eseguire una biopsia intestinale per una conferma diagnostica definitiva. La presenza nel siero di autoanticorpi anti-F-actina di classe IgA (AAA) è risultata correlare invece con la gravità del danno istologico (Marsh 3b e 3c). Abbiamo così voluto indagare la fattibilità di introdurre questo test subito dopo aver rilevato la presenza di una positività tTG e/o EMA, e di correlare il risultato con il grado della biopsia. *Materiali e Metodi.* 30 pazienti con positività tTG e/o EMA (22 femmine e 8 maschi, età media 20, deviazione standard 17). I kit commerciali utilizzati per tTG, EMA, AAA sono della Ditta Eurospital, Trieste.

Risultati. Dei 30 pazienti positivi tTG e/o EMA solo 12 sono positivi AAA (40%), di questi 1 caso risulta di grado 3b (8%), mentre i restanti 11 (92%) hanno grado 3c.

Discussione e Conclusioni. Le percentuali, non molto elevate, riscontrate per AAA non hanno sicuramente un valore definitivo per la diagnosi di malattia celiaca, in quanto la loro assenza non comporta l'esclusione della malattia stessa. La loro presenza, d'altro canto, correla strettamente con la totale atrofia villare, offrendo così la possibilità di evitare un esame invasivo come la biopsia intestinale. Utilizzare, una volta rilevata la positività per tTG e/o EMA, immediatamente questo test potrebbe evitare la biopsia duodeno-digiunale che a tutt'oggi rappresenta il test conclusivo nell'iter diagnostico. In particolare potrebbe aiutare nella diagnosi in quei casi in cui la biopsia non risulti praticabile.

GLI AUTOANTICORPI NELLA SCLEROSI MULTIPLA: SONO CORRELATI ALLA MALATTIA O ALLA TERAPIA?

D-17

L. Cinquanta, G. Iuliano¹, R. Napoletano¹, A. Massari

SC Patologia Clinica, ¹SC Neurologia A.O.U. OO.RR. S.Giovanni di Dio e Ruggi d'Aragona Salerno

Scopo del lavoro: Pazienti con sclerosi multipla (SM) o epatite, durante la terapia con interferone, mostrano positività per test autoimmunitari, spesso asintomatica e transitoria. Scopo di questo lavoro è calcolare la frequenza della positività, e valutare se essa è associata specificamente alla malattia o è correlata alla terapia.

Materiali e metodi: I pazienti trattati nel nostro centro di SM praticano annualmente i seguenti test autoanticorpali: ANA, anti-dsDNA, ACL IgM e IgG, anti-TPO, AMA, ASMA, ANCA, APCA, e FR. Sono stati valutati gli anni 2007, 2008 e 2009. Sono inclusi 169 pazienti, 57m, 112f, età 11-59 anni; 136 relapsing-remitting, 33 secondariamente progressivi. Quasi tutti erano già in trattamento nel 2007, 81 con interferone beta1a; 35 con interferone beta1b; 18 con copolimero; 8 con mitoxantrone; 5 con azatioprina; 3 con associazione interferone-azatioprina; 19 senza terapia. Sono stati elaborati i dati per "anni-persona" per un totale di 466. I pazienti con precedenti diagnosi di malattie autoimmuni sono stati esclusi dallo studio. È stata calcolata la frequenza di positività a qualsiasi autoanticorpo, stratificata per sesso, attività di malattia, caratteri di RM e terapie. I dati sono stati calcolati come prevalenza e incidenza, e successivamente esaminati con odds ratio, chi squared test e regressione multipla.

Risultati e discussione: Su 3395 test praticati, risultavano positivi 64 anti-TPO, 29 ASMA, 21 ANA, 11 ANCA, 9 APCA, 5 anti-dsDNA, 4 ACL IgM, ACL IgG, AMA e FR. La prevalenza globale della positività a uno o più autoanticorpi nei 3 anni è del 47,3% (79/167, c.i. 40,2-55,2; maschi: 41,07% (23/57); femmine: 50,9% (56/110)). In pazienti non trattati, o trattati con farmaci diversi dagli interferoni, la prevalenza è 23,2% (10/43). In pazienti trattati con interferoni è 55,6% (69/124) (femmine 57,6%; maschi 52,6%), ed è significativamente più alta. Nel gruppo, già in trattamento, l'incidenza annuale è 6,3% (7/111) significativamente più alta nelle femmine. Differenze maggiori si osservano comparando gruppi trattati con interferoni (104/205) contro gli altri farmaci, o non trattati (15/85). L'Odds Ratio globale è 2,87 (1,5-5,2) (c.i.=1,5-5,2; p=0.0001). La regressione multipla mostra significativa associazione degli autoanticorpi con l'interferone. Gli anticorpi anti-TPO sono i più frequenti nei pazienti in trattamento con gli interferoni (p=0,0004) e nel sesso femminile (33,3% contro 18,9%). Ad ogni modo, la regressione multipla per le principali variabili (sesso, IFN, relapse rate, attività RM), è significativa solo per la terapia.

Conclusioni: L'aumentata frequenza di autoanticorpi è associata soprattutto alla terapia con interferone ma, in gran parte dei pazienti, non porta a nuove diagnosi, tranne per la tiroidite, come già riportato in letteratura.

LA CALPROTECTINA: INCREMENTO SIGNIFICATIVO DEI DOSAGGI IN UNA POPOLAZIONE

D-18

R. Faricelli, S. Campli, A. Faleo, A. Odorisio, R. Tullio, S. Esposito, M. Di Mascio, M. Flacco, E. Toniato, S. Martinotti

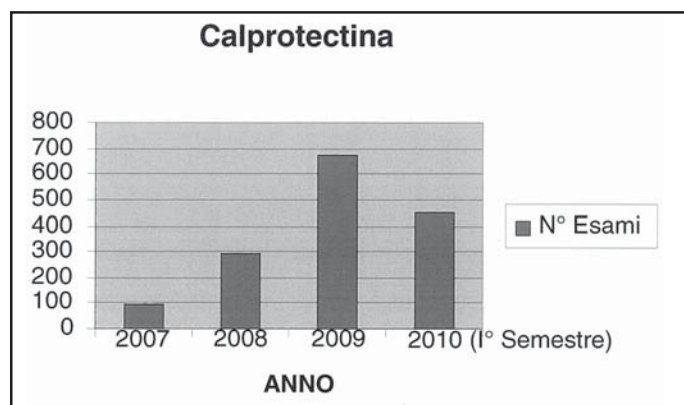
U.O. Patologia Clinica, Policlinico SS Annunziata, Chieti

Scopo del Lavoro. Lo scopo è di valutare l'incremento della richiesta di calprotectina fecale (f-cp) presso il nostro laboratorio negli ultimi quattro anni.

Materiali e Metodi. L'esame, basato sulla ricerca della f-cp, presenta una specificità e sensibilità dell'85% (Test ELISA). Nel nostro laboratorio sono stati eseguiti dal 2007 al 2009 1064 dosaggi di f-cp, di cui 96 nel 2007, 293 nel 2008, 675 nel 2009, 450 nei primi sei mesi del 2010.

Risultati. Negli anni dal 2007 al 2010 si è avuto un notevole incremento dei dosaggi della f-cp. Nei primi sei mesi del 2010 i campioni di f-cp pervenuti al nostro laboratorio sono stati 450 di cui 395 negativi e 55 positivi con una percentuale di positività del 12%. Dei 55 positivi solo 26 avevano come riferimento il dosaggio del sangue occulto. Di questi ultimi solo 13 sono risultati positivi.

Discussione e conclusioni. Dai risultati si evince un notevole incremento annuo di richiesta del dosaggio di f-cp. Risulta dunque necessario valutare l'appropriatezza delle richieste pervenute.



VALUTAZIONE DELL'UTILITÀ CLINICA DEL DOSAGGIO DI ANCA-PR3 NEL MONITORAGGIO DEI PAZIENTI AFFETTI DA GRANULOMATOSI DI WEGENER (GW) MEDIANTE UTILIZZO DI UN TEST DI 3° GENERAZIONE (ANCHOR TECHNOLOGY)

D-19

L. Bianchi¹, R.A. Sinico¹, C. Farina², A. Radice²

¹UOS Imm. Clin., ²UOC Microbiol.-AO Osp. S. Carlo B., Milano

Scopo del lavoro. ANCA diretti verso la proteinasi 3 (PR3) e la mieloperossidasi sono frequentemente presenti in alcune vasculiti primitive sistemiche quali la GW, la poliangerite microscopica (compresa la forma limitata al rene) e la sindrome di Churg-Strauss, spesso definite vasculiti ANCA-associate. C-ANCA/PR3-ANCA sono un marker sierologico importante nella diagnosi della GW dove sono presenti nel 70-90% dei pazienti con malattia attiva e generalizzata, il loro ruolo nel monitoraggio è invece molto dibattuto. Scopo del presente studio era valutare l'utilità clinica del dosaggio di ANCA-PR3 nel monitoraggio dei pazienti affetti da GW e la correlazione con l'attività di malattia.

Materiali e metodi. Studio retrospettivo monocentrico: 45 campioni seriali di 11 pz affetti da GW (F/M=5/6, età media=53.7 (27-81). Attività di malattia calcolata mediante il Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS). ANCA-PR3 dosati mediante test ELISA di 3° generazione (AeskulisaPR3sensitiv-Grifols Italia). Il nuovo format AeskulisaPR3sensitiv utilizza piccole molecole spaziatrici per legare la PR3 alla fase solida, consentendo l'esposizione di tutti gli epitopi antigenici rilevanti e la loro accessibilità ottimale agli autoanticorpi. I test di 2° e 3° generazione (capture e anchor) hanno dimostrato una sensibilità diagnostica superiore ai test classici nei quali l'antigene è legato direttamente alla fase solida.

Risultati. Gli ANCA correlano significativamente e meglio degli altri indici infiammatori VES e PCR con l'attività di malattia ($r=0.55$ $p=0.0001$, $r=0.43$ $p=0.043$, $r=0.54$ $p=0.0002$ rispettivamente). Nei casi studiati erano documentabili 13 riacutizzazioni/10 pazienti: un incremento del titolo degli ANCA da 2 a 20 volte era presente in 9/13 eventi. 2/13 relapse cliniche occorrevano in due pazienti con ANCA neg e 2/13 in due pazienti con ANCA stabili pos a titolo medio basso. Un paziente non mostrava riacutizzazione della malattia nonostante il rialzo del titolo anticorpale.

Discussione e conclusioni. I risultati, pur confermando una buona correlazione tra la persistenza-incremento degli ANCA e l'attività di malattia, dimostrano che non è giustificato utilizzare il solo dato di laboratorio come guida alla terapia. Sono possibili, sebbene non frequenti, riacutizzazioni con ANCA neg o stabili così come ad un rialzo del titolo degli ANCA non sempre segue relapse clinica. L'incremento del titolo degli ANCA deve suggerire un'attenta valutazione clinica ed un monitoraggio "stretto" del paziente. Gli ANCA, pur essendo il più importante e predittivo parametro sierologico per l'attività e/o la riacutizzazione delle VAA, devono essere valutati nel contesto clinico-diagnostico complessivo.

ESPLORANDO L'ASSOCIAZIONE TRA CRIOGLOBULINEMIA, HCV E PATTERN ANA**D-20****D. Campioli¹, A. Melegari², M. Tagliacucchi¹, M.T. Mascia³, A.M. Ottomano¹**¹Laboratorio Analisi Chimico Cliniche Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico di Modena; ²Dipartimento di Patologia Clinica AUSL di Modena; ³Cattedra e Servizio di Reumatologia Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico di Modena

Introduzione. Le crioglobuline sono immunoglobuline che precipitano a basse temperature. Vengono classificate in tre tipi in base alla loro composizione immunologica: tipo I monoclonale, tipo II monoclonale più policlonale, tipo III policlonale. E' nota la stretta associazione tra la crioglobulinemia mista (tipo II e III) e HCV. Molte sono le evidenze cliniche che indicano uno stretto legame tra infezione da HCV, manifestazioni vasculitiche, autoimmunità e linfoproliferazione.

Scopo del lavoro. Abbiamo valutato il pattern autoimmunitario (ANA in IFA su cellule HEp2) in una casistica di crioglobulinemie in relazione a infezione da HCV e alla caratterizzazione immunologica.

Materiali e Metodi. Abbiamo condotto uno studio retrospettivo su 110 pazienti esaminati negli anni 2007 - 2009, e predisposto un database con le informazioni relative al tipo di crioglobulinemia, alla patologia associata, alla positività o meno per l'HCV e alla caratterizzazione autoanticorpale. La nostra popolazione era rappresentata da 77 femmine e 33 maschi con età compresa tra 54 e 88 anni. Di ogni campione è stata eseguita la ricerca delle crioglobuline, l'analisi quantitativa mediante la determinazione del criocrito, l'analisi qualitativa per la caratterizzazione immunologica mediante immunofissazione, la ricerca degli anticorpi anti-HCV con metodo ELISA e degli anticorpi antinucleo. Questi 110 casi fanno parte di un database di 3915 crioglobulinemie sviluppato nel nostro ospedale a partire dal 2003.

Risultati. Nel gruppo di 71 HCV positivi, 50 risultavano ANA negativi (70%), mentre 21 erano ANA positivi (30%). Nel gruppo di 39 HCV negativi, 15 risultavano ANA negativi (38%), mentre 24 (62%) erano ANA positivi. Il pattern più rappresentato è stato lo speckled e, a seguire, il pattern omogeneo. Abbiamo riscontrato 3 casi di pattern centromerico in pazienti HCV positivi. E' stato osservato un pattern con fuso mitotico ad elevato titolo che corrispondeva ad una crioglobulinemia di tipo I (IgA-K).

Conclusioni. Il 40.9% dei pazienti con crioglobulinemia presenta una positività ANA. Non vi sono differenze significative di pattern autoanticorpale nei diversi gruppi di crioglobuline. Riteniamo interessante e utile lo studio dell'espressione autoimmune per meglio comprendere l'eterogeneità delle crioglobulinemie. Riteniamo inoltre indispensabile un approccio multidisciplinare per lo studio di queste complesse condizioni clinico/patologiche.

UTILIZZO DEGLI ANTICORPI ANTIGLIADINA PER LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLA MALATTIA CELIACA NEI PAZIENTI PEDIATRICI**D-21****A. Odorisio, R. Tullio, S. Esposito, M. Di Mascio, M. Flacco, S. Campi, A. Faleo, E. Toniato, S. Martinotti, M.B. Di Sciascio¹, S. Rabottini¹, L. Di Tommaso¹, R. Faricelli**U.O. Patologia Clinica, settore Autoimmunità, Policlinico SS. Annunziata Chieti; ¹U.O. Patologia Clinica, settore Allergologia, Policlinico SS. Annunziata Chieti

Scopo del lavoro. Valutazione dell'utilizzo e del confronto tra diverse metodiche di ricerca di anticorpi antigliadina specifici per la diagnosi di malattia celiaca (AGA = anticorpi antigliadina estrattiva metodo classico, DGP = anticorpi antipeptidi deamidati della gliadina, altri biomarcatori) che potrebbero offrire nuove opportunità nella diagnostica delle intolleranze alimentari o comunque fornire valide indicazioni sullo stato di interessamento della mucosa intestinale di alcuni pazienti. Alla luce di questa premessa, considerando la bassa specificità degli AGA metodo classico, è indubbio che esiste una parte di popolazione che, sottoposta a questo test, è risultata positiva per la classe anticorpale IgG, ma che è da considerare assolutamente non Celiaca (ovvero negativa a AGA IgA, DGP IgA e IgG, TGA = anticorpi anti trasglutaminasi IgA-IgG, EMA = anticorpi antiendomio ed agli altri test sierologici per Malattia Celiaca). La domanda da porsi è dunque: perché esistono degli individui apparentemente sani ma POSITIVI agli AGA IgG metodo classico? Chi sono?

Materiali e metodi. 20 soggetti, 16 maschi e 4 femmine, età media di 3 anni (range 1-6) sono stati sottoposti a tutti i dosaggi anticorpali specifici per la diagnosi di malattia celiaca (AGA IgA-IgG, DGP IgA-IgG, TGA IgA-IgG, EMA).

Risultati. Tutti i bambini considerati erano positivi al test AGA IgG metodo classico ma non presentavano anticorpi anti TGA ed EMA. Anche il dosaggio degli DGP IgG è risultato negativo in tutti i pazienti. I gruppi di controllo erano due: il primo formato da 7 pazienti, età media 3 anni (range 1-6), risultati positivi a tutti i markers per la celiachia ed in particolare ad entrambi i test della gliadina, il secondo formato da 20 soggetti sani, età media 4 anni (range 1-6), in cui tutti i dosaggi sono risultati negativi.

Discussione e conclusione. I 20 pazienti considerati, positivi agli AGA IgG ma negativi ai DGP IgG, sottoposti ad indagini diagnostiche di altra natura, sono risultati affetti da altre patologie quali allergie alimentari, altre patologie autoimmuni o problemi intestinali di altra natura, ma non sicuramente celiachia.

GLIADINA DEAMIDATA: UNA “PROMESSA” PER LA MALATTIA CELIACA?**D-22****A. Melegari¹, A.T. Scacchetti¹, M. Tagliazucchi², A. Fortuna², A.R. Di Biase³, A.M. Cenci¹, T. Trenti¹**¹Dipartimento di Patologia Clinica NOCSAE Baggiovara AUSL Modena; ²Laboratorio Analisi Chimico Cliniche Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico di Modena; ³Dipartimento Misto Materno-Infantile Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico di Modena

Introduzione. Gli anticorpi anti gliadina nativa sono ormai ritenuti di scarsa utilità diagnostica. I test sierologici che impiegano i peptidi deamidati hanno dimostrato un comportamento ben più promettente. In particolare l'interesse è rivolto verso la gliadina deamidata IgG da collocare eventualmente insieme alla transglutaminasi IgA nell'algoritmo diagnostico della malattia celiaca.

Scopo. Valutare la performance clinico-diagnostica del test EliA Gliadina DP IgG (Phadia) e del test Quanta Lite IgG (Inova) versus la gliadina IgG nativa EliA. Valutare la performance del test EliA gliadina IgA versus la gliadina IgA nativa EliA.

Materiali e Metodi. I test sono stati determinati in 206 sieri di pazienti pediatrici nei quali sono stati anche dosati gli anticorpi anti transglutaminasi IgA e gli anti endomisio. Inoltre è stata fatta anche una stratificazione dei pazienti (sempre pediatrici) e la determinazione degli anticorpi in: 50 campioni appartenenti a pazienti celiaci con biopsia investigata, 50 campioni con malattie gastrointestinali diverse dalla malattia celiaca, 50 pazienti con verificata positività isolata degli anticorpi anti gliadina IgG nativa, 100 campioni appartenenti alla normale routine del laboratorio nei quali sia la transglutaminasi IgA che l'EMA erano negativi.

Risultati. Le specificità della gliadina deamidata IgG sia Inova che Phadia sono risultate molto vicine e intorno al 95% e superiori alla gliadina nativa. Come atteso la gliadina IgG convenzionale costituisce ormai un test che offre specificità e sensibilità molto basse. La gliadina DP IgA Phadia presenta una specificità (93%) e sensibilità (80%) che superano il test basato sulla gliadina nativa. L'area AUC si è dimostrata significativamente più larga per i 2 test Inova (88%) e Phadia (86%) gliadina IgG contro il 69% della gliadina nativa.

Conclusioni. La determinazione degli anticorpi anti transglutaminasi IgA e della gliadina DP IgG può far raggiungere una buona accuratezza diagnostica, offrendo un test IgG finora mai disponibile con tali performance. Il ruolo degli anticorpi anti gliadina DP IgA nell'algoritmo diagnostico rimane di utilità nell'ambito pediatrico. La strategia autoanticorpale per questa patologia deve essere riveduta e inserita nel diverse realtà organizzative di ciascun laboratorio alla luce della propria organizzazione.

GLI ANTI-SA PER LA DIAGNOSI DELL'AR: UNO STUDIO “GENDER ORIENTED”**D-23****P. Sabatini¹, S. Antinucci², L. Clemente¹, I. Soriente¹, C. Nastro¹, M. Nastro¹, A. Vitagliano³, S. Esposito¹**¹UOC di Patologia Clinica, Umberto I -Nocera Inferiore- A.S.Salerno; ²Euroimmun Italia; ³Facoltà di Medicina e Chirurgia, A.O. “Careggi” Firenze

Introduzione. L'artrite reumatoide (AR) è la malattia infiammatoria articolare più frequentemente diagnosticata. Viene definita “malattia di genere” perché risulta circa cinque volte più comune nel sesso femminile rispetto a quello maschile, in particolare ne sono colpite maggiormente le femmine in età fertile e casalinghe. Tra i biomarker impiegati per una diagnosi precoce, gli anticorpi anti-Sa hanno mostrato un'elevata specificità per la diagnosi dell'AR. Si tratta di marker sierologici predittivi dello sviluppo di artrite severa in pazienti con poliartrite infiammatoria ad insorgenza precoce, con un valore prognostico superiore agli anticorpi anti-peptide ciclico citrullinato (anti-CCP) e al Fattore Reumatoide (RF).

Scopo. In questo studio si è valutata l'importanza degli anticorpi anti-Sa per il loro valore predittivo e prognostico nella progressione della malattia infiammatoria artritica in un'ottica di genere.

Metodi. I sieri di una coorte di 110 pazienti di cui 20 sospetti (19 femmine e 1 maschio) e 20 affetti (15 femmine e 5 maschi) da AR, 15 affetti da LES (14 femmine e 1 maschio), 15 da Artrite Psoriasica (10 femmine e 5 maschi), 20 da Connettivite Mista (14 femmine e 6 maschi) e 20 donatori sani (10 femmine e 10 maschi) sono stati testati per l'RF, gli anti-CCP e gli anti-Sa (Anti-Sa ELISA, isotipo IgG EUROIMMUN).

Risultati. I risultati ottenuti hanno mostrato che 10 dei 20 pazienti con positività per gli anticorpi anti-CCP, risultavano positivi anche per gli anticorpi anti-Sa. In particolare, nel gruppo dei maschi affetti da AR, il 60% ha mostrato una positività al test anti-Sa; nel gruppo delle femmine la positività ha riguardato il 47%. Dei 70 pazienti negativi per gli anti-CCP, 2 (1 con Artrite Psoriasica e 1 con Connettivite Mista) risultavano positivi al test anti-Sa, in particolare il 20% della popolazione maschile affetta da Artrite Psoriasica e il 7,1% delle femmine con Connettivite Mista.

Conclusioni. Gli anticorpi anti-Sa sembrano essere utili biomarcatori per la diagnosi e il monitoraggio dell'AR soprattutto nel genere maschile. In particolare nella popolazione maschile affetta da Artrite Psoriasica, gli anti-Sa potrebbero rappresentare un indice di severità della malattia. Nei pazienti di sesso femminile affetti da Connettivite Mista, gli anti-Sa si aggiungono ad un quadro bioumorale caratterizzato dalla presenza di biomarker specifici per differenti patologie del connettivo. Il test per il dosaggio degli anti-Sa risulta specifico per la diagnosi precoce di AR, mentre la valutazione della sensibilità del test è da riconsiderare su una casistica maggiore.

PREVALENZA DELLA MALATTIA CELIACA IN PAZIENTI CON TIROIDITE AUTOIMMUNE**D-24****R. Cardinali, A. Orlando, A. Greco, A. Vaira**

U.O. Patologia Clinica, Ospedale Civile San Giacomo, Monopoli

Scopo del Lavoro. Le malattie autoimmuni della tiroide, nelle varie espressioni, si presentano frequentemente associate ad una serie di quadri patologici autoimmuni endocrini e non endocrini (Sindromi Poliendocrine Multiple). La patologia tiroidea su base autoimmune è di frequente riscontro nei pazienti con malattia celiaca; viceversa, in pazienti tiroidite autoimmune, è stata dimostrata un'aumentata prevalenza della malattia celiaca. L'associazione tra tireopatia autoimmune e malattia celiaca è verosimilmente riconducibile ad una comune predisposizione genetica e alla durata dell'esposizione al glutine. Lo scopo del lavoro è stato di valutare la prevalenza della malattia celiaca in pazienti con tiroidite autoimmune.

Materiali e Metodi. Sono stati valutati i livelli sierici di anticorpi anti-transglutaminasi tissutale di isotipo IgA (IgA-tTG) (Pharmacia Diagnostics, Freiburg, Germany), di anticorpi anti endomisio di isotipo IgA (Bio-Rad Laboratories, Hercules, U.S.A) e di immunoglobuline di isotipo IgA in 108 pazienti con diagnosi di tiroidite autoimmune (femmine:maschi 2:1, età media $42,3 \pm 21,2$) ed in 88 soggetti di controllo comparabili per sesso e per età.

Risultati. 6 dei 108 pazienti valutati (6.5 %) sono risultati positivi agli anticorpi anti-transglutaminasi ed anticorpi anti endomisio. Non è stato riscontrato nessun soggetto con deficit selettivo di IgA. Nessuno dei soggetti di controllo è risultato positivo agli anticorpi anti-transglutaminasi ed anti endomisio. La prevalenza della malattia celiaca in pazienti con tiroidite autoimmune è risultata significativamente alta (χ^2 test .032).

Discussione e Conclusioni. I dati da noi ottenuti confermano un aumento della prevalenza della malattia celiaca in pazienti con tireopatia autoimmune. La frequenza da noi riscontrata non è dissimile da quanto riportato in letteratura (1). Pertanto, è auspicabile che pazienti con tiroidite autoimmune, siano sottoposti ad uno screening per la malattia celiaca; studi condotti su più ampie popolazioni consentiranno confermare l'utilità del dosaggio degli anticorpi anti-transglutaminasi e anticorpi anti endomisio nei pazienti con tiroidite autoimmune.

Bibliografia

(1) Boelaert K, Newby PR, et al. Prevalence and relative risk of other autoimmune diseases in subjects with autoimmune thyroid disease. Am J Med. 2010;123(2):183-89.

PROFILO E SIGNIFICATO CLINICO DEGLI ANTICORPI ANTI-NUCLEO SPECIFICI E ANTI MITOCONDRIO IN PAZIENTI AFFETTI DA SINDROME DI REYNOLDS**D-25****R. Galasso, A. Zucano, A. Calamita, A. Massaro, M. Tampoia, A. Fontana, F. Di Serio**

Laboratorio di Patologia Clinica I, Ospedale Policlinico di Bari, Italia

La sindrome di Reynolds è una rara patologia autoimmune caratterizzata dall'associazione di Sclerosi Sistemica Progressiva (SSP) e Cirrosi Biliare Primitiva (CBP). Uno dei criteri diagnostici è la positività per gli anticorpi anti mitocondrio (AMA). Recentemente studi di biologia molecolare hanno descritto differenti target antigenici riconosciuti dagli autoanticorpi, utili non solo per confermare la diagnosi, ma anche per stabilire la prognosi della malattia.

Scopo del lavoro. Valutare le positività autoanticorpali per antigeni nucleari specifici e mitocondriali in pazienti affetti da sindrome di Reynolds, afferenti al laboratorio di Patologia Clinica I del Policlinico di Bari.

Pazienti e Metodi. Sono stati studiati 12 pazienti affetti da sindrome di Reynolds clinicamente diagnosticata di età media 58 anni. Come gruppo controllo sono stati considerati 14 pazienti affetti da sola CBP. Su tutti i pazienti e controlli è stata eseguita la ricerca di anticorpi anti Sp100, GP210, M2, 3E(BPO), PML con metodo Multiplex Euro Line (Euroimmun).

Risultati. Pazienti con sindrome di Reynolds: 6 positivi per M2/3E(BPO), 4 per M2, 2 per M2/Sp100. Pazienti con CBP isolata: 12 M2/3E(BPO) di cui 4 con Sp100 associato, 2 con GP210 associato e 2 con entrambi, 2 con M2 e GP210.

E' stata evidenziata pertanto una maggiore percentuale di positività di M2/3E(BPO) nei pazienti con CBP (86%) rispetto ai pazienti con sindrome di Reynolds (50%).

Conclusioni. La definizione del profilo autoanticorpale mediante lo studio dei differenti target antigenici potrebbe essere utile nel caratterizzare i differenti subset clinici della CBP.

“GENDER” E SCLERODERMIA: UTILITÀ DIAGNOSTICA DELL’RNAP III**D-26****P. Sabatini¹, A. Vitagliano², C. Di Bella³, M. Sessa⁴, S. Spartano¹, T. Castagno¹, R. Iervolino¹, A. Sorrentino¹**¹UOC di Patologia Clinica, Umberto I-Nocera Inferiore- A.S. Salerno, ²Facoltà di Medicina e Chirurgia, Azienda Ospedaliera “Careggi” Firenze, ³Facoltà di Medicina e Chirurgia, Azienda Ospedaliera “Le Scotte” Siena, ⁴Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Salerno

Introduzione: la Sclerosi Sistemica progressiva (SSc) è una patologia autoimmune di genere che colpisce circa nove volte maggiormente le donne rispetto agli uomini. La diagnosi precoce si avvale del riconoscimento clinico dei primi sintomi (fenomeno di Raynaud) e della ricerca di specifici marcatori sierologici come gli anticorpi anti-RNAP III (ARA). Gli ARA sono indicatori precoci di ispessimento cutaneo e markers altamente discriminanti per la diagnosi differenziale della forma diffusa, associata ad una maggiore severità di malattia per il coinvolgimento di organi interni e la presenza di crisi renali.

Scopo del lavoro: In questo studio si è valutata, in un’ottica di genere, l’utilità diagnostica degli ARA come biomarkers precoci e specifici di SSc, in pazienti con forma cutanea diffusa, coinvolgimento polmonare e negativi per gli autoanticorpi maggiori (anti-topoisomerasi I e anti-centromero).

Materiali e metodi: una coorte di 157 pazienti, di cui 107 sospetti di SSc, con fibrosi polmonare (80 donne e 27 uomini) negativi per anticorpi anti-topoisomerasi I (Scl-70) e anti-centromero (ACA), 23 pazienti con Lupus Eritematoso Sistemico (LES) (20 donne e 3 uomini) e 27 donatori sani (14 donne e 13 uomini), è stata sottoposta alla ricerca degli anticorpi antinucleo (ANA) con tecnica di immunofluorescenza indiretta (IFI), degli anticorpi anti-nucleocitoplasmatico estraibili con tecnica di Immunoblot e degli ARA con Anti-RNA Polymerase III ELISA kit MBL.

Risultati: Il dosaggio degli ARA è risultato positivo nel 13% dei pazienti con sospetto SSc. Nel 7,9% delle donne analizzate, nessuna delle quali affetta da LES e nel 9,3% degli uomini, di cui 1 affetto da LES, il test è risultato positivo; i 27 pazienti di controllo sono risultati negativi al test. Il quadro fluoroscopico ANA-IFI nei pazienti ARA positivi è risultato prevalentemente di tipo nucleolare e granulare.

Conclusioni: la ricerca degli ARA appare specifica per la diagnosi di SSc in pazienti che presentano la forma cutanea diffusa, coinvolgimento polmonare ed esofageo e negativi per gli autoanticorpi maggiori specifici di malattia. Il profilo bioumorale caratterizzato dalla presenza degli ARA è risultato più frequente nel genere maschile rispetto a quello femminile, indicando che il dosaggio di questa classe di autoanticorpi è poco specifico per il genere femminile. Essendo la SSc una patologia autoimmune di genere appare evidente la necessità di ricercare profili diagnostici “gender oriented”.

**DOSAGGIO IMMUNOMETRICO MULTIPLEX DEGLI AUTOANTICORPI
ANTI-TIREOGLOBULINA E ANTI-TIREOPEROSSIDASI IN PAZIENTI CON CARCINOMA
TIROIDEO DIFFERENZIATO**
D-27**R. Tozzoli¹, L. Giovanella², M. Caputo³, E. Toffalori⁴**¹Laboratorio Analisi, Ospedale Civile, Latisana (Udine); ²Istituto di Medicina Nucleare, Università di Zurigo (CH); ³Laboratorio Analisi, Ospedale Civile, Bussolengo (Verona); ⁴Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Santa Chiara, Trento

Scopo del lavoro. La tireoglobulina (Tg) è riconosciuta come principale marcatore di presenza di residuo tessuto tiroideo in pazienti affetti da carcinoma tiroideo differenziato (DTC) e sottoposti ad ablazione completa della ghiandola. Il dosaggio della molecola è tuttavia condizionato dalla presenza di anticorpi anti-tireoglobulina (anti-Tg) e da anticorpi eterofili, che possono determinare interferenza nel dosaggio immunometrico. Per valutare l’incidenza della presenza di anticorpi anti-tireoglobulina nel DTC, è stato condotto uno studio multicentrico che ha coinvolto 360 pazienti affetti da tale patologia neoplastica, provenienti da Lugano e Bellinzona in Svizzera.

Metodi. E’ stato impiegato un metodo immunometrico su analizzatore multiplex (AtheNA Multi-Lyte TPO-Tg Plus, Zeus Scientific, distribuito in Italia da Lagitre, Milano), che consente la determinazione simultanea degli autoanticorpi anti-Tg e anti-tireoperossidasi (anti-TPO). Il valore soglia di positività, ottenuto con curve ROC su una casistica di soggetti sani, è stato rispettivamente di 50 U/ml e 60 U/mL.

Risultati. 90 pazienti su 360 (25%) sono risultati positivi al dosaggio di anti-Tg, con differenze significative tra le due aree geografiche (20.2% Bellinzona, 31.5% Lugano; $p < 0.05$). Negli stessi pazienti è stata determinata la presenza di anti-Tg con un metodo RIA manuale: è risultato positivo il 16.4 % dei pazienti (59/360). Nei pazienti affetti da DTC, gli anticorpi anti-TPO sono risultati presenti nel 26,7% dei casi (96/360). Complessivamente è risultato positivo contemporaneamente ai due anticorpi il 62.5% dei pazienti.

Discussione. Lo studio conferma l’elevata frequenza di anticorpi anti-Tg nei pazienti affetti da DTC: in questi soggetti il dosaggio della tireoglobulina è influenzato dalla presenza dei rispettivi autoanticorpi in un caso su 4. Lo studio rileva nuovamente la spiccata variabilità analitica tra metodi per il dosaggio di questa classe autoanticorpale.

La presenza degli autoanticorpi anti-TPO conferma l’elevata coesistenza di tiroidite linfocitaria diffusa o focale nei pazienti affetti da neoplasie tiroidee.

AUTOANTICORPI ANTI-NUCLEO ED ANTI-ENA SPECIFICI IN PAZIENTI AFFETTI DA CIRROSI BILIARE PRIMITIVA: UN INDIZIO PER LA DIAGNOSI E LA PROGNOSI DI SINDROME DI REYNOLDS

D-28

A. Zucano, R. Galasso, M.C. Petrelli, M. Tampoia, A. Fontana, F. Di Serio

Laboratorio di Patologia Clinica I, Ospedale Policlinico di Bari, Italia

La Cirrosi Biliare Primitiva (CBP) può essere associata a varie malattie reumatiche; l'associazione con la Sclerosi Sistemica Progressiva (SSP) è indicata come sindrome di Reynolds.

Scopo del lavoro. Valutare la prevalenza di autoanticorpi anti-nucleo specifici nel siero di pazienti affetti da CBP, verificarne le possibili associazioni e riportare le positività riscontrate a parametri biologici e clinici.

Pazienti e Metodi. Sono stati studiati 112 pazienti affetti da CBP, 12 maschi e 100 femmine; età media 58 anni, range 28-78, consecutivamente arruolati da ottobre 2004 ad agosto 2010. La diagnosi di CBP è stata formulata sulla base della presenza di almeno due dei criteri diagnostici descritti. Come gruppo controllo sono stati considerati 100 donatori sani. Su tutti i pazienti e controlli è stata eseguita la ricerca di autoanticorpi anti-nucleo (ANA) con metodo di immunofluorescenza indiretta (IFI) su HEP-2 (Euroimmun), specificando pattern e titolo e la ricerca di autoanticorpi anti ENA (SS-A, SS-B, Sm, Sm/RNP, CENP) con metodo Immunoenzimatico (EIA) (Technogenetics).

Risultati. 48/112 (43%) pazienti affetti da CBP sono risultati positivi al test ANA-IFI. I pattern di fluorescenza sono stati i seguenti: 12 multiple nuclear dots (MND); 6 nuclear pores (NP); 3 omogeneo; 1 misto nucleolare e NP; 11 speckled; 11 centromero (ACA); 3 misto speckled e ACA; 1 misto speckled e MND. 25/112 (22%) sono risultati positivi al test anti ENA (EIA): 8 SS-A; 3 SS-B, 14 CENP. I pazienti risultati positivi al test anti SS-A e anti CENP sono stati rivalutati dal punto di vista clinico. 5 di questi pazienti sono risultati affetti da sindrome di Reynolds, gli altri sono attualmente in follow up clinico.

Conclusioni. Studi di letteratura hanno dimostrato che la presenza di autoanticorpi anti SS-A e ACA giocano un differente ruolo prognostico in pazienti affetti da CBP e la loro ricerca può risultare utile non solo nella diagnosi ma soprattutto nel follow up clinico.

SIGNIFICATO PROGNOSTICO DI ANTICORPI ANTI TOPOISOMERASI I NELLA SCLERODERMIA

D-29

M. Lotzniker, G. Re, S. Finazzi, C. Alpini¹, P. Faggioli²

Laboratorio Analisi e ²Medicina Interna A.O. Ospedale Civile di Legnano, ¹Laboratorio Analisi IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

Scopo del lavoro: In un precedente studio preliminare su pazienti sclerodermici afferenti al laboratorio era stata illustrata l'importanza del valore quantitativo di anticorpi anti topo isomerasi I (anti -Topo I) rilevato alla diagnosi. Nel presente studio ne sono stati ulteriormente valutati i rapporti con l'evoluzione clinica e il significato prognostico

Materiali e metodi: In 30 pazienti classificati mediante EUSTAR e MEDGER score anti topo I sono stati dosati con tecnica ELIA (Phadia) su Unicap 250; il tempo di follow-up è stato da 2 a 6 anni ed il numero medio di osservazioni = 9 (3-16).

Risultati: La casistica è stata divisa in terzili in base alla mediana dei valori osservati nei singoli pazienti. I rapporti con EUSTAR e MEDGER score nei 3 gruppi individuati indicano che bassi livelli dell'analita (terzile 1) caratterizzano i pazienti con ridotta attività/gravità della malattia e viceversa che elevati livelli di anti-topo I si riscontrano nei pazienti con maggior compromissione. Valutazione in corso di follow-up: in presenza di diversi tempi di follow-up (2-6 anni) ed anche per rendere più stringente l'utilizzo clinico di anti-topo I, sono state analizzate le variazioni del parametro ad 1 anno di follow-up con il seguente riscontro: se il valore quantitativo di anti-topo I diminuisce dopo 1 anno (indipendentemente dalla % di riduzione), questi pazienti hanno una malattia stabile nel follow-up successivo. Questo non si verifica nei pazienti che vanno poi incontro a progressione della malattia.

Discussione e conclusioni: Il valore quantitativo di anti-topo I alla diagnosi può essere considerato un parametro prognostico in quanto correlato ad indici clinici di attività/gravità della sclerodermia. In corso di follow-up l'osservazione a 1 anno dall'inizio del trattamento può essere di ulteriore ausilio nell'identificare subset di pazienti a minor evolutività.

VALORE PROGNOSTICO DELL'ISOTIPO IgA DEL FATTORE REUMATOIDE E DEGLI ANTICORPIANTI-PEPTIDI CITRULLINATI (ACPA) IN PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE TRATTATI CON INIBITORI DEL TNF- α

D-30

C. Alpini¹, F. Bobbio-Pallavicini², S. Bugatti², S. Avalle¹, C. Fusetti², R. Caporali², R. Moratti¹, C. Montecucco²

¹Servizio Analisi Chimico-Cliniche Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Pavia; ²Unità Operativa di Reumatologia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Pavia

Scopo del lavoro: Lo scopo del presente lavoro è valutare l'eventuale valore predittivo di risposta al trattamento con inibitori del TNF- α degli ACPA IgA in pazienti affetti da AR.

Materiali e metodi: Gli ACPA IgA sono stati determinati mediante strumentazione Immuno CAP250 metodica automatizzata fluoro-immunoenzimatica ELiA (Phadia Ph, Freiburg, Germany) nel siero di 185 pazienti affetti da AR refrattaria a trattamento con farmaci di fondo convenzionali (DMARDs) prima dell'inizio della terapia con un inibitore del TNF- α . Il FR IgA è stato misurato mediante metodica ELISA (Rheumatoid Factor RF IgA, IgG, IgM Orgentec). La risposta clinica è stata valutata utilizzando il DAS 28 secondo i criteri EULAR dopo 1 anno di trattamento.

Risultati: 100 pazienti sono risultati positivi per gli ACPA IgA (54%); 123 (66%) erano positivi per gli ACPA IgG e di questi 91 erano positivi anche per l'isotipo IgA. In 115 pazienti (62%) il FR IgA era positivo e di questi 82 (44%) erano positivi anche per gli ACPA IgA. Una risposta EULAR buona o moderata è stata raggiunta nel 70% dei casi mentre la remissione nel 25%. La percentuale di positività degli ACPA IgA nei responders e nei non responders era rispettivamente il 54% ed il 65% (p:ns) e la mediana dei livelli basali era simile nei due gruppi (2,37 U/ml vs 2,54 U/ml; p:0,69). Non si è riscontrata differenza nella percentuale dei pazienti con alti livelli di ACPA IgA nel gruppo dei non responders rispetto ai responders (39% vs 29% (p:0,2) mentre è stata confermata una maggior percentuale di pazienti con elevati livelli di FR IgA nei non responders rispetto ai responders (48% vs 24%, p=0,001). I livelli basali degli ACPA IgA sono risultati sostanzialmente sovrapponibili nei non responders e nei pazienti in remissioni (2,54 U/ml vs 2,56 U/ml; p:0,65), mentre i livelli di FR IgA sono risultati significativamente più elevati nei non responders rispetto ai pazienti in remissione (75,4U/ml vs 22,8U/ml; p:0,004) e rispetto ai responders (75,4U/ml vs 23,8 U/ml; p:0.006).

Conclusioni: Alti livelli basali del FR IgA sono associati ad una insufficiente risposta clinica agli inibitori del TNF- α mentre i livelli basali degli ACPA IgA non hanno significato predittivo di risposta al trattamento. Questo risultato supporta l'ipotesi che FR ed ACPA rappresentino due sistemi auto-anticorpali con diverse implicazioni cliniche e biologiche.

PROLUNGAMENTO DELL'INTERVALLO QTc IN PAZIENTI ADULTI CON CONNETTIVITI ANTI-RO/SSA POSITIVE: RUOLO DEI LIVELLI CIRCOLANTI E DELLE SOTTOSPECIFICITÀ ANTICORPALI

D-31

I. Fineschi¹, P.E. Lazzerini², F. Bellisai¹, P.L. Capecchi², M. Galeazzi¹, G. Morozzi¹, A. Simpatico¹, F. Laghi Pasini²

Dipartimento di Medicina Clinica e Scienze Immunologiche, Sezioni di Reumatologia¹ ed Immunologia Clinica², Università di Siena

Scopo del lavoro: Studi recenti suggeriscono che gli anti-Ro/SSA (anti-Ro), responsabili del blocco cardiaco congenito, siano aritmogeni anche per il cuore dell'adulto. In particolare, il prolungamento dell'intervallo QT corretto per la frequenza cardiaca (QTc) sembra la manifestazione più comune, riscontrabile in circa il 15-60% degli adulti con connettiviti anti-Ro positive. Dati recenti suggeriscono che il fenomeno possa essere legato ad una cross-reazione inibitoria con il canale del potassio hERG, elemento chiave nella normale ripolarizzazione ventricolare. Per tali evidenze abbiamo valutato il ruolo svolto dalle concentrazioni e dal sottotipo anticorpale (anti-Ro52 e/o anti-Ro60) nel produrre prolungamento del QTc.

Materiali e metodi: Quarantanove pazienti affetti da varie connettiviti sono stati sottoposti ad un ECG a riposo e al dosaggio di anti-Ro, totale in FEIA (ELIA-Ro-Phadia) e in ELISA le sottospecificità (Phadia).

Risultati: La durata del QTc correlava in maniera diretta con i livelli di anti-Ro totale (r=0.35; p=0.013) e di anti-Ro52 (r=0.38; p=0.007). Al contrario, non vi era alcuna associazione con quelli di anti-Ro60, nonché con alcuni parametri demografici, ecocardiografici e laboratoristici (elettroliti sierici) potenzialmente in grado di allungare il QTc. Inoltre, nei 16 paz. con QTc lungo (≥ 460 msec) le concentrazioni medie di anti-Ro totale e di anti-Ro52 (non di anti-Ro60) erano significativamente più elevate rispetto a quelli con QTc normale (p=0.027 e p=0.003, rispettivamente).

Discussione e conclusioni: I nostri dati suggeriscono che le concentrazioni circolanti di anti-Ro52 rappresentino un fattore cruciale nel determinare allungamento del QTc nei pazienti anti-Ro positivi. Questi risultati, oltre a spiegare perché solo una percentuale di pazienti anti-Ro positivi presenta un QTc prolungato, sottolineano l'importanza esclusiva della risposta autoimmune verso la subunità-52kd confermando l'ipotesi che alla base del fenomeno esistano meccanismi estremamente specifici di cross-reattività, probabilmente rivolti verso il canale del potassio hERG.

VALUTAZIONE DELLA COMPARSA DI AUTOANTICORPI IN PAZIENTI CON POLIARTRITE TRATTATI CON FARMACI ANTI-TNF α

D-32

P. Prandini, S. Cocchi¹, B. Milanese¹

U.O.S. di Reumatologia, ¹Laboratori di Patologia Clinica, A.O. Desenzano del Garda (BS)

Scopo del lavoro. I farmaci biologici, in particolare quelli diretti contro il TNF α , potente citochina pro-infiammatoria, sono impiegati nel trattamento delle poliartriti croniche ormai da dieci anni. Oltre alla loro indiscutibile efficacia clinica, è riportato in letteratura come tali farmaci possano indurre la comparsa di autoanticorpi. Abbiamo valutato la frequenza di tale evento nei pazienti trattati presso il nostro centro.

Materiali e metodi. Abbiamo studiato 32 pazienti (15 maschi e 17 femmine, età media 56 anni, range 26-82) trattati con farmaci anti TNF α . 13 pazienti erano affetti da artrite reumatoide, 14 da artrite psoriasica, 5 da spondilite anchilosante. I farmaci impiegati nella terapia erano rispettivamente: infliximab (impiegato in 10 pazienti), anticorpo monoclonale IgG1 chimerico umano-murino; etanercept (11 pazienti), anticorpo chimerico di fusione tra la frazione Fc della IgG1 e il recettore del TNF α ; adalimumab (11 pazienti), anticorpo monoclonale IgG1 umano ricombinante. La durata della terapia è stata in media di 32 mesi, range 12-89. In tutti i pazienti è stata eseguita ogni anno una determinazione degli autoanticorpi per ricercarne una eventuale positivizzazione.

Risultati. Tra i pazienti trattati con infliximab, 2 (20%) hanno avuto una positivizzazione degli autoanticorpi; in un paziente degli ANA, a pattern omogeneo, con anticorpi anti-DNA negativi; nell'altro erano anticorpi anti- β 2GPI. Tra i pazienti trattati con adalimumab, 2 sono risultati positivi (18%); uno per ANA, pattern omogeneo, con anticorpi anti-DNA negativi; uno per anti- β 2GPI. Nessun paziente trattato con etanercept ha mostrato positivizzazione per autoanticorpi. Nel complesso, tra i pazienti positivi per autoanticorpi, tre erano affetti da artrite reumatoide, uno da artrite psoriasica, nessuno da spondiloartrite. In nessuno di questi pazienti sono stati rilevati sintomi clinici o segni di malattia autoimmune correlata a tali autoanticorpi (es. sindrome lupica).

Discussione e conclusioni. Le poliartriti croniche infiammatorie, ed in particolare l'artrite reumatoide, sono condizioni in cui già è presente una produzione di autoanticorpi, come il fattore reumatoide o gli anticorpi anti-citrullina. I farmaci anti-TNF α , oltre ad avere una potente azione antiinfiammatoria, possiedono anche una azione inibitoria su alcuni meccanismi di controllo implicati nella produzione di autoanticorpi. Nel nostro studio la produzione di autoanticorpi diversi da quelli suddetti tipici delle poliartriti si riscontrava soprattutto in pazienti con artrite reumatoide. Inoltre tali autoanticorpi (ANA, però sempre con anti-DNA negativi, o anti- β 2GPI) non erano mai correlati alla comparsa di segni o sintomi di patologia autoimmune diversa da quella iniziale.

ANTICORPI ANTI-RODS & RINGS SI ASSOCIANO A TERAPIA CON α -INTERFERON IN PAZIENTI CON EPATITE DA HCV

D-33

F. Pesente¹, M. Forgiarini¹, F. Benedetto Tiz¹, F. Cucchiario¹, M. Daves², P. Agostinis³, D. Villalta⁴, N. Bizzaro¹

¹Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedali di Tolmezzo e di Gemona del Friuli (UD); ²Laboratorio di Biochimica Clinica, Ospedale Generale, Bolzano; ³Medicina Interna, Ospedale S. Antonio, Tolmezzo (UD); ⁴Allergologia e Immunologia Clinica, A.O. S. Maria degli Angeli, Pordenone.

Scopo dello studio. Il quadro fluoroscopico "Rods & Rings" (R&R) è un pattern di raro riscontro, osservabile occasionalmente durante l'esecuzione del test per anticorpi anti-nucleo (ANA) in immunofluorescenza indiretta (IFI) su cellule HEp-2 in pazienti affetti da epatite virale da virus C (HCV). Il quadro è caratterizzato dalla presenza di piccoli anelli (rings) e bastoncini (rods) fluorescenti evidenziati nel citoplasma delle cellule HEp-2. Lo scopo dello studio è stato quello di valutare la prevalenza del pattern R&R in pazienti con HCV e di verificare una sua possibile associazione con la terapia con α -interferon (IFN- α).

Metodi. I sieri di 129 pazienti con epatite cronica da HCV, anti-HCV positivi, di cui 69 femmine (età media 64.2 anni) e 60 maschi (età media 57.4 anni), sono stati studiati con metodo IFI su cellule HEp-2 (Euroimmun, Padova). 54 di questi pazienti (26 femmine e 28 maschi) erano al momento del prelievo, o erano stati in precedenza, in terapia con IFN- α . Solo uno di questi pazienti era affetto da una concomitante malattia autoimmune (cirrosi biliare primitiva).

Risultati. 26/54 (48.1%) pazienti in terapia con IFN- α sono risultati positivi per il quadro R&R. Dei rimanenti 75 pazienti non in terapia, nessuno è risultato positivo. Nessuno dei 129 pazienti ha evidenziato una positività per altri pattern ANA. La presenza di R&R in soggetti anti-HCV positivi in trattamento con IFN- α ha dimostrato perciò una sensibilità del 48.1% e una specificità del 100%.

Conclusioni. Il presente studio ha confermato il dato già noto che il pattern R&R si associa alla epatite cronica da virus C, ma per la prima volta ha evidenziato come tale quadro sia correlato al trattamento con IFN- α , essendo presente in circa la metà dei pazienti in terapia con IFN- α . Il significato di questi anticorpi è sconosciuto e per il momento appare essere solo un epifenomeno del trattamento con IFN- α . Un aspetto rilevante emerso dallo studio è che gli anticorpi anti-R&R, compaiono rapidamente dopo l'inizio della terapia e, una volta comparsi, tendono a persistere a lungo; un paio dei nostri pazienti infatti presentava la positività anticorpale a 5-10 anni di distanza dalla sospensione del trattamento con IFN- α . Resta ancora da chiarire se la positività per R&R sia correlata ad uno specifico ceppo virale oppure individui un sottogruppo di pazienti diverso in termini di risposta al trattamento rispetto a quelli R&R negativi.

ECP E TRIPTASI FECALE NELLA DIAGNOSI DI SENSIBILIZZAZIONE AD ALIMENTI IN PAZIENTI AFFETTI DA COLON IRRITABILE

D-34

I. Brusca¹, A. Carroccio², P. Mansueto², M. Barrale¹, M. Soresi², G. Pirrone², L. Di Prima², G. Ambrosiano², G. Iacono³, M.L. Lospalluti³, S.M. La Chiusa¹, G. Di Fede²

¹U.O. di Patologia Clinica, Ospedale Buccheri La Ferla, Palermo, ²Università degli studi di Palermo, ³Ospedale pediatrico G. Di Cristina Palermo

Introduzione: La diagnosi clinica di colon irritabile, (IBS), comprende diverse forme patologiche. In alcuni pazienti è evidenziabile una relazione tra sintomatologia e alimentazione. La sensibilizzazione ad antigeni alimentari, (FH), è diagnosticabile tramite challenge in doppio cieco con placebo, (DBPC), e dieta di eliminazione.

Scopo del lavoro: valutare sensibilità, specificità ed accuratezza diagnostica dei dosaggi fecali di Proteina Cationica degli eosinofili (ECP) e Triptasi nella diagnosi dei pazienti con IBS e FH.

Materiali e metodi: 160 pazienti consecutivi, (127 F, 33 M, range 18-60a, mediana 31), con diagnosi di IBS (gruppo A), definiti secondo i criteri di Roma II, Sono stati sottoposti ad esami di routine, H2-breath test, sierologia per celiachia, IgE totali e specifiche. Sono stati effettuati i dosaggi fecali di triptasi (Immunocap system, Phadia), ed ECP (Immulate 2000, Siemens). I pazienti quindi sono stati sottoposti a DBPC ed a dieta di eliminazione per la diagnosi. Durante lo studio la valutazione sintomatologica è stata effettuata tramite score. I dosaggi sono stati inoltre effettuati su due gruppi di controllo omogenei per età e sesso al gruppo A formato da 50 donatori sani, (gruppo B) e 40 pazienti affetti da patologie gastrointestinali (celiachia n=16, morbo di Crohn in fase attiva n=18, parassitosi intestinale n=6).

Risultati: 40 dei 160 pazienti con IBS (25%) erano affetti da FH (gruppo A-FH), 120 erano negativi a DBPC e dieta, (gruppo A-NFH). I livelli di triptasi erano significativamente più alti nel gruppo A-FH rispetto ai pazienti del gruppo A-NFH, ($P < 0.001$), e al gruppo B, ($P < 0.001$); non vi erano al contrario differenze significative rispetto al gruppo C. I livelli di ECP erano significativamente più alti nel gruppo A-FH rispetto al gruppo A-NFH, ($P < 0.0001$) e al gruppo B, ($P < 0.0001$), questi ultimi due gruppi presentavano valori simili; Il gruppo C, al contrario, mostrava livelli di ECP superiori al gruppo A-FH, ($P < 0.0001$). L'ECP fecale è risultato essere, nella diagnosi di FH, il test più accurato con sensibilità 65% e specificità 91%.

Conclusioni: Il fatto che, dai dati raccolti, i livelli di triptasi decrescano in maniera significativa dal gruppo A-FH al gruppo A-NFH ed ai controlli sani, conferma le recenti osservazioni della letteratura scientifica, in cui è stato enfatizzato il ruolo dei mastociti nel determinare le alterazioni della motilità intestinale tipico della IBS. Per quanto riguarda l'ECP fecale risulta aumentato solamente nei pazienti con FH e nei controlli patologici, suggerendo un suo possibile utilizzo nell'individuare, tra i pazienti affetti da IBS, quelli che presentano FH.

SENSIBILIZZAZIONE ALLERGICA A PROTESI AL SILICONE: APPROCCIO DIAGNOSTICO "IN VITRO"

D-35

I. Brusca¹, D. Di Trapani², M. Barrale¹, V. Cantisano¹, S.M. La Chiusa¹

¹U.O. di Patologia Clinica,, ²UO. Urologia. Ospedale Buccheri La Ferla, Palermo

Scopo del lavoro. La sensibilizzazione allergica a protesi al silicone è un evento scarsamente frequente, di cui esistono poche segnalazioni nella letteratura scientifica e che pone notevoli problematiche diagnostiche. In questo caso clinico, un paziente di anni 48 giunge alla nostra attenzione affetto da sindrome orticaria-angioedema, con il fondato sospetto di allergia al silicone. Si è voluto verificare il possibile utilizzo della allergologia cellulare, non essendo disponibili altre metodiche per la diagnosi specifica. Anamnesi. Le manifestazioni cliniche, imponenti e modestamente responsive alla terapia, erano iniziate da circa 4 mesi con un notevole edema dello scroto, e poi, successivamente, con orticaria interessante dapprima il tronco e poi successivamente gli arti ed il volto.

Materiali e metodi. Il paziente è stato studiato dal punto di vista delle sensibilizzazioni alimentari e professionali (falegnami), tramite dosaggio di IgE specifiche (Immunocap Phadia), con esito negativo. Negativi sono risultati, inoltre, gli esami parassitologici ripetuti più volte, i test autoimmunitari, ANA, ENA, ANCA, ATPO, anti-transglutaminasi (INOVA), e bioumorali, tranne una discreta ipereosinofilia. Nessuna indicazione è quindi prevenuta dalla diagnostica per immagini a cui il paziente è stato sottoposto. Il fatto che la sintomatologia fosse esordita dallo scroto e che il paziente fosse portatore di una protesi testicolare al silicone, ha quindi portato al sospetto che fosse proprio la protesi alla base della sintomatologia, per cui questa è stata asportata. Le manifestazioni cliniche si sono attenuate dopo un giorno dall'intervento e dopo tre giorni il paziente ha iniziato a diminuire i dosaggi della terapia antiallergica che poi ha sospeso dopo due settimane. Un mese dopo l'intervento è stato effettuato il test di degranulazione dei basofili (Flow-CAST, Bühlmann) incubando le cellule del paziente con un frammento (1 mm) di protesi siliconica uguale a quella precedentemente impiantata. Lo stesso test è stato effettuato su cellule di un donatore sano.

Risultati. L'incubazione con silicone ha determinato un incremento dei basofili esprimenti il CD63 pari a 7,3 volte il livello basale del paziente, mentre non ha determinato alcuna attivazione nel controllo sano. Quattro mesi dopo l'intervento il paziente continua a non avere più alcuna manifestazione clinica e si è normalizzato il numero di eosinofili, confermando così il sospetto anamnestico e il risultato del Flow-CAST.

Conclusioni. Il caso clinico dimostra la notevole duttilità dei tests di allergologia cellulare e la loro utilità nel completare il corredo diagnostico allergologico "in vitro".

REAZIONI ALLERGICHE ALLA SOIA IN SOGGETTI POLLINOSICI CON ALTI LIVELLI DI GLYM4

D-36

D. Mariotti¹, C. Greco², E. Migali¹

¹U.O. Laboratorio analisi Ospedale San Donato, Arezzo; ²U.O. Dermatologia Ospedale San Donato, Arezzo

Scopo del lavoro: Riportiamo quattro casi di pazienti adulti con anamnesi positiva per allergia ai pollini e che avevano presentato una grave reazione allergica dopo l'ingestione di alimenti contenenti soia. Poiché la causa di queste reazioni sembra essere una cross-reazione tra l'allergene ricombinante della soia Glym4 ed il Betv1, entrambi appartenenti alla famiglia delle PR-10, scopo del nostro studio è di confermare tale correlazione in pazienti con sensibilizzazione primaria verso i pollini.

Materiali e metodi: Per il dosaggio delle IgE specifiche degli estratti allergenici alla soia ed ai pollini così come degli allergeni ricombinanti è stato utilizzato lo strumento Immunocap 250 della Phadia.

Risultati: I livelli delle IgE specifiche per l'estratto allergenico della soia erano nella norma in due pazienti (<0,1kua/l) e lievemente aumentati negli altri due ma avevano tutti alti livelli di IgE specifiche per Glym4, Cora1 e Betv1.

Conclusioni: Le reazioni allergiche gravi dopo l'ingestione di alimenti contenenti soia erano probabilmente causati da alti livelli di Glym4 in assenza o bassa positività per l'estratto allergenico specifico (semi di soia). Ciò dimostra l'utilità del dosaggio dell'allergene ricombinante Glym4 nella pratica clinica.

ALLERGIE ALIMENTARI: RUOLO DELLE LIPID TRANSFER PROTEIN NELLE REAZIONI ALLE ROSACEE

D-37

D. Mariotti¹, C. Greco², E. Migali¹

¹U.O. Laboratorio analisi Ospedale San Donato, Arezzo; ²U.O. Dermatologia Ospedale San Donato, Arezzo

Scopo: E' noto come l'ingestione di frutta appartenente alla famiglia delle rosacee ed in particolare la pesca, può causare gravi reazioni allergiche in individui sensibilizzati. Per questo sono stati selezionati otto pazienti afferenti all'ambulatorio di dermatologia in seguito a una reazione allergica dopo ingestione di pesca per valutare se le IgE specifiche verso gli allergeni ricombinanti PruP1 e PruP3 possano rappresentare un marker di rischio di reazioni allergiche.

Materiali e metodi: Per il dosaggio delle IgE specifiche degli estratti allergenici delle rosacee e degli allergeni ricombinanti PruP1 e PruP3 è stato utilizzato lo strumento Immunocap 250 della Phadia.

Risultati: Tutti i pazienti presentavano alti livelli di IgE specifiche per l'estratto allergenico della pesca, mentre il dosaggio del PruP3 è risultato elevato in tre casi. In un caso il PruP3 è risultato lievemente aumentato; in due casi negativo ma positivo il PruP1. Si segnalano due casi di shock anafilattico con PruP3 e PruP1 negativi.

Discussione: Da questa valutazione preliminare confermiamo, in quattro pazienti, la correlazione tra la positività dell'LTP PruP3 con la gravità dei sintomi così come la negatività dell'LTP PruP3 in presenza di una positività per la profilina PruP1 si associa, in due pazienti, ad una sintomatologia non grave come la Sindrome Allergica Orale (OAS). La negatività dell'LTP PruP3, in due casi che presentano shock anafilattico, potrebbe suggerire la presenza di altre componenti allergiche, non ancora identificate, responsabili di tali gravi reazioni. Per questo è quindi auspicabile disporre di una casistica maggiore e di ulteriori mezzi diagnostici per una valutazione più completa.

IL CONTRIBUTO DELLA DIAGNOSTICA MOLECOLARE NELL'ALLERGIA ALLE CUPRESSACEE

D-38

V. Sargentini, R. Impera

Dipartimento di Patologia Clinica Servizio di Allergologia di laboratorio P.T.P. Nuovo Regina Margherita ASL RM/A Roma

Scopo del lavoro: l'uso degli allergeni molecolari al posto degli estratti allergenici consente di ottenere notevoli miglioramenti nel campo della diagnostica allergologica di laboratorio. Attraverso l'impiego delle molecole è possibile ottenere un migliore inquadramento diagnostico, valutare correttamente uno stato di polisensibilizzazione e formulare un giudizio prognostico. Tra le allergie respiratorie, negli ultimi anni e in particolare nei centri urbani, è notevolmente aumentata la prevalenza della sensibilizzazione al polline delle Cupressacee, che determina nei periodi invernali, forme cliniche caratterizzate da asma, febbre da fieno e congiuntivite allergica. Lo scopo del lavoro è stato quello di individuare, in un gruppo clinicamente selezionato, la presenza di una sensibilizzazione primaria al polline di queste piante, in modo da fornire elementi utili all'eventuale percorso terapeutico.

Materiali e metodi: sono stati esaminati 16 soggetti di entrambi i sessi di età compresa tra 23 e 67 anni, inviati dallo specialista con diagnosi di allergia al cipresso basata sui dati clinici, anamnestici e sulla positività al test cutaneo. È stato eseguito il dosaggio quantitativo delle IgE specifiche vs. gli estratti allergenici t23, t22, t6 e vs. gli allergeni molecolari t226, t216 e t220, utilizzando il metodo Immunocap Phadia.

Risultati: in tutti i soggetti esaminati è stata riscontrata la presenza di IgE specifiche vs. la molecola Cup a1 con contemporanea assenza di IgE vs. Bet v2 e Bet v4. Relativamente all'utilizzo degli estratti 7 pazienti su 16 sono risultati negativi per il t23 e di questi 3 hanno evidenziato una bassa concentrazione di IgE specifiche vs. il t222 e il t6.

Discussione e conclusioni: l'utilizzo degli allergeni molecolari nel campione esaminato ci ha permesso di confermare in tutti i casi la diagnosi di allergia al cipresso. La positività vs. il Cup a1, allergene maggiore del polline delle Cupressacee, associata alla negatività vs. il Bet v2 (profilina) e vs. il Bet v4 (proteina Ca legante) indica in tutti i soggetti una sensibilizzazione primaria e quindi l'idoneità all'I.T.S. vs. il cipresso. La diagnostica estrattiva basata sull'uso del solo t23 (*C. sempervirens*) non avrebbe permesso una corretta interpretazione nella metà dei casi. Migliore correlazione è stata ottenuta con il t222 (*C. arizonica*) e con il t6 (*Ginepro sabina*) per cui in caso di assenza di notizie cliniche è preferibile non utilizzare solo il t23 nel pannello degli inalanti. In pazienti selezionati, con evidente sospetto clinico di allergia al cipresso, si può ipotizzare il ricorso diretto alla diagnostica molecolare.

IL LABORATORIO CLINICO COME OSSERVATORIO DELL'ANAFILASSI ATTRAVERSO LA DETERMINAZIONE DELLA TRIPTASI SERICA

D-39

B. Caruso, C. Cocco, N. Melloni, D. Nicolis, A. Ferrari, M. Zannoni¹, G. Ricci¹, F. Praticò¹, P. Bonadonna², R. Zanotti³, M.S. Graziani

Lab. Analisi Chim. Clin. ed Emat., OCM; ¹Pronto Soccorso, OCM, ²UO Allergologia, OCM; ³UO Ematologia, OP - AOUI Verona

Scopo del lavoro: La triptasi serica è un enzima rilasciato dall'attivazione dei mastociti. Con questo lavoro vogliamo verificare se il Laboratorio può essere di ausilio al clinico nella gestione e prevenzione delle anafilassi.

Materiali e Metodi: Dal 2007 è stato concordato un percorso per la gestione dei soggetti che presentavano anafilassi con la richiesta di triptasi serica entro 120' dalla comparsa dei sintomi. La determinazione è stata eseguita entro 48 ore dal prelievo (Phadia, ImmunoCap 250). Il nostro cut-off per la triptasi è a 11.4 ng/mL e, per valori superiori, il paziente è stato indirizzato a visita allergologica.

Risultati: Tra il 2007 e il 2009 sono pervenute 95 richieste di triptasi dal Pronto Soccorso e 1048 da altri reparti (UO Allergologia, Dermatologia e Rianimazione). 30 soggetti si sono dimostrati affetti da mastocitosi, confermata dalla biopsia midollare. I risultati sono riassunti in tabella.

Conclusioni: Il percorso istituito è in grado di stabilire la causa scatenante dell'anafilassi e identificare i soggetti affetti da mastocitosi, particolarmente a rischio in caso di puntura da imenotteri.

Periodo 2007-2009	TOT Triptasi	Triptasi >11.4 ng/mL		Triptasi >11.4 ng/mL CAUSA SCATENANTE O LESIONE CUTANEA						
		n	%	ALIMENTI	FARMACI	IMENOTTERI	LATTICE	mezzo RX	ND	orticaria pigmentosa
PS	95	28	29,5	11	6	5	1	0	5	0
Altri Reparti MASTOCITOSI	1048	30	4,0	2	3	10	0	0	0	15
Altri Reparti no MASTOCITOSI		11		1	7	1	1	1	0	0
TOTALE	1143			14	16	16	2	1	5	15

DAILY MONITORING OF BIOMARKERS OF SEPSIS IN COMPLICATED LONG-TERM ICU-PATIENTS: CAN IT SUPPORT TREATMENT DECISIONS?

D-40

G.V. Melzi d'Eril¹, G. Iapichino², S. Marzorati², M. Umbrello², R. Baccalini², M. Cainarca¹, R. Pacciolla¹, F. Colombo Pavini², E. Mantovani², A. Mauri¹, B. Moroni², A. Noto², M. Langer², A. Barassi¹

¹Department of Medicine, Surgery and Dentistry, San Paolo University Hospital, University of Milan; ²Unit of Anesthesia and Resuscitation, Department of Anesthesiology, Intensive Care and Dermatological Sciences, San Paolo University Hospital, University of Milan, Milan

Aim of the study. Diagnosis/grading of infection and the systemic response to infection may be difficult on admission to the ICU, but it is even more complicated for severely ill patients with long ICU stays. The ACCP-SCCM criteria are difficult to apply for such patients, and objective, validated biomarkers would be of great use in this setting.

Methods. Long-term (>6 days) critically ill patients in the general ICU of University Hospital were prospectively enrolled in the study. All patients were assessed daily by the attending physician using the ACCP-SCCM classification. C-reactive protein (CRP, mg/dL), procalcitonin (PCT, ng/mL), and interleukin-6 (IL-6, pg/mL) of daily stored sera were measured after each patient's discharge. After discharge, an independent, overall clinical evaluation and an a posteriori ACCP-SCCM classification were chosen as the reference standard for all comparisons. The assessor was aware of the patient's clinical course but was blinded to levels of biomarkers.

Results. We studied clinical variables and biomarkers of 26 patients over a total of 592 patient days. The day-by-day ACCP-SCCM classification of the attending physician overestimated the severity of the inflammatory response to infection. The diagnostic discriminative ability of severe-sepsis/septic-shock for PCT was high (ROC area 0.952 [0.931-0.973]) and had a best threshold value of 1.58 (83.7% sensitivity, 94.6 % specificity). IL-6 had better discriminative ability than CRP, but both were worse than PCT.

Conclusions: PCT > 0.43 ng/mL could add to the clinical propensity for sepsis vs. SIRS not related to infection. Values higher than 1.58 ng/mL may support the bedside clinical diagnosis of severe-sepsis. PCT between 0.5 and 1.0 suggest tight daily monitoring of clinical conditions and re-evaluation of PCT.

MATRIX METALLOPROTEINASE-1 LEVELS IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS IN DIFFERENT STAGES OF THE DISEASE

D-41

L. Guerra¹, F. Mendes¹, A. Cardoso¹, M.J. Gonçalves¹, C. Duarte², J.A. Silva², J. P. Figueiredo³, N. Osório¹, A. Valado¹, A. Paiva¹, A. Gabriel¹, A. Caseiro¹

¹Clinical Analysis and Public Health Department, Coimbra College of Health Technology, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ²Rheumatology Service, Coimbra's University Hospitals, Coimbra, Portugal; ³Complementary Sciences Department – Epidemiology and Statistical Scientific Areas Coimbra College of Health Technology, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal

Introduction: Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease whose main feature is a chronic inflammation of the joints and that if not treated early, can lead to joint destruction and permanent disability. The inflammatory process is characterized by infiltration of inflammatory cells in tissues, accompanied by proliferation of synoviocytes and destruction of cartilage and bone. The metalloproteinases (MMPs) are proteolytic enzymes produced by fibroblasts, chondrocytes and endothelial cells by the action of cytokines such as interleukin 1 (IL-1) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). The MMP-1, also known as interstitial collagenase, cleaves the collagens type I, II, III and VII, and one of the few MMPs that can cleave the triple helix of collagen fibrils. The MMP-1(stromelysin-1) levels were increased in serum or synovial fluid from patients who have rheumatoid arthritis, and furthermore the levels of MMP-1 in serum have been correlated with tissue destruction in arthritis.

Objective: To analyze the levels of MMP-1 in serum of patients with RA at different stages of the disease in order to relate them to the severity of the disease.

Methods: The study population included 10 control subjects, 10 subjects who show high disease activity and 10 patients with low disease activity. The levels of MMP-1 were quantified using the slot blotting technique.

Results: The levels of MMP-1 were significantly higher in serum of patients with RA in a stage of high disease activity than in controls ($p < 0.05$).

Conclusion: Serum MMP-1 levels were correlated with the activity of the disease, confirming that MMP-1 can be a useful biomarker to monitor disease evolution.

IL DOSAGGIO DELLA PROCALCITONINA NELLA DIAGNOSI DI SEPSI

D-42

D. Poz, G. Mosangini, M. Perlin, P. Doretto, D. Rubin, P. Cappelletti

Patologia Clinica, DML, AOSMA Pordenone

Scopo del lavoro. La letteratura scientifica suggerisce da almeno 15 anni l'uso della procalcitonina (PCT) nella diagnosi e monitoraggio della sepsi. Negli ultimi 5 anni sono comparse diverse meta-analisi e trials clinici che hanno fornito dati inequivocabili sul ruolo di PCT nel monitoraggio della storia della malattia e nel monitoraggio della terapia antibiotica. Al contrario le meta-analisi non hanno fornito dati certi rispetto al ruolo di PCT nella diagnosi di sepsi, sepsi severa e shock settico. Nella previsione di introduzione di PCT tra gli esami disponibili per il Dipartimento di Emergenza, è stata iniziata una valutazione locale multidisciplinare di cui si riportano i dati preliminari.

Materiali e metodi. Sono stati valutati 92 pazienti (3-99 anni; 37 donne, 55 maschi) afferenti prevalentemente all'area di emergenza (43%) o alla terapia intensiva (52%) con sospetto clinico di sepsi. PCT è stata misurata con dosaggio immunologico a sandwich (metodo TRACE Kriptor Brahms). E' stato considerato come cut-off il valore analitico di 0,25 ng/mL di PCT per la diagnosi di esclusione di sepsi. Contestualmente sono state valutate la proteina C reattiva (CRP) (ADVIA 1650 Bayer) e la conta leucocitaria (WBC) e sono stati inviati i prelievi idonei per la coltura microbiologica.

Risultati. Per 29 pazienti è stata fatta diagnosi clinica di sepsi. 26 pazienti (89%) presentavano valori di PCT $\geq 0,25$ ng/mL ($33,46 \pm 60,79$ mediana 16,54). 3 pazienti (11%) presentavano valori di PCT $< 0,25$ ng/mL (0,06; 0,06; 0,22). 4 pazienti con diagnosi di sepsi e colturali microbiologici negativi presentavano valori di PCT $\geq 0,25$ ng/mL (2,1-23,8), di cui 1 con CRP 0,2 mg/dL e WBC $6,56 \times 10^3/\mu\text{L}$. 1 solo paziente con diagnosi di sepsi e colturali microbiologici negativi presentava valori di PCT $< 0,25$ ng/mL (CRP 13,66 mg/dL, WBC $11,36 \times 10^3/\mu\text{L}$). Dei 63 pazienti per cui non è stata confermato il sospetto diagnostico di sepsi, 35 (55%) presentavano valori di PCT $< 0,25$ ng/mL mentre solamente 4 (6%) presentava una CRP negativa. Nel gruppo di pazienti con PCT negativa, il 60% (21 pazienti) presentava valori di CRP $> 0,5$ mg/dL. Non sono state evidenziate correlazioni tra i valori di PCT e i valori di CRP o la conta leucocitaria.

Discussione e conclusioni. Per i pazienti con diagnosi clinica di sepsi, PCT ha una performance diagnostica superiore alla coltura microbiologica ($< 10\%$ negatività). D'altra parte nella fase del rule in/rule out PCT non ha una sufficiente performance per l'esclusione (45% di falsi positivi). PCT però appare essere un indicatore migliore della CRP nel rule out dei pazienti con sospetto clinico di sepsi.

CONFRONTO TRA I VALORI DI GLICEMIA OTTENUTI CON GLUCOMETRI E EMOGASANALIZZATORE DEL REPARTO DI RIANIMAZIONE E ANALIZZATORE DI CHIMICA CLINICA DEL LABORATORIO

D-43

M. Daves, G. Cosio, C. Berenzi, D. Tumiatto, N. Lovat, P. Dal Checco, F. Picchetti, D. Franchi¹, F. Rizza

Laboratorio di Biochimica Clinica, ¹Rianimazione, Ospedale di Bolzano

Scopo del lavoro: i dispositivi POCT sono una realtà consolidata negli ospedali. Tra questi, gli emogasanalizzatori e i glucometri portatili consentono, se utilizzati correttamente, di ridurre il TAT. Il monitoraggio glicemico è utilizzato per valutare l'efficacia della terapia farmacologica. Abbiamo voluto verificare il grado di concordanza tra le glicemie ottenute con emogasanalizzatore e glucometri presenti in Rianimazione e quelle misurate in Laboratorio.

Materiali e metodi: sono state effettuate su 58 pazienti ricoverati in Rianimazione contemporaneamente le misure della glicemia su sangue arterioso sull'emogasanalizzatore (ABL-700 Radiometer), su plasma venoso su analizzatore di chimica clinica del Laboratorio (Syncron LXi, Beckman Coulter) e su campione capillare con glucometro Breeze2 (Siemens).

Risultati: valori ottenuti con glucometro: valore più basso 51 mg/dl, valore più alto 186 con media $\pm$ ds di $118,6 \pm 28,26$. Valori ottenuti con emogasanalizzatore: valore più basso 82mg/dl, valore più alto 219 con media $\pm$ ds di $144,52 \pm 28,24$. Valori ottenuti dal Laboratorio: valore più basso 48 mg/dl, valore più alto 191 con media $\pm$ ds di $124,98 \pm 26,12$. Abbiamo utilizzato il test di D'agotino-Pearson per valutare la normalità dei valori (normalità accettata). Il confronto tra i dati effettuato mediante t-test riporta una differenza statisticamente significativa ($p < 0,001$). La regressione di Passing and Bablok risulta: Emogas= $8 + 1,1$ Laboratorio. Con il plot di Bland-Altman si evidenzia una differenza percentuale media di 14,9 ($+1,96\text{DS}=29,4$; $-1,96\text{DS}=0,4$). Anche il confronto tra i dati ottenuti con glucometri e strumento di laboratorio riporta una differenza statisticamente significativa ($p < 0,001$). La regressione di Passing and Bablok risulta: glucometro= $-26,07 + 1,15$ Laboratorio. Con il plot di Bland-Altman si nota una differenza percentuale media di $-5,8$ con differenze di concentrazione misurate ampiamente disperse ($+1,96\text{DS}=25,3$; $-1,96\text{DS}=-36,9$). I valori delle differenze sono stati confrontati con le specifiche di qualità per il bias desiderabile, che per il glucosio risulta del 2,2% (Ricos et al. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500). Risulta evidente che i dati confrontati tra i vari gruppi non soddisfano le specifiche di qualità.

Discussione e Conclusioni: Le differenze osservate, anche considerando le differenti matrici utilizzate, non sono soddisfacenti. L'utilizzo di POCT richiede una formazione continua del personale con la supervisione da parte del Laboratorio, la tracciabilità del dato e un collegamento informatico tra Laboratorio e reparti di degenza per garantire la migliore gestione del paziente.

VALUTAZIONE COMPARATIVA DI 11 KIT PER LA DIAGNOSI RAPIDA DI INTOSSICAZIONE DA STUPEFACENTI SU URINA VS METODO IMMUNOMETRICO DI RIFERIMENTO E TEST DI CONFERMA IN GAS CROMATOGRAFIA/SPETTROMETRIA DI MASSA

D-44

A. Colatutto, R. De Martini, G. Barbina, U. Qualizza, S. Mazzolini, R. Zaglia, N. Pradal, L. Isola, A. Lerussi, B. Marcon, P. Sala

DPT di Medicina di Laboratorio, AOU S. Maria della Misericordia, Udine

Scopo dello studio: La ricerca delle sostanze d'abuso su urina in urgenza richiede sufficienti sensibilità e specificità dei test rapidi al fine di indirizzare il clinico verso il necessario approfondimento: sono stati valutati kit per lo screening vs il metodo immunometrico in uso ed il metodo gas cromatografico con rilevazione in spettrometria di massa (GC/MS/MS).

Materiali e Metodi: sono stati analizzati su 11 diversi kit (Dip Test e Test a Semina) 8 campioni di urina con varie positività e specificità precedentemente testati con metodo DRI su strumento ILab-650, (Instrumentation Laboratory) e in GC/MS/MS su strumentazione Varian-4000.

Risultati:

Kit	Camp. Neg	OPPIACEI >29000	OPPIACEI 553	THC 96	COCA 1723 BZD pos	BZD 332	MET 1350 BZD 850	BUFR 45 BZD e MTD presenti, deboli	PUNTEGGIO	Sensibilità	Specificità
1	1	2	2	1	2	2	2	-1	11	1	0.33
2	1	3	3	3	2	3	3	2	20	1	1
3	-1	-1	1	1	2	2	-1	-1	2	1	0
4	1	-1	0	1	-1	0	0	-1	-1	1	0.20
5	-1	0	0	-1	-1	0	-1	0	-4	1	0
6	1	2	-2	2	2	2	2	2	11	0.86	1
7	1	2	0	2	2	2	2	2	13	0.86	1
8	1	1	0	-2	1	1	1	1	4	0.71	1
9	1	2	0	2	2	2	2	2	13	0.86	1
10	1	2	1	2	2	2	2	-1	11	1	0.50
11	-1	1	-2	-1	-2	1	1	-1	-4	0.6	0

Punteggi: Vero Negativo = +1; Vero Positivo Debole = +1; Vero Positivo Forte +2; Falso Negativo = -2; Falso Positivo -1. Bande sbiadite o confuse = 0

Discussione e Conclusioni: si evince una netta superiorità dei kit n° 2, 7 e 9 in termini di specificità e sensibilità. La valutazione della performance dei test di screening dovrebbe essere periodicamente tenuta sotto controllo con metodo immunometrico e gas cromatografico da parte di tutti i laboratori che si occupano di Tossicologia.

CONFRONTO TRA METODI PER IL DOSAGGIO DELLA PROCALCITONINA NELLA PRATICA CLINICA DELLE UNITA' DI TERAPIA INTENSIVA E RIANIMAZIONE

D-45

C. Arfini¹, T. Callegari¹, V. Copponi¹, P. Camurati¹, V. Perticone¹, E. Paradiso¹, M. Vidali², C. Vendramin¹

¹SCO Laboratorio Analisi, Dipartimento di Patologia Clinica, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria; ²SCDU Laboratorio Ricerche Chimico Cliniche, AOU Maggiore della Carità, Novara

Scopo del lavoro: La procalcitonina (PCT), unitamente alla valutazione clinica del paziente, si è dimostrata un marcatore biologico con elevato grado di accuratezza diagnostica nella diagnosi precoce di infezioni batteriche delle basse vie respiratorie e di sepsi. Utilizzando un cut-off di PCT di 0.25 ng/mL è possibile differenziare i pazienti con sospetto di infezione batterica e sepsi dai pazienti privi di risposta infiammatoria. Scopo del nostro studio è stato quello di confrontare il metodo VIDAS BRAHMS PCT, attualmente in uso presso la nostra Struttura, con il metodo ADVIA CENTAUR BRAHMS PCT.

Materiali e Metodi: Per questo studio sono stati inclusi 64 pazienti consecutivi (41 uomini / 23 donne; età: mediana 54, IQR 40-73) afferenti alle Unità di Terapia Intensiva e Rianimazione della Azienda Ospedaliera SS Antonio e Biagio e C. Arrigo di Alessandria con richiesta di PCT. Il dosaggio di PCT è stato effettuato con il metodo VIDAS e con il metodo ADVIA CENTAUR.

Risultati: I valori di PCT nel campione considerato erano compresi tra <0.01 e 49.47 ng/mL. I valori mediani (IQR, min-max) di PCT per il test VIDAS e CENTAUR erano rispettivamente 0.86 ng/mL (0.15-4.05, 0.05-49.47) e 0.51 ng/mL (0.23-2.40, 0.01-34.82). La differenza media tra i due metodi (VIDAS-CENTAUR) era 1.3 ng/mL (95% delle differenze comprese tra -4.5 e 7.1 ng/mL). Considerando solo i valori di PCT compresi tra 0.05 e 4 ng/mL, il bias medio era invece di 0.25 ng/mL (95% delle differenze comprese tra -0.55 e 1.05 ng/mL). Tuttavia, era evidenziabile sia un aumento della variabilità delle differenze lungo l'intervallo di concentrazione sia una dipendenza delle stesse dalla media dei valori. L'analisi di regressione nonparametrica di Passing e Bablok ha evidenziato un'intercetta di 0.02 (95%IC da -0.002 a 0.04) e un coefficiente angolare significativo di 0.696 (95%IC da 0.666 a 0.726). Per cut-off (VIDAS) di 0.1, 0.25, 0.5 e 2 ng/mL la concordanza (indice K di Cohen) tra i due test era rispettivamente 84.1%, 92%, 75% e 78.4%.

Discussione e Conclusioni: Nonostante la discrepanza dei valori sia risultata rilevante, con aumento della stessa lungo l'intervallo di concentrazione, al cut-off di 0.25 ng/mL i due metodi presentano una buona concordanza (coppie concordanti 62/64 (97%), K di Cohen=0.92).

STIMA DELLA CONCORDANZA DEI RISULTATI OTTENUTI CON KIT DIVERSI PER IL DOSAGGIO DEGLI ANTI-NUCLEO

D-46

M.R. Bacarelli¹, A. Simpatico¹, I. Martelli¹, M. Meloni², M. Tognini³, G. Morozzi¹

¹UOC Reumatologia, Siena; ²DIESSE ricerche Srl; ³DIESSE Diagnostica Senese

Scopo del lavoro: Stimare la concordanza dei risultati ottenuti utilizzando kit diversi per lo screening degli anti-nucleo e valutare i cut-off proposti dai fornitori.

Materiali e Metodi: Su 86 sieri pervenuti al laboratorio per ANA e/o anti-ENA è stato effettuato l'ANA test in IFA (HEp-2 INOVA), l'Elia Symphony (Phadia), i test ENA-6S, ANA-8S, ANA-HEp-2 (AESKU), ENA-6screen, ANA-screen (DIAMEDIX), il Seraquest screen, Chorus ENA-6S, ANA-8S e ANA-screen (DIESSE). Ogni campione è stato classificato come P o N in base al cut-off indicato nei kit. Per Phadia è stata considerata anche la ratio di 1, 8 in uso nel laboratorio. Oltre ai coefficienti Kappa, è stata effettuata la ROC analisi per calcolare i cut off dei kit rispetto alle due ratio 0, 7 e 1, 8 di Phadia e sono stati confrontati con quelli indicati dai fornitori. La comparazione delle curve ROC è stata effettuata riferendosi anche alla classificazione in IFA.

Risultati: I kit mostrano buona concordanza purchè i cut-off vengano opportunamente impostati (a); diversa è la correlazione con la IFA che varia da scarsa per ANA screen AESKU a moderata per Chorus ANA screen (b).

Conclusioni: Nonostante le buone performance dei kit EIA l'IFA rimane ad oggi il gold standard per l'ANA screening.

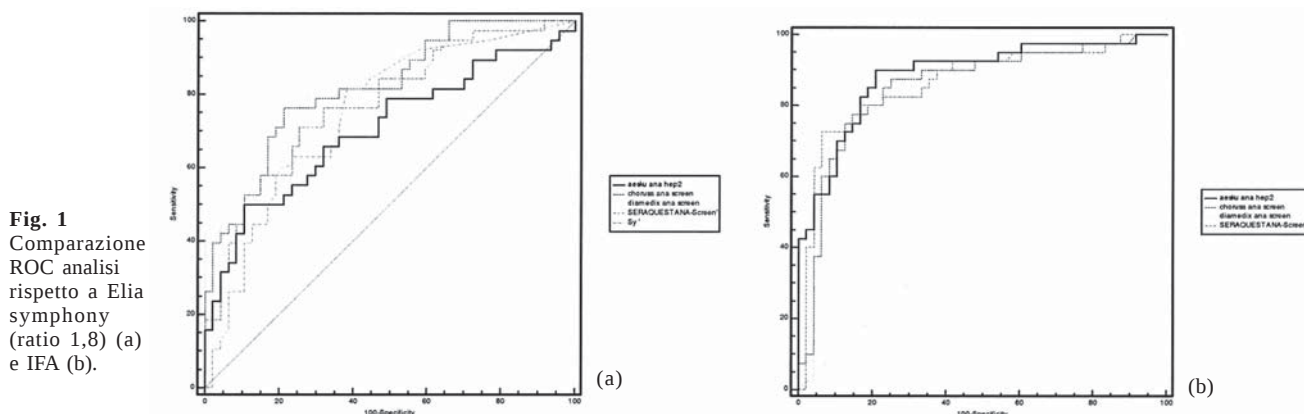


Fig. 1
Comparazione
ROC analisi
rispetto a Elia
symphony
(ratio 1,8) (a)
e IFA (b).

GLUCOMETRI ACCU-CHEK® SENSOR (ROCHE) E OPTIUM XCEED (ABBOTT): VERIFICA DELL'ALLINEAMENTO RISPETTO AD ADVIA® 1850 (SIEMENS) SECONDO I CRITERI PREVISTI DALLE LINEE GUIDA

D-47

M.R. Gorza, M. Fontanari, S. Deimichei, C. Pellegrini, E. Toffalori, P. Caciagli

Dipartimento Strutturale di Medicina di Laboratorio. Laboratorio di Patologia Clinica - Trento

Scopo dello studio: I metodi in POCT (sistema ACCU-CHEK®) sono utilizzati presso la sala prelievi per valutare la glicemia a digiuno. Il sistema non tiene conto della matrice nell'espressione del risultato. Una stima dell'affidabilità e delle performance del sistema POCT-glucosio rispetto al metodo in uso è utile al medico dell'ambulatorio prelievi al fine di procedere, quando necessario in modo repentino, alla somministrazione del glucosio per la OGTT.

Materiali e Metodi: Le glicemie sono state testate presso il punto prelievi su Accu-Chek® e su Optium Xceed (metodo biamperometria) su sangue venoso dei pazienti. Il relativo plasma è stato testato su Advia® 1850 (metodo esochinasi), entro tre ore e quindici minuti circa dal primo prelievo. Accu-Chek® dati 491, Optium Xceed dati 118. Nessun dato è stato escluso.

Risultati: I due diversi sistemi POCT di determinazione della glicemia evidenziano correlazione con lo strumento di laboratorio ($p < 0.001$). Per valori di glicemia di riferimento su plasma inferiori a 75 mg/dl:

- il 95.8% dei test Accu-Chek®, su N=24, riscontra una differenza di glicemia < 15 mg/dl rispetto alla glicemia misurata con metodo di riferimento
- test Optium Xceed, su N=3: numerosità campione insufficiente. I tre i dati raccolti mostrano una sovrastima della glicemia inferiore a 15 mg/dl

Per i valori di glicemia di riferimento su plasma maggiori di 75 mg/dL

- il 98.7% dei test Accu-Chek®, su N=467, mostra un Bias $<$ del 20% rispetto alla glicemia misurata con metodo di riferimento
 - l'89.6% dei test Optium Xceed, su N=115, mostra un Bias $<$ del 20% rispetto alla glicemia misurata con metodo di riferimento
- CV analitici: I CV analitici dei due sistemi POCT in uso ottenuti su controllo ematico BIORAD si attestano sul 5% elaborando complessivamente i dati di tre mesi di tutte le macchine in uso.

Conclusioni: Il sistema POCT Accu-Chek®, utilizzato nel nostro ambulatorio prelievi, rispetta i criteri di allineamento e accuratezza minima accettabile (imprecisione) previsti dalle Linee Guida. Il sistema monitoraggio della glicemia Optium Xceed-Advia® raggiunge i criteri di allineamento per glicemie di rif. > 75 mg/dl solo per l'89% dei dati e non per il 95% come richiesto dalle linee guida. Entrambi i sistemi mostrano CV analitici contenuti.

Il medico dell'ambulatorio prelievi, a conoscenza delle performance dei glucometri in uso, evidenziate in questo studio, è aiutato nella scelta dell'algoritmo diagnostico più appropriato.

VALUTAZIONE DELL'EGFR, DELLA CREATININA SIERICA E DELLA CISTATINA C QUALI INDICATORI PRECOCI DI DANNO RENALE IN UNA POPOLAZIONE DI SOGGETTI SANI

D-48

L. Loiodice, M. Tampoia, E. Mascolo, A. Colacicco, S. Marsico, V. Rosato, I. Specchia, F. Di Serio

U.O. Patologia Clinica I, Azienda Universitario-Ospedaliera Policlinico di Bari

Scopo del lavoro: valutare la sensibilità di tre indicatori di insufficienza renale: l'*estimated Glomerular Filtration Rate* (eGFR), la Creatinina sierica e la Cistatina C (Cys C) al fine di individuare il danno precoce in soggetti, donatori di sangue, apparentemente sani.

Materiali e metodi: in campioni di siero prelevati da 25 soggetti sani, provenienti dal Centro Emotrasfusionale, 20 M e 5 F, range di età (23-63 aa) età media 43 aa, sono stati testati l'eGFR, la creatinina e la cistatina C. Per la stima dell'eGFR "creatinine based" è stata utilizzata la formula MRDR (modification of diet in renal disease) tenendo conto, nel calcolo, della creatinina corretta, del sesso, dell'età e dell'etnia; il dosaggio della creatinina è stato eseguito su Dimension RXL (Siemens) secondo un metodo che utilizza una variazione della reazione di Jaffè (Siemens) e i risultati sono stati corretti per rapporto alla creatinina standardizzata, in base a quanto previsto dal programma di standardizzazione della creatinina fornita dalla DigitalpT; la Cys C sierica è stata dosata con metodo immunonefelometrico amplificato al lattice (Siemens) su strumentazione BN2 (Siemens). Per l'analisi statistica è stato utilizzato il t test di Student.

Risultati: il range di valori ottenuto per l'eGFR è stato di 145-57 ml/min/1,73m², media 103 ± DS 24.4 (stages: >90 normale, >60 stage 1-2, 30-59 stage 3, <30 stage 4-5); per la creatinina corretta è stato di 0.60-1.28 mg/dl, media 0.864 ± DS 0.171 (range di riferimento: M 0.80-1.30 mg/dl e F 0.60-1.00 mg/dl), mentre per la Cys C è stato di 0.55-0.91mg/l, media 0.681 ± DS 0.092 (range di riferimento < 0.53-0.95 mg/l). Dei 25 soggetti 7 casi, valutati con l'eGFR, erano inquadrabili nello stage 1-2 (5 M e 2 F di età media 45 aa) ed 1 solo nello stage 3 (1 F di aa 54), gli altri 17 erano normali. Tutti i soggetti erano risultati per la creatinina sierica corretta e per la cistatina C sierica, al di sotto dei limiti decisionali. Il t test di Student per dati appaiati ha evidenziato che le differenze tra le medie osservate erano statisticamente significative con valore di p al 97% <0.0001.

Discussione e conclusioni: in accordo con quanto riportato in letteratura, i nostri dati preliminari suggeriscono che l'eGFR possa essere utilizzato, in una popolazione di soggetti apparentemente sani, come marker precoce di danno renale, in quanto più sensibile della creatinina corretta e della cistatina C sieriche.

DOSAGGIO IN HPLC DEI FARMACI ANTIEPILETTICI LAMOTRIGINA ED OXCARBAZEPINA

D-49

M. Casati, M.V. Perlangeli, S. Melzi, S. Acito, A. Cappellani, R. Romano, L. Carati

A.O. San Gerardo Monza, Laboratorio Analisi Chimico Cliniche

Scopo del lavoro: recentemente il Laboratorio Analisi dell'A.O. San Gerardo di Monza ha acquisito il kit per il dosaggio in HPLC di farmaci antiepilettici di nuova generazione lamotrigina ed oxcarbazepina. In una prima fase è stata verificata l'imprecisione e l'inaccuratezza del metodo e successivamente, è stata riconosciuta la molecola che interferiva sul dosaggio della lamotrigina nel programma VEQ (Farmacontrol-Careggi) e non riportato dalla ditta fornitrice del kit.

Materiali e metodi: il kit per il dosaggio in HPLC dei farmaci antiepilettici utilizzato è prodotto dalla ditta Chromsystems e consente la determinazione di alcune molecole antiepilettiche, fra cui lamotrigina, 10-OH carbazepina, oxcarbazepina. La separazione degli analiti in esame, dello standard interno e dei metaboliti avviene utilizzando una colonna a fase inversa, flusso di 1,2 ml/min e temperatura della colonna di 25°C, seguita da lettura spettrofotometrica a 204 nm e determinazione quantitativa. L'imprecisione e l'inaccuratezza nella serie e tra le serie dei farmaci oggetto di studio è stata valutata su due livelli di siero a concentrazione nota (basso e alto) e su 20 replicati. I dati sono stati analizzati con il software Analyse IT ed espressi come media e ± DS e CV%. Per le prove d'interferenza abbiamo utilizzato sieri contenenti antiepilettici, antibiotici, antiinfiammatori e antiaritmici e soluzioni contenenti caffeina, lidocaina, paracetamolo e salicilati.

Risultati: l'imprecisione nella serie e tra le serie per lamotrigina, oxcarbazepina, e il suo metabolita 10-OH carbazepina, è risultata < 6%, mentre per l'inaccuratezza della lamotrigina, 10-OH carbazepina, il bias è < 4%, e per l'oxcarbazepina < 6%. Per quanto riguarda le sostanze interferenti, nei cromatogrammi ottenuti abbiamo rilevato la presenza di picchi a tempi di ritenzione (Tr) diversi rispetto ad un bianco soluzione; in particolare la caffeina ed il paracetamolo hanno un Tr < 4 minuti mentre la lidocaina e i salicilati hanno Tr di 5.6 e 6.08 minuti rispettivamente, molto vicini al Tr della lamotrigina che nei nostri cromatogrammi è di 7,1 minuti.

Discussione e conclusioni: i risultati indicano che il metodo è riproducibile, preciso ed accurato e le determinazioni possono essere effettuate in singolo senza ricorrere a grossolani errori di valutazione. Inoltre per concentrazioni di lamotrigina < 5 µg/mL i salicilati interferiscono con una corretta identificazione del farmaco; tale interferenza è stata osservata solo in vitro e non in vivo.

VALUTAZIONE DEL GLUCOMETRO POCT STAT-STRIP

D-50

M. Carta¹, D. Giavarina¹, G. Lippi²¹Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza; ²U.O. Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

Scopo del lavoro. L'automonitoraggio glicemico eseguito su strumenti Point Of Care (POC) viene raccomandato nei pazienti in terapia insulinica e consigliato anche nei pazienti con diabete di tipo 2. Tuttavia le performance analitiche di questi strumenti sembrano essere ancora subottimali. Non c'è unanimità di consenso su questo punto ma esistono diverse raccomandazioni da parte di società scientifiche. Un interessante studio (Lippi G et al. Ann Clin Biochem 2006;43:408-13) ha valutato 4 diversi strumenti POCT per la misurazione della glicemia valutando la correlazione con la glicemia misurata con le metodiche in utilizzo nel laboratorio in routine e analizzando anche l'adesione di questi strumenti alle specifiche di qualità sopra riportate.

Scopo dello studio è stato quello di valutare le performance analitiche dello strumento POCT Stat Strip (Menarini Diagnostic, Firenze, Italia) confrontandolo con lo strumento di riferimento utilizzato in laboratorio per la determinazione della glicemia (ADVIA 1800, Siemens Diagnostic Solutions, Deerfield, IL, USA) e verificando se lo strumento aderisce alle specifiche di qualità esistenti in questo ambito, in maniera analoga a quanto fatto nello studio sopra citato.

Materiali e metodi. Sono stati processati 110 campioni di altrettanti pazienti diabetici (n.32) e controlli (n.78). Sulla stessa provetta è stata misurata prima la concentrazione glicemica in POCT e poi su ADVIA.

Risultati. I risultati sono riassunti nella tabella, espressi come percentuale di misure devianti rispetto ai limiti di precisione indicati dalle raccomandazioni American Diabetes Association (ADA), Clinical Laboratory Standard Institute/International Organization for Standardization (CLSI/ISO), Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA).

	% di misure devianti consentite dalle LG	% osservata di misure devianti dalle LG				
		glucomen PC	One Touch II	Accu-Chek	Ascensia Elite	Stat-Strip
ADA	0	88.9	62.2	55.6	57.8	31
CLSI/ISO	< 5	17.8	2.2	0.0	0.0	0.0
CLIA	< 5	24.4	11.1	8.9	15.6	9

Conclusioni. Il sistema Stat Strip dimostra una percentuale di errore, rispetto ai limiti proposti dalle diverse linee guida, inferiore agli altri sistemi comparati. In particolare, Stat Strip ha un comportamento simile ad Accu-Check per quanto riguarda l'adesione agli obiettivi di precisione delle raccomandazioni NCCLS/ISO e CLIA, ma una migliore esattezza rispetto ai limiti proposti dall'ADA.

GLI INDICI PLASMATICI COME MARCATORI DELLA QUALITÀ DEL CAMPIONE

D-51

S. Mangraviti¹, F. Facco¹, M. Benvenuti¹, E. Biagini¹, R. Bologna¹, E. Fraternale¹, R. Pessina², G. Melioli²Dipartimento di Medicina Sperimentale e di Laboratorio. ¹Struttura Semplice di Biochimica-Clinica²Laboratorio Centrale di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia. IRCCS G. Gaslini, Genova

Scopo del lavoro. E' buona prassi testare ogni nuova metodica prima di utilizzarla in routine nel proprio Laboratorio. Secondo tale procedura si sono studiati gli indici plasmatici (IP) "Emolisi", "Ittero" e "Lipemia" (E, I, L). Si sono confrontate le unità convenzionali (UC) indicate nelle specifiche tecniche originali della ditta produttrice con le assorbanze (Abs) ottenute misurando quantità note di interferente al fine di adattare tali UC alla nostra realtà.

Materiali e Metodi. Su 1732 campioni randomizzati si sono misurati gli indici plasmatici E, I, L secondo i parametri di lettura originali per verificare il rapporto tra UC e quantità di Hb (≥ 0.2 g/L), Bilirubina (≥ 2 mg/dL) e Trigliceridi (≥ 300 mg/dL). La misura degli indici plasmatici è stata effettuata su Cobas C6000 Hitachi Roche a sei diverse lunghezze d'onda (570/600, 480/505, 660/700 nm) abbinate in tre coppie per effettuare letture in bicromatismo con λ principale e secondaria corrispondenti, rispettivamente, al picco ed alla minima Abs.

Risultati. In rapporto alle UC e relative Abs si sono definite quattro classi per ogni parametro onde poter fornire al clinico un esito esplicito e non numerico perché ritenuto di più immediata fruibilità: assenza di emolisi (AE), lieve emolisi (LE), emolisi (E), forte emolisi (FE), assenza di ittero (AI), lieve ittero (LI), ittero (I), forte ittero (FI), assenza di lipemia (AL), lieve lipemia (LL), lipemia (L), forte lipemia (FL). Lo studio è stato realizzato mediante analisi globale e specifica dei singoli IP con statistiche elementari e test t di Student. Confrontando le letture con parametri modificati rispetto a quelli originali, le frequenze percentuali analizzate mediante il test del "chi quadro", hanno evidenziato differenze statisticamente significative, con $p < 0,01$, per le prime due classi di ciascun IP.

Discussione e Conclusioni. Gli indici plasmatici costituiscono la misura oggettiva delle più macroscopiche interferenze sul campione. In questo studio si sono standardizzate le letture alle sei diverse lunghezze d'onda ottenendo appropriati range di misura per emolisi, ittero e lipemia adattati alla nostra particolare tipologia di utenza: pazienti di tutte le età e con i più diversi interferenti farmacologici, che sono stati esclusi, ottenendo misure che potessero fornire al clinico una valutazione concreta e immediata. A tal fine si sono anche approntati specifici commenti informatici automatici per le classi FE, FI e FL. Tale studio ci ha inoltre permesso di constatare un'inattesa elevata qualità dei campioni pervenuti.

DOSAGGIO DELL'ETILGLICURONIDE NELL'UMOR VITREO IN CAMPIONI DA CADAVERE PER LO STUDIO DELL'ABUSO ALCOLICO

D-52

A. Colatutto, B. Marcon, G. Barbina, S. Mazzolini, R. Zaglia, N. Pradal, L. Isola, A. Lerussi, P. Sala

DPT di Diagnostica di Laboratorio, AOU S. Maria della Misericordia, Udine

Scopo dello studio: L'incremento d'incidenti della strada e di morti correlate ha determinato un aumento di richieste di dosaggio dell'alcolemia, che nei soggetti deceduti può essere inficiato da molte variabili; abbiamo utilizzato l'Etilglicuronide (EtG) quale marcatore di abuso alcolico in una matrice particolare quale l'umor vitreo in un soggetto deceduto e sottoposto ad autopsia giudiziaria.

Materiali e Metodi: è stato determinato EtG contestualmente al dosaggio dell'alcolemia (Gas Cromatografia in Spazio di Testa) su sangue intero venoso, bile, urina, contenuto gastrico e umor vitreo di un soggetto di sesso maschile, utilizzando un metodo immunometrico automatizzato DRI su ILab-650 (Instrumentation Laboratory).

Risultati:

	SANGUE CENTRALE	SANGUE PERIFERICO	URINA	UMOR VITREO	BILE	CONTENUTO GASTRICO
ETANOLO* (mg/dL)	122	119	167	127	137	483
ETG* (mg/L)	4428	59444	6771	2638	111	1421
OPPIACEI* (ng/mL)	1056	374	28923	631	1887	1617
* In condizioni di non intossicazione ETG e OPPIACEI sono assenti, mentre può essere rilevato ETANOLO, a causa di fenomeni putrefattivi, comunque inferiore a 70 mg/dL.						

Discussione e Conclusioni: I dati riscontrati, oltre ad evidenziare una condizione di overdose da oppiacei, depongono per un'assunzione di alcool nei tre giorni precedenti il decesso. L'EtG consente di suffragare quest'ipotesi (insieme con il rilievo di alcool) soprattutto nell'umor vitreo, considerato matrice relativamente esente da fenomeni trasformativi cadaverici, che notoriamente possono essere causa di falso positivo/ negativo per etanolo e/o EtG su sangue e tessuti.

INTRODUZIONE DI UN METODO LOW-READER PER LA DETERMINAZIONE DELLA PROLATTINA VERSUS MACROPROLATTINA

D-53

S. Tagliavini, E. Baraldi, A.M. Cenci, T. Trenti

Corelab-TDA, Dip.Pat.Clin., NOCSAE-AUSL Modena

Introduzione. La prolattina (PRL) è presente nel siero umano in tre forme: monomerica, 23 KDa, 85-95% della PRL circolante; big PRL, 50-60 KDa, meno di 10%; big-big PRL o macroprolattina (MPRL) 150-170 KDa, in piccole percentuali variabili. Per diversi autori la prevalenza della MPRL in ampie popolazioni di soggetti iperprolattinemici è di 20%-40%, a seconda dei dosaggi impiegati. La ricerca della MPRL si avvale di due metodi: la cromatografia (GFC), gold standard, metodica costosa ed indagativa e perciò poco proponibile per uso routinario nei laboratori clinici; la precipitazione con polietilenglicole (PEG), di facile esecuzione e minor costo. Per convenzione, si prende in considerazione la presenza di MPRL quando, dopo GFC, il 30-60% della PRL sia rappresentata da MPRL o quando, dopo precipitazione con PEG, il recupero sia inferiore al 30%-40%. Attualmente vengono commercializzati differenti metodi di dosaggio della PRL circolante, soprattutto immunometrici non competitivi con anticorpi monoclonali e non esistono standard internazionali per definire la presenza di MPRL.

Scopo. Valutazione della convenienza clinica ed organizzativa dell'introduzione di un metodo low-reader (Access® Prolactin Beckman Coulter su UniCel® DxI800) in sostituzione di quello precedentemente in uso (Prolattina Abbott su Architect - ARC).

Materiali e metodi. Su 78 campioni di siero anonimi selezionati dalla routine, già testati con ARC, la PRL è stata dosata su DxI (metodo immunoenzimatico simultaneo ad una sola fase con anticorpi policlonali di capra, monoclonali di topo e substrato chemiluminescente LUMI-PHOS 530). Come test di conferma si è deciso di sostituire PEG con la valutazione di una terza metodica in chemiluminescenza automatizzata su Siemens ADVIA Centaur (CENT). Il confronto statistico dei risultati è avvenuto mediante Regressione di Passing & Bablock, grafici di Bland & Altman, Mountain Plot e coefficiente di correlazione r.

Risultati. Sono state messe in evidenza forti differenze statistiche tra i due metodi di base (media ARC 99.3, DxI 63.6; mediana ARC 70.5, DxI 49.5; Bland & Altman (ARC - DxI) media% 41 (-21,6 - 103,5); Passing & Bablock $y = -0,8448 + 0,7304 x$; $r = 0,077$ con $P < 0,0001$). In particolare sono da segnalare 8 risultati significativamente discordanti per una valutazione clinica (alti dosaggi di PRL su ARC risultati negativi con DXI e CENT).

Discussione e conclusioni. Nella pratica, il fenomeno MPRL è rilevante, pur non risultando ancora chiaro se e come valutarlo, ed eventualmente trattarlo, nella clinica. Il confronto tra i metodi di determinazione utilizzati nello studio evidenzia chiaramente che l'utilizzo di un test cosiddetto low-reader può ridurre in maniera significativa la prevalenza della MPRL, confermando i dati già disponibili in letteratura.

EFFETTO DEL TIPO DI ANTICOAGULANTE SUL DOSAGGIO DELL'OMOCISTEINA**D-54****V. Miconi, M. Carlotto, E. Ciman, O. Donadello, S. Gazzola**

Laboratorio di Patologia Clinica, ULSS 5 Ovest Vicentino; Arzignano (VI)

Scopo dello studio. Il ruolo dell'omocisteina (HCY) come fattore indipendente di rischio cardiovascolare è ben documentato in letteratura. Il dosaggio dell'HCY risente di variabili preanalitiche dipendenti dal tipo di campione, dalla temperatura e dal tempo che intercorre tra prelievo e separazione del plasma. Gli eritrociti producono e riversano HCY nel plasma rimasto in contatto con la frazione corpuscolata, innalzandone la concentrazione in funzione del tempo e della temperatura. Il problema della stabilità dei campioni e della loro conservazione è importante nelle realtà dove i prelievi territoriali afferiscono a laboratori centralizzati. Nell'ambito di una valutazione comparativa di tre metodi analitici, è stata valutata la stabilità del campione per il dosaggio dell'HCY raccolto con tre differenti tipi di anticoagulante.

Materiali e metodi. Sono stati reclutati 10 volontari sani, da ciascuno dei quali sono stati prelevati in condizioni basali 7 distinti campioni. Di questi, 2 campioni sono stati raccolti in provetta con EDTA e gel separatore, 2 in provetta con sodio citrato (Vacuette®, Greiner BioOne, Austria) e 3 in provetta specifica per il dosaggio dell'HCY (Kabevette®, Kabe Labortechnik, Germania). Tre campioni, raccolti con i tre diversi anticoagulanti, sono stati centrifugati e processati immediatamente dopo il prelievo, altri tre centrifugati e processati dopo permanenza per 6 ore a temperatura ambiente (25 °C). L'ultimo campione, raccolto in provetta specifica, è stato centrifugato e processato dopo 24 ore a temperatura ambiente. I dosaggi sono stati eseguiti con tre sistemi analitici: i campioni in EDTA in chemiluminescenza (HCY, Advia Centaur, Siemens, Milano), i campioni in citrato in immunoturbidimetria (Homocysteine, ACL Top, IL, Milano) e quelli in provetta dedicata Kabe con metodo enzimatico (Homocysteine, Axis-Shield, Dundee, UK su Modular P, Roche Diagnostics, Monza).

Risultati: Rispetto al dosaggio eseguito immediatamente dopo il prelievo, dopo 6 ore a temperatura ambiente l'aumento medio di HCY nel campione in EDTA è stato del 22%, nel campione in citrato del 13,9% e nei campioni in provetta Kabe del -1,6%. Dopo 24 ore, l'aumento medio di HCY nei campioni in provetta Kabe è stato del 4%. Il comportamento dei singoli campioni nel tempo evidenzia tuttavia una sensibile variabilità interindividuale.

Discussione e conclusioni: per mantenere l'integrità del campione di HCY è importante la rapida separazione del plasma dagli eritrociti. A distanza di 6 ore il campione in citrato è più stabile di quello in EDTA. La provetta contenente un agente stabilizzante specifico permette di mantenere integro il campione per almeno 24 ore e di trattarlo come un prelievo standard per esami di laboratorio.

IL DOSAGGIO DELLA COPEPTINA NELLA VALUTAZIONE DEL PAZIENTE CON DOLORE TORACICO**D-55****L. Papotto, L. Olivieri, M. Bardini¹, E. Marasti, M. Baroni, M.R. Metelli, P. Pietrini**UO Analisi Chimico Cliniche Specializzate – Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana – Pisa; ¹DEA Pronto Soccorso e Medicina d'Urgenza – AOUP – Pisa

Introduzione: La rapida diagnosi differenziale del dolore toracico è determinante per la gestione del paziente in emergenza. Tra i marker biochimici proposti per supportare la valutazione ECG e sintomatologica, sembra promettente la copeptina (CP), un peptide derivato dall'arginina vasopressina, la cui rilevanza clinica è legata al suo rilascio nello scompenso cardiaco acuto, shock o arresto cardiaco. Compare in circolo assai prima della troponina e anche se dotata di emivita breve, è stabile in vitro.

Scopo: Individuare applicabilità e ruolo del dosaggio precoce della CP nell'inquadramento del paziente con dolore toracico. *Metodi:* 83 pazienti (età 61±16,8; M=50, F=33) giunti al DEA con dolore toracico insorto da meno di 4h ed ECG nella norma o con segni ischemici. I dosaggi di CP e di TnT, Myo, CK-MB sono eseguiti basalmente e a 6 ore; I pazienti con valori normali di enzimi cardiaci vengono sottoposti a test provocativi. Esclusi dallo studio i pazienti di età <18 o >85, e quelli con concomitanti patologie evidenti. La CP plasmatica è dosata con il metodo BRAHMS Copeptin Kryptor; per i marcatori cardiaci sono utilizzati i test Roche-CobasE STAT su C411.

Risultati: 30 dei pazienti arruolati (36%) mostrano CP elevata: per 18 (60%) di questi si pone la diagnosi di sindrome coronarica acuta (SCA) con normalizzazione della CP a 6h; 12 (40%) presentano normalizzazione della CP a 6h, marcatori cardiaci negativi e test provocativi indicativi per ischemia inducibile (gruppo AI). I rimanenti 53 pazienti mostrano valori basali e a 6h di CP ed enzimi nella norma e negatività per ischemia inducibile (gruppo DT). I valori di CP nei pazienti SCA non differiscono da quelli AI, ma entrambi questi gruppi hanno valori superiori a quelli DT ($p<0.001$); la TnT basale in SCA e AI, pur negativa nei valori medi, è significativamente maggiore rispetto a DT ($p<0.01$; $p<0.05$); fra SCA e AI, invece, non differisce. Infine, vi è correlazione lineare positiva fra CP basale e TnT a 6h nel gruppo SCA ($r^2 0.47$; $p<0.001$).

Conclusioni: L'innalzamento della CP entro 4h dall'insorgenza del dolore, insieme al dosaggio della TnT e degli altri marker di necrosi, anticipano la diagnosi di IMA, mentre CP e TnT nella norma può consentirne la rapida esclusione e la dimissione del paziente. Inoltre, si prospetta la possibilità che isolati valori elevati di CP siano predittivi positivi di ischemia miocardica da sforzo, suggerendo il rule-in di pazienti ad alto rischio cardiovascolare ed evitando dimissioni affrettate. Dal punto di vista laboratoristico, il test BRAHMS si è dimostrato affidabile, di rapida esecuzione e di facile gestione, idoneo per un servizio di emergenza/urgenza.

VALUTAZIONE PRELIMINARE DI UN SOFTWARE PER LA GESTIONE DELL'AUTOMAZIONE DELL'ESAME URINE

D-56

G. Crespini¹, A. Dalmazzo², V. Miconi¹

¹Laboratorio di Patologia Clinica, ULSS 5 Ovest Vicentino; Arzignano (VI); ²Instrumentation Laboratory, Milano

Scopo del lavoro: valutare un software gestionale di un'isola di automazione dell'esame urine (iRICELL, IL, Milano) e verificare se è utile per migliorare la fase di revisione e la validazione dei dati.

Materiali e metodi. Da un anno il Laboratorio è dotato di 2 sistemi integrati iRICELL 3000 composti ognuno da un iCHEM Velocity per analisi chimico-fisica e un iQ200Sprint per analisi del sedimento. Entrambi i sistemi sono collegati al LIS tramite il middleware Modulab. L'organizzazione attuale prevede di fermare i campioni con parametri del sedimento al di fuori di soglie preimpostate dall'utente su iQSprint, mentre su Modulab sono impostate regole personalizzate per verificare le incongruenze tra analisi chimico-fisica e sedimento. Il flusso operativo attuale prevede: analisi chimico fisica → analisi sedimento → revisione iQSprint → revisione su Modulab dei campioni fermati e loro ricontrollo su iQSprint per verifica → invio a LIS. 495 campioni della routine giornaliera sono stati eseguiti in doppio su una terza postazione iRICELL con la versione software 7.0 e Data Manager simulando un collegamento al LIS.

Risultati: con il sistema di routine sono stati fermati il 40% dei campioni (198 su 495) e Modulab ha ricevuto 495 campioni fermandone 45 (9,1%), per un totale di campioni da rivedere pari al 49,1%. Con il sistema iRICELL SW 7.0 e Data Manager, utilizzando il medesimo sistema di soglie e regole in uso nella routine, sono stati fermati il 36% dei campioni (178 su 495). Il nuovo software ha cambiato il flusso di lavoro. Il responsabile di settore può controllare tutti i dati dalla stessa postazione di validazione senza dover tornare su iQSprint per verificare dei campioni fermati da Modulab per incongruenza.

Discussione e conclusioni: Con la nuova versione iRICELL SW 7.0 e Data Manager è possibile eseguire dalla stessa postazione la modifica e/o sotto classificazione dei risultati del sedimento, la modifica dei risultati dell'analisi chimico-fisica, la validazione completa con dati anagrafici presenti, la verifica delle congruità tra le analisi, la ricerca in memoria dei campioni con valori specifici per determinati parametri (es. proteinurie), la stampa immediata e l'inserimento del valore in un tempo successivo. In tal modo, non solo si riduce di circa il 10% il numero dei campioni fermati rispetto alla condizione attuale, ma si migliorano i tempi di validazione e si evitano ridondanze di operazioni manuali che oggi rendono laboriosa la fase conclusiva del lavoro. L'impressione complessiva è stata positiva in termini di miglioramento del flusso di lavoro, semplificazione del lavoro tecnico e delle operazioni di revisione, verifica, gestione e validazione di pertinenza del responsabile di settore.

VALUTAZIONE ANALITICA DI SETTE SISTEMI PORTATILI PER IL MONITORAGGIO GLICEMICO

D-57

V. Miconi, L. Battistin, E. Ciman, A. Faedo, F. Zenere

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Cazzavillan, Arzignano (VI)

Scopo del lavoro: la valutazione delle prestazioni analitiche di sette sistemi portatili per il monitoraggio glicemico nell'ambito di una gara aziendale per il rinnovo della fornitura da destinare ai reparti ospedalieri e ai servizi territoriali.

Materiali e metodi: Sono stati oggetto della valutazione sette sistemi analitici composti da strumento e strisce reattive: Optium Xceed (Abbott), Breeze 2 (Bayer), Glucolab (Infopia), OneTouch Vita (Lifescan Italia), StatStrip Xpress (Nova), Accu-Check Aviva (Roche), Finetouch (Terumo). Per la valutazione delle prestazioni analitiche sono stati utilizzati 62 campioni di pazienti interni con richiesta di esami urgenti prelevati in Li-eparina ed EDTA. Prima della centrifugazione e del dosaggio della glicemia con il sistema analitico in uso nella routine (GOD-PAP su Roche Modular P, Roche Diagnostics, Monza), da ciascun campione è stata prelevata con pipetta una piccola aliquota, dispensata poi in sequenza su sei degli strumenti in esame. Un'aliquota di campione dello stesso paziente prelevato in EDTA e destinato all'emocritometria, è stato dispensata sul sistema Glucolab che accetta solo tale tipologia di campione in alternativa al sangue fresco. Sono stati determinati retta di correlazione e bias plot per ciascun sistema in rapporto al metodo di riferimento. Per la valutazione degli obiettivi analitici sono stati utilizzati i criteri CLSI-ISO (meno del 5% dei campioni con variazioni ± 15 mg/dL o $\pm 20\%$ per glicemia misurata con metodo di riferimento, rispettivamente sotto o sopra 75 mg/dL) e FDA (errore inferiore al 20% per concentrazioni di glucosio comprese tra 30-400 mg/dL). La parte operativa della sperimentazione è stata condotta da tecnici di laboratorio.

Risultati. Secondo i criteri NCCLS-ISO il numero di campioni che non soddisfano gli obiettivi analitici fissati ($<5\%$ bias $\geq \pm 15$ mg/dL o errore $<20\%$ tra 30 e 400 mg/dL) sono pari al 5,9% (Nova), 17,6% (Bayer), 13,8% (Terumo), 13,3% (Roche), 8,8% (Abbott), 30,3% (Lifescan), 11,8% (Infopia). Secondo i criteri FDA il numero di campioni che eccede l'errore del 20% nell'ambito di intervallo 30-400 mg/dL è pari a 3 (Nova); 10 (Bayer), 8 (Terumo), 10 (Roche), 4 (Abbott), 13 (Lifescan), 9 (Infopia).

Discussione e conclusioni. I miglioramenti delle prestazioni analitiche degli strumenti e dei materiali, intervenute negli ultimi anni, sono apprezzabili, in particolare in relazione alla buona correlazione dei glucometri portatili con il metodo di riferimento che si estende da situazioni di iperglicemia fino ad ipoglicemie di notevole entità. Nessuno degli strumenti in esame soddisfa pienamente le specifiche NCCLS-ISO e FDA. Due tra i sistemi esaminati (Nova e Abbott) evidenziano prestazioni molto vicine agli obiettivi analitici raccomandati.

LA PERFORMANCE DELLE NUOVE STRUMENTAZIONI PER L'ESAME DEL SEDIMENTO URINARIO

D-58

A. Tinello, J. Bountis, P. Hoffer, T. Zorzan, D. Cioetto, V. Sartori, M. Turetta, M. Ferrari, E. Belluco, M. Pavanello, A. Bazzan, A. Gori, T. Ruzzene, M. Ercolin, F. Manoni

Servizio Medicina di Laboratorio Este-Monselice ULSS17 Regione Veneto

Scopo. A seguito della recente introduzione di strumenti automatizzati per la lettura del sedimento, le norme delle linee guida europee e del CLSI possono essere più facilmente attuate consentendo una buona quantificazione degli elementi di maggior rilevanza clinica. Si è valutato la performance analitica delle strumentazioni UF-1000i Dasit, IQ-200 IL, SEDIMAX-Menarini. **Materiale e metodi.** Sono stati analizzati 15 campioni; ogni campione (selezionato in modo che le concentrazioni degli analiti fossero distribuite in un ampio range per il calcolo del profilo di imprecisione per RBC, WBC, EP e Cilindri) è stato processato in quintuplo sui tre strumenti. Per l'accuratezza si è preso come riferimento il valore espresso dalla media di due letture al microscopio a contrasto di fase a 400X con conta in camera di Fuchs-Rosenthal secondo EUG 2000. I dati sono stati elaborati con MedCalc 13.3.3.0.

Risultati. I dati mostrano i seguenti profili di imprecisione: RBC-UF1000i: 17% da 0-10 elementi, 5% da 11-100, 8% da 101 a 500, 3% da 501-2000; RBC- IQ200: rispettivamente 20%,8%,10%,4%; RBC-Sedimax: rispettivamente 25%,6%,9%,6%; WBC-UF1000i: 12% da 0-10 elementi, 9% da 11-100, 3% da 101 a 500, 1% da 501-2000; WBC-IQ200: rispettivamente 20%,15%,15%,5%; WBC-Sedimax: rispettivamente 25%,20%,10%,6%; Cellule Epiteliali (EP)-UF-1000i: 13% da 0-10, 6% da 11-100, 3% da 101-200; EP-IQ200: rispettivamente 10%,10%,4%; EP-Sedimax: rispettivamente 13%,10%,4%; per Cilindri: UF-1000i 14% da 0-10, 13% a 11-100, 11% da 101-200; Cilindri-IQ200: rispettivamente 12%,9%,8%; Cilindri-Sedimax: rispettivamente 12%,10%,8%. Per l'accuratezza UF1000i, IQ200, Sedimax hanno un coefficiente di correlazione (r) per RBC rispettivamente: 0.999, 0.992, 0.981; per WBC: 0.999, 0.998, 0.996; per EP: 0.999, 0.999, 0.998; per Cilindri: 0.999, 0.999, 0.987.

Discussione e conclusione. I tre sistemi hanno fornito ottimi risultati come imprecisione ed accuratezza. In particolare i profili di imprecisione evidenziano solo a valori molto bassi CV elevati; a concentrazioni maggiori, prossime ai livelli decisionali, il CV rappresenta valori di assoluto rilievo, simili a quelli degli strumenti ematologici. L'accuratezza mostra una ottima correlazione con la lettura al microscopio a contrasto di fase anche se ogni sistema evidenzia tipicità legate alla tecnologia utilizzata.

ESAME AUTOMATIZZATO DEL LIQUIDO SEMINALE: ANALISI RETROSPETTIVA

D-59

A. Ferrini, C. Barberis, E. Ceresa

ASL TO4 Dipartimento di Patologia clinica

Scopo del lavoro. L'infertilità di coppia è una problema che, secondo i dati dell'OMS, colpisce nei paesi industrializzati il 15-20% delle coppie e questo dato è in costante aumento. Il fattore maschile, come causa principale di infertilità, sembra incidere per un percentuale superiore al 35%. L'analisi del liquido seminale è il primo passaggio nell'iter diagnostico di questa patologia. Scopo del lavoro è stato quello di valutare l'andamento nel tempo dei principali parametri dello spermogramma nella nostra popolazione.

Materiali e metodi. Sono stati analizzati i dati relativi agli spermogrammi eseguiti presso il nostro centro nel periodo 1996-2010. I conteggi e le analisi cinetiche sono stati eseguiti con analizzatori automatici (Celltrak e EOS9000), l'indagine morfologica è stata effettuata tramite microscopia ottica con colorazione di Giemsa, previo fissaggio in metanolo assoluto, applicando i criteri WHO 1991 e 1999. E' stato valutato l'andamento medio nel corso degli anni di alcuni parametri quali età, conteggio, mobilità e morfologia sia come dati assoluti che in relazione alla patologia (infertilità idiopatica, varicocele, infezioni, etc).

Risultati. Nel periodo 1996-2010 sono stati eseguiti 3475 spermogrammi; la fascia di età maggiormente rappresentata era quella tra i 26 e i 35 anni (47.3%); le principali motivazioni dell'indagine sono state l'infertilità idiopatica (63.1%) e il varicocele (19%). Nel gruppo dei pazienti con diagnosi di varicocele i principali parametri (numero, % di elementi con mobilità progressiva di tipo I e % di elementi normoconformati) presentavano valori medi significativamente più bassi di quelli della totalità dei campioni esaminati (rispettivamente -11%, -33% e -17%). In 200 pazienti affetti da varicocele, è stata eseguita un'indagine preoperatoria e un controllo a 6-12 mesi di distanza dall'intervento. Non sono state osservate significative variazioni dei parametri misurati nel pre e postoperatorio.

Discussione e conclusioni. I nostri dati coincidono con quanto espresso di recente in letteratura. Abbiamo rilevato, nei casi di infertilità idiopatica, un progressivo innalzamento dell'età media al primo controllo; questo dato indicherebbe uno spostamento in avanti negli anni della ricerca di prole da parte delle coppie. Nel caso del varicocele l'intervento chirurgico non sembrerebbe portare ad un significativo miglioramento degli indici dello spermogramma.

VALUTAZIONE DEL DOSAGGIO TOXO IgG IN AUTOMAZIONE**D-60****S. Tagliavini, D. Carra, P. Ferrari, A.M. Cenci**

Corelab, Dip.Pat.Clin., NOCSAE-AUSL Modena

Introduzione. Nella routine del Corelab, Laboratorio Unico AUSL di Modena, ad importante massa critica di attività/anno (circa 9.500.000 test nel 2009), il 12% degli esami sono immunometrici, eseguiti su piattaforme Abbott e Beckman Coulter, fisicamente connesse a catene robotizzate. Nel tempo, tali piattaforme hanno seguito un avvicinamento strumentale con modelli successivi. Per garantire la costanza della qualità della risposta è necessario tenere sotto controllo l'intero sistema. Questo è vero soprattutto per alcune diagnostiche particolari quali i dosaggi legati al TORCH. Questi, inizialmente eseguiti nella nostra realtà in routine su Abbott AxSYM (AXS), in fluorescenza, sono stati resi disponibili dal maggio 2010 su Abbott Architect (ARC) in chemiluminescenza, sempre in connessione robotizzata, e mantenendo le conferme su strumentazione stand alone BioMerieux VIDAS in ELFA. Pur essendo dichiarate dal produttore per il dosaggio Toxo IgG le stesse performance sulle due differenti piattaforme AXS e ARC (positivi >3 IU/mL, dubbi AXS 2-3, ARC 1,6-3), si sono visti su sieri di pazienti, noti e seguiti nel tempo, una non perfetta corrispondenza e/o un follow up non logicamente consequenziale rispetto ai valori storici. Inoltre, questa problematica ha portato un incremento dei test di conferma su VIDAS, con aumento di lavoro manuale e costo a referto.

Scopo. Valutare per dosaggi di Toxo IgG l'impatto clinico della qualità dei risultati, in termini di necessità di ripetizioni, conferme, commento ai dati e consulti esterni. Ipotizzare la convenienza di un riassetto organizzativo con l'utilizzo di altre piattaforme presenti in sede (DxI800), sperimentato con soddisfazione precedentemente per gli stessi test (2008).

Materiali e metodi. Sono stati studiati 165 campioni di siero provenienti dalla routine (pazienti interni da 4 ospedali ed esterni di tutta la provincia). Nel comprensorio, a popolazione multi-etnica, sono presenti 4 UUOO di Ostetricia e varie sedi di Consultorio. Il dosaggio Toxo IgG è stato eseguito in parallelo su ARC e DxI, chemiluminescenza, e conferma delle discrepanze su VIDAS.

Risultati. ARC e DxI mostrano una concordanza dell'83%. 28 campioni appaiono discrepanti secondo i risultati sotto riportati (positivo, p; negativo, n; dubbio, d.): 6 ARCP DxIn=VIDASn; 1 ARCn DxIp=VIDASp; 2 ARCn DxId=VIDASp; 12 ARCD DxIp=VIDASp; 7 ARCD DxIn=VIDAS: 1p, 1d, 5n.

Discussione e conclusioni. Dallo studio emerge la conferma che impiegare i medesimi anticorpi con tecnologie di rivelazione differente, come la fluorescenza e la chemiluminescenza, non è necessariamente garanzia di identità di risultato. La praticabilità del dosaggio Toxo IgG su DxI permette di ipotizzare un nuovo percorso in automazione, mantenendo la conferma su VIDAS, ma con un impiego limitato ad un ambito di accettabilità decisamente maggiore.

SEDIMENTO URINARIO IN AUTOMAZIONE E DUBBI INTERPRETATIVI: CELLULE EPITELIALI O LEUCOCITI?**D-61****R. Anderlini, F. Torricelli, N. Lelli, A.M. Cenci**

Corelab NOCSAE, Baggiovara, Dip.Pat. Clinica AUSL Modena

Introduzione. Le anomalie presentate dalle cellule nel sedimento urinario possono non risiedere nell'atipia o trasformazione reattivo-neoplastica, ma nell'estraneità dell'elemento osservato nel contesto di studio. L'informazione va comunque documentata, possibilmente inquadrata o interpretata, fornita.

Materiali e metodi. Campioni da 3 UUOO urologiche che eseguono interventi di neovescica ortotopica, con incidenza annua di circa 40 resezioni vescicali; test standard sulle urine eseguiti con analizzatore IL iQ200, a cattura d'immagine, con riconoscimento da rete neurale delle cellule incanalate in flusso laminare e classificate in 12 categorie: RBC, WBC, aggregati WBC, cilindri ialini, cilindri patologici, cellule epiteliali squamose (NSE), cellule uroteliali non squamose (TREP), cristalli, miceti, batteri, muco, spermatozoi. I dati chimico-fisici sono incrociati dal sistema esperto (Director, Menarini) con le categorie della microscopia automatizzata. Vengono di conseguenza fermati e valutati nel loro complesso i campioni con incongruenze tra classificazione dell'elemento corpuscolato e parametro dell'esame chimico-fisico complementare (ad es: WBC/esterasi leucocitaria)

Risultati. Sono riportati 6 casi giunti alla validazione per superamento dei range di normalità della categoria WBC e/o categoria NSE e incongruente valore di esterasi leucocitaria (assente) nel test chimico-fisico. La revisione a video delle immagini del campione si evidenziavano elementi di diametro 18-23µm, forma sferoidale, aspetto granuloso, lievemente più grandi dei leucociti, assegnati dal sistema a WBC e alcuni di diametro molto maggiore, inseriti in NSE. Una successiva attenta valutazione microscopica (400x - campo chiaro) e l'acquisizione di dati anamnestici sui pazienti, portatori di neovescica ileale ortotopica per pregressa cistectomia radicale, faceva concludere per la natura epiteliale di queste cellule, non appartenendo quindi né a WBC, non essendo leucociti, né a NSE in quanto non cellule uroteliali.

Conclusioni. Un validatore esperto, attraverso l'integrazione di dati chimico-fisici e sedimento in automazione, gestita con appropriate regole informatiche di validazione, riesce a evidenziare e risolvere casi in cui le singole parti del percorso, isolate, possono trarre in inganno nell'interpretazione di alcuni significativi elementi cellulari. Si può così evitare di giungere a conclusioni cliniche errate o di innescare inutili e spesso costose indagini di approfondimento diagnostico. Nel caso qui presentato, si ipotizza la creazione di uno specifico codice di refertazione che segnali la presenza di "Presenza di cellule epiteliali compatibili con neovescica".

POINT OF CARE TESTING. PROTOCOLLO DI VALUTAZIONE DI DIAGNOSTICA DECENTRATA**D-62****O. Antelmo, C. Domenichini¹, L. Rossi¹, M.R. Metelli¹, C. Consani, E. Matteucci, O. Giampietro**

Dip. Medicina Interna, Università di Pisa, *UO Analisi Chimico Cliniche Specialistiche, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana

Scopo del lavoro: La diagnostica decentrata non ospedaliera in Italia, considerando le farmacie e le parafarmacie, la diagnostica territoriale, poliambulatoriale, del medico di base, presenta grandi numeri. A differenza dell'ospedaliera (limitate normative regionali) il POCT extra ospedaliero non ha ne legislazione di utilizzo, tranne limitati riferimenti regionali, relativi a struttura ospitante o dotazioni minime per l'uso, ne accenni a qualità analitica dei risultati erogati o verifica delle fasi del processo. Lo studio, attualmente in corso, prevede la valutazione di un analizzatore di chimica clinica POCT, con l'analisi di campioni in vitro ed in vivo comparati con analoghi test, svolti presso il laboratorio, ed uno studio di fattibilità ed utilizzo pratico dello strumento, che presenta metodiche analitiche (miniaturizzate su rotore) analoghe alla diagnostica tradizionale.

Materiali e metodi: 36 diabetici tipo 2, arruolati al momento del controllo ambulatoriale presso il Dipartimento di Medicina Interna. Le determinazioni, eseguite dal laboratorio su Modulo C501, analizzatore Cobas 6000 (Roche Diagnostics) su sangue venoso (L), erano confrontate con quelle del Piccolo Xpress (EXXE s.r.l.). Queste ultime includevano il dosaggio in vivo su sangue capillare (C) con capillare preeparinizzato da 100 µl e il dosaggio, eseguito in duplicato, su prelievo venoso eparinizzato.

Risultati: colesterolo totale C 172 ± 38 mg/dl vs L 170 ± 39 ($p < 0.05$), colesterolo HDL C 55 ± 13 mg/dl vs 55 ± 14 (NS), Colesterolo LDL 90 ± 25 mg/dl vs 94 ± 28 (NS), trigliceridi 137 ± 83 mg/dl vs 129 ± 73 ($p < 0.01$), ALT 25 ± 10 U/l vs 20 ± 11 ($p < 0.001$), AST 25 ± 7 U/l vs 19 ± 6 ($p < 0.001$), glicemia 156 ± 47 mg/dl vs 145 ± 48 ($p < 0.001$). L'analisi bivariata di regressione lineare confermava una correlazione altamente significativa con r compresa fra 0.99 (colesterolo totale, trigliceridi, glicemia) e ≥ 0.91 (HDL, ALT, AST, LDL) con p sempre < 0.0001 . La riproducibilità dei duplicati su sangue venoso forniva i seguenti risultati (confrontati mediante t test per dati appaiati): colesterolo totale 171 ± 37 vs 170 ± 38 (NS), colesterolo HDL 55 ± 13 vs 55 ± 14 (NS), colesterolo LDL 90 ± 26 vs 88 ± 25 (NS), trigliceridi 136 ± 83 vs 137 ± 84 (NS), ALT 24 ± 10 vs 24 ± 10 (NS), AST 24 ± 6 vs 24 ± 6 (NS), glicemia 142 ± 46 vs 134 ± 46 ($p < 0.001$).

Discussione e conclusione: I risultati mostrano un'ottima correlazione tra lo strumento POCT ed il laboratorio. Il Piccolo risulta di pratico utilizzo, ed il rotore multiparametrico di semplice riempimento e caricamento. Inoltre il Piccolo individua l'eventuale presenza di variabili preanalitiche (emolisi, ittero, lipemia) presenti nel campione, che potrebbero inficiare il risultato, precludendone l'esecuzione.

SCREENING AUTOMATIZZATO PER IMMAGINI DEL SEDIMENTO URINARIO VERSUS CITOLOGIA CONVENZIONALE: VALUTAZIONE NEL RICONOSCIMENTO DI CELLULE ATIPICHE**D-63****R. Anderlini¹, L. Giampaolo¹, F. Torricelli¹, G. Fornari¹, C. Magnani², N. Bigiani², O. Raisi², A.M. Cenci¹**¹Corelab NOCSAE, Baggiovara e ²U.O di Citopatologia, Osp. Mirandola, Dip.Pat.Clinica AUSL Modena

Scopo del lavoro. Il ritrovamento casuale di elementi atipici nel sedimento urinario automatizzato con acquisizione di immagini (digitalizzate) offre l'occasione di rilevare cellule da lesioni neoplastiche in pazienti asintomatici, attivando un percorso diagnostico-terapeutico verso una diagnosi precoce. L'esame morfologico standard di urine estemporanee con analizzatore IL IRIS iQ200 segnala la presenza di cellule "sospette" da revisionare che nella nostra esperienza hanno trovato conferma con l'esame citopatologico.

Materiali e metodi. Urine fresche di pazienti esterni e degenti, di entrambi i sessi, da 9 a 88 anni, afferenti al laboratorio BLU (1° semestre 2010) per esame standard in routine, sono state analizzate con microscopia computerizzata e riconoscimento mediante rete neurale. Le immagini non ascritte a categorie previste (NSE o UNCL) seguivano la revisione degli operatori a video e/o al microscopio ottico (400x - campo chiaro) ed i campioni sospetti per presenza di cellule atipiche, venivano inviati alla U.O. di Citopatologia. Sono stati selezionati e confrontati 30 campioni: 9 da portatori k-vescica o con sospette neoformazioni, diversi per tipo istologico, infiltrazione e terapie; 6 da pazienti conosciuti per altre eteroplasie in diagnosi e/o in follow up, 15 da portatori di displasie/stati infiammatori delle vie urinarie.

Risultati. Riscontro di buona corrispondenza tra automazione ed esame citologico delle urine quando si combinano segnalazione strumentale e revisione da operatore delle immagini dubbie per la rete neurale. Si sono così riconosciuti elementi sospetti in 2 k vescica pre-intervento, 6 dopo cistectomia radicale per pregresso k della vescica, 6 dovuti a manovre strumentali, 4 lesioni uroteliali misconosciute confermate in citodiagnostica.

Conclusioni. Questa esperienza, preliminare e positiva, suggerisce la possibilità di percorsi interdisciplinari per lo studio di elementi esfoliati nelle urine, utilizzando i suggerimenti di un esame standard come screening per riconoscere atipie da avviare ad approfondimenti motivati, accelerando i necessari accertamenti citologici di conferma. Un simile approccio in automazione si può ipotizzare anche in altri campi di citologia esfoliativa, risultando utile anche nel garantire tracciabilità ed archiviazione immagini, fatti particolarmente interessanti nei follow up. I casi studiati possono, infine, contribuire alla realizzazione di un archivio immagini di cellule tipiche e atipiche utili alla formazione del personale.