

**DIAGNOSTICA DELLE INFEZIONI DELLE VIE URINARIE MEDIANTE UF-100:
UN ANNO DI ESPERIENZA IN UN LABORATORIO GENERALE****E-22****S. Valverde *, P. Maturi *, L. Penzo *, M. Ercolin °, G. Gessoni *, D. Casotto *, F. Manoni °**

*UOC Medicina di Laboratorio A-ULS 14 ° UOC Medicina di Laboratorio A-ULS 17

Scopo del lavoro: L'urinocoltura è il test richiesto con maggiore frequenza nel Laboratorio di Microbiologia Clinica, ciò giustifica l'introduzione di sistemi automatici per lo screening. Infatti la disponibilità di una metodologia di screening affidabile ed in grado di fornire risultati in tempi brevi sarebbe ampiamente auspicabile sia per il risparmio di risorse che per la possibilità di abbreviare i tempi di risposta. Gli autori descrivono nel presente lavoro un anno di esperienza nella diagnosi delle infezioni acute delle vie urinarie utilizzando un citometro UF100.

Materiali e Metodi: Sono stati esaminati 17.104 campioni urinari per un esame colturale. Ciascun campione è stato analizzato con UF100 al fine di ottenere un dosaggio quantitativo della batteriuria e della leucocituria. I campioni presentati meno di 25 leucociti/uL e/o 3000 batteri/ul sono stati considerati negativi e non sottoposti ad ulteriori test. I campioni con leucociti e/o batteri superiori al cut-off sono stati sottoposti a coltura. Mediante la sorveglianza dei campioni reinviati al nostro Laboratorio abbiamo messo a punto un sistema per la rilevazione dei falsi negativi.

Risultati: Dei 17.104 campioni considerati 11.625 (66.97%) erano negativi allo screening con UF100, mentre 5.479 (32.03%) erano positivi. In 935 dei campioni positivi (5.47%) non abbiamo osservato una crescita batterica significativa all'esame colturale (falsi positivi dello screening). Nel caso un medico reinviasse entro 48 ore al nostro laboratorio un nuovo campione di un paziente risultato negativo allo screening, tale campione veniva direttamente sottoposto ad esame colturale. In caso si evidenziasse una crescita batterica significativa si considerava questo risultato come un falso negativo del test. Secondo questi criteri i falsi negativi sono stati 243 (1.42%). Dopo valutazione statistica la performance analitica del protocollo suggerito era la seguente: sensibilità 0.95, specificità 0.93, valore predittivo positivo 0.83, valore predittivo negativo 0.98 incidenza di ben classificati 0.95.

Discussione e Conclusioni: Dopo un anno di esperienza, secondo i risultati trovati nel nostro studio la quantificazione di batteriuria e piuria mediante UF100 costituisce un ottimale metodo per la diagnosi rapida delle infezioni delle vie urinarie. Soprattutto tenendo conto che nella nostra realtà operativa tale risultato si ottiene come "by product" della routinaria analisi chimico-fisica delle urine dove il test con UF100 ha preso il posto dell'esame microscopico del sedimento.

**ESPRESSIONE DEL RECETTORE PER LE LDL IN LEUCOCITI DI PAZIENTI ADULTI
CON SINDROME DI DOWN****F-01****MM. Corsi*, D. Passoni*, B. Beltrami*, C. Zuccarelli °, D. Villani', M. Trabucchi', F. Licastro^**

*Istituto di Patologia Generale, Laboratorio di Patologia Clinica, Università di Milano; °Istituto Sacra Famiglia, Cesano Boscone, Milano; 'Istituto Ospedaliero di Sospiro, Cremona; ^Dipartimento di Patologia Sperimentale, Laboratorio di Immunologia, Università di Bologna

Scopo del Lavoro. Nei pazienti con Sindrome di Down sono stati riportati in letteratura diverse anomalie metaboliche, alcune delle quali relate al metabolismo lipidico; tuttavia la mortalità di tali pazienti non sembra essere dovuta ad un aumentato rischio aterosclerotico. Nel nostro studio abbiamo voluto indagare l'espressione del recettore per le LDL su cellule leucocitarie (PBMCs): è infatti noto che i leucociti sono presenti nel processo aterosclerotico e che l'interazione con le LDL è mediato attraverso il recettore specifico (rLDL). In generale, livelli alti di LDL plasmatiche e/o del loro recettore (rLDL) sono associati ad un alto rischio aterosclerotico.

Materiali e Metodi. Nel nostro studio abbiamo coinvolto 19 soggetti con Sindrome di Down con età superiore a 55 anni, e 10 soggetti controllo, apparentemente sani, della medesima età. Abbiamo studiato l'espressione del recettore per le LDL (Amersham Int, England) in cellule leucocitarie di sangue periferico (PBMCs) mediante citometria a flusso (FACScan, Becton Dickinson, Milan, Italy).

Risultati. I dati mostrano un decremento dell'espressione del recettore per le LDL (rLDL) nei pazienti con Sindrome di Down (MFI=139) rispetto ai controlli (MFI=197). Abbiamo inoltre valutato il quadro lipemico e non abbiamo trovato differenze significative per quanto concerne il colesterolo totale e le LDL, mentre abbiamo trovato nei soggetti con Sindrome di Down un aumento dei trigliceridi (p=0.0115) ed una diminuzione delle HDL (p=0.043).

Discussione e Conclusioni. I pazienti non presentano un incremento della frequenza di patologie cardiovascolari, forse dovuto ad una bassa concentrazione di LDL nel plasma e di colesterolo totale. In letteratura questi dati sono documentati, anche se in modo a volte discordante. Il ruolo del recettore per le LDL sulle cellule del sistema immunitario sembra alquanto controverso; pare che abbia una funzione immunoregolatrice. Sembra che le LDL attraverso il recettore specifico possano modulare la risposta dei linfociti. Nei nostri pazienti con Sindrome di Down, già in età adulta, da un lato non abbiamo riscontrato un quadro lipemico abnorme, dall'altro abbiamo evidenziato una ridotta espressione del recettore per le LDL sui leucociti. Da tali dati possiamo solo far notare come sia ancora valido il postulato trentennale della Sindrome di Down come un modello atheroma-free.

**PREPARAZIONE E QUANTIFICAZIONE DI CELLULE STAMINALI MIDOLLARI
PER AUTOTRAPIANTO IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A BYPASS AORTO-CORONARICO (BAC)**

F-02

P. Salera, G. Poti, L. Mele*, D. Mocini, S. La Rocca**

UOC Patologia Clinica, *UOC Medicina Trasfusionale e **UOC Cardiologia, ACO S.Filippo Neri, Roma

L'infarto miocardico (IM) è tutt'oggi la principale causa di morte nel mondo occidentale. Poiché studi recenti hanno evidenziato la capacità delle cellule staminali (CS) di origine midollare di differenziarsi in tessuto endoteliale e miocardico, è in corso di sperimentazione nell'uomo la possibilità di rigenerare il tessuto infartuato tramite impianto di cellule staminali.

Scopo del lavoro: è quello di verificare la possibilità di preparare e quantizzare le CS prelevate dal midollo di pazienti sottoposti a BAC da impiantare nell'area infartuata in tempi compatibili con quelli chirurgici.

Materiali e Metodi: Durante l'intervento di BAC sono stati prelevati in media 32,5 ml di sangue midollare (range 20-47) da 15 pazienti (15M, età media 65 anni) con anamnesi negativa per malattie oncematologiche, affetti da IM antecedente all'intervento di almeno 30 gg (stenosi coronarica >70%). Il sangue midollare è stato sottoposto a filtrazione e sedimentazione per gradiente di densità con HES al 7% per 90' e lavaggio in sistema chiuso di sacche per emocomponenti in cappa a flusso laminare. L'identificazione e il conteggio delle CS è stato eseguito in citofluorimetria prima e dopo sedimentazione, impiegando il metodo Procount (Becton Dickinson) che permette la conta assoluta delle cellule CD34+ e quella percentuale rispetto alle CD45+ e alle cellule nucleate (CN). La metodica utilizza anticorpi monoclonali coniugati con fluorocromi anti CD34 e CD45, un colorante per acido nucleico che marca il DNA e l'RNA di tutte le CN, un reagente controllo per testare l'entità di legami anticorpali non specifici e speciali provette fornite di un pellet liofilizzato che libera un numero noto di microsferes fluorescenti per la conta assoluta. I conteggi sul midollo prelevato hanno fornito i seguenti dati medi (range): CD34+ = 99,2/ul (5,8-280,1), CD45+ = 14,9x10³/ul (4,6-35,4), CN = 17,1x10³/ul (5,8-35,4), CD34+/CD45+ = 0,67%. I conteggi dopo sedimentazione, prima dell'impianto, hanno fornito i seguenti dati medi (range): CD34+ = 298,5/ul (46,0-878,8), CD45+ = 58,8x10³/ul (10,9-147,4), CN = 66,1x10³/ul (13,1-170,4), CD34+/CD45+ = 0,51%. Sono stati iniettati nell'area infartuata mediamente 8,1 ml di sangue midollare e sono state impiantate mediamente 1,8x10⁶ cellule staminali CD34+.

Risultati: I risultati dimostrano che è stato possibile, oltre a quantificare le cellule impiantate, anche verificare l'efficacia della metodica di sedimentazione e concentrazione. I tempi di preparazione e di conta cellulare sono risultati inferiori ai tempi chirurgici (circa 3 ore) e non hanno, pertanto, aumentato i tempi dell'intervento. Non si sono verificati effetti collaterali nei pazienti a conferma della sicurezza della procedura.

**VELOCITÀ DI TRASPORTO ELETTRONICO TRANSMEMBRANA E VITAMINA C PLASMATICA
NEI PAZIENTI DIALIZZATI**

F-03

L. Rossi^o, E. Matteucci, A. Cupisti, R. Caprioli*, E. Battipaglia, S. Favilla, P. Rindi*, G. Barsotti, O. Giampietro, B. Innocenti^o

 Dip. Medicina Interna, Università di Pisa; *U.O. Nefrologia; ^oU.O. Lab. Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Az. Osp. Pisana

Scopo dello Lavoro. L'emodialisi (HD) è associata ad una massiva transitoria produzione di radicali liberi.; gli eritrociti (RBC) trasferiscono riducenti che convertono il ferricianuro extracellulare a ferrocianuro (RBC vfcy). Lo studio ha valutato l'effetto di una seduta emodialitica su indicatori di danno ossidativo, vitamina C plasmatica e sistema di trasporto RBC vfcy.

Materiali e metodi: reclutati 25 pazienti HD e 25 controlli sani. I pazienti eseguivano HD 3 volte la settimana da almeno sei mesi senza supplementi di vitamina C o E. Parametri clinici e biochimici: massa corporea (BMI), pressione arteriosa media (MBP), creatininemia, azotemia, colesterolo totale e HDL, trigliceridi, albuminemia, glicemia; indici di equilibrio ossidoriduttivo: RBC vfcy, vitamina C plasmatica (Vit C), glutazione eritrocitaria (RBC GSH), malondialdeide plasmatica ed eritrocitaria (P e RBC MDA), emolisi, gruppi sulfidrilici plasmatici (P SH); dosaggi eseguiti a inizio e termine della seduta HD.

Risultati: valori predialitici di P SH (266±74 vs 406±78 µmol/L, p<0.01), Vit C (7.0±5.1 vs 21.5± 8.5 mg/L, p<0.001), e RBC GSH (0.68± 0.13 vs 0.80±0.13 mg/mL, p<0.01) erano inferiori rispetto ai controlli, mentre P MDA (1.57±0.52 vs 0.54±0.29 nmol/mL, p<0.001), RBC MDA (0.42±0.13 vs 0.34±0.16 nmol/mL, p<0.05) ed emolisi erano elevati. L'attività predialitica del RBC vfcy appariva normale (13.1±5.2 vs 12.9±3.2 mmol/mL/h). Dopo dialisi, si riducevano nettamente RBC vfcy (8.9±4.5 mmol/mL/h, p<0.001), P MDA (0.79±0.33 nmol/mL, p<0.001), RBC MDA (0.22±0.09 nmol/mL, p<0.001) e Vit C (2.5±1.4 mg/L, p<0.001), mentre aumentava il livello di P SH (413±99 µmol/L, p<0.001). L'attività di RBC vfcy correlava con RBC GSH (r=0.51, p<0.01) e Vit C (r=0.50, p<0.001). I pazienti uremici presentano segni di grave stress ossidativo associato a marcata compromissione delle difese antiossidanti. L'attività di RBC vfcy nei pazienti HD, senza supplementi vitaminici, viene mantenuta normale a spese di un ridotto RBC GSH, nonostante bassi livelli di vitamina C. A fine dialisi RBC vfcy è acutamente ridotto in concomitanza con l'ulteriore riduzione della vitamina C nel plasma.

Conclusioni: probabilmente, in corso di dialisi, l'attività redox di membrana è impegnata nella rigenerazione dell'ascorbato da DHAA fino ad esaurimento delle riserve intracellulari e conseguente riduzione acuta dell'attività della ferricianuro redattasi. Sembra che la produzione di radicali superi la capacità di rimozione con una perdita non reversibile del principale antiossidante plasmatico, l'ascorbato, la cui concentrazione resta molto inferiore alla norma anche nel periodo interdialitico.

GLICAZIONE DELLA APOLIPOPROTEINA B-100 E DELLA LIPOPROTEINA A NEL DIABETE MELLITO GIOVANILE INSULINO DIPENDENTE**F-04****S. Parco, G. Tonini, P. Rosa, F. Vascotto, G. Tamaro**

IRCCS Burlo Garofolo - Trieste

Scopo del lavoro. La glicazione delle proteine è un importante fattore nella patogenesi delle malattie cardiovascolari. Nei pazienti diabetici alti livelli di glucosio causano un aumento dello "glycoxilation stress" che coinvolge le più importanti lipoproteine. In un precedente studio (1) abbiamo dimostrato come in bambini con diabete mellito insulino-dipendente (IDDM) il rapporto apolipoproteina A1/B-100 sia statisticamente più basso che in un gruppo di controllo della stessa età (0.91 vs.1.42). Questo dato è dovuto ad un incremento del livello sierico della Apolipoproteina B-100 (Apo B-100), e riteniamo che ciò possa essere dovuto alla glicazione della Apo B-100 con alterazione del suo catabolismo. A tal fine abbiamo studiato 33 bambini con IDDM e 13 controlli sani, nei quali abbiamo controllato fruttosamina ed emoglobina glicosilata.

Materiali e metodi. La frazione totale e quella glicata di Apo B-100 e lipoproteina a (Lpa) sono state dosate con un metodo combinato di affinità cromatografica ed immunonefelometria.

Risultati. La differente percentuale di glicazione era statisticamente significativa per quanto riguarda l'Apo B-100 fra i pazienti ed i controlli sani (7.48, d.s. 3.93 vs. 4.77, d.s. 1.76, $p < 0.005$). Differenti valori sono stati trovati anche per la Lpa tra i due gruppi (5.10, d.s. 4.78 vs. 3.61, d.s. 4.69), ma senza significatività statistica ($p = 0.46$); riteniamo che ciò sia dovuto alla distribuzione non Gaussiana dei valori sierici di Lpa nella popolazione.

Discussione e conclusioni. I nostri risultati confermano l'importanza della glicazione della Apo B-100 e della Lpa nel IDDM giovanile. Entrambe Apo B-100 e Lpa sono coinvolte nel metabolismo lipidico. L'alto livello della frazione glicata è un importante fattore di elevato rischio cardiovascolare in questi pazienti.

Atti XLV Giornate Mediche Triestine, pag. 219, 1991

STUDIO DELLA TRANSFERRINA CARBOIDRATO CARENTE IN PAZIENTI OSPEDALIZZATI**F-05****A. Da Rold *, M. Battistel, G. Bertiato, M. Boaretto *, M. Forni, E. Modolo, F. Tremolada ***

Laboratorio Analisi, Medicina*, Ospedale "S. Martino", Belluno

La transferrina carboidrato carente (CDT) è ampiamente descritta in letteratura come un marcatore sensibile e specifico di abuso alcolico e a questo scopo è dosata nei pazienti associata ad altri marcatori d'uso comune quali GGT, MCV e transaminasi. Secondo alcuni autori la CDT risente dell'epatopatia cronica che ne diminuirebbe la specificità.

Scopo del lavoro. Su una popolazione di pazienti, ricoverati nel reparto di Medicina dell'ospedale di Belluno tra il 2002 e il 2003, è stata studiata la capacità della CDT e degli altri marcatori di identificare correttamente i bevitori e non, al fine di verificare se, in una popolazione così raccolta, la CDT possa dare un apporto rilevante per una corretta classificazione dei soggetti.

Materiali e metodi. I pazienti sono stati divisi in tre gruppi 1) 25 pazienti astemi o bevitori sociali che negli ultimi tre mesi abbiano assunto non più di 60gr/die di alcol. Da questo gruppo sono stati esclusi tutti i pazienti con segni bio-umoral e ecografici di danno epatico, i soggetti con malattie ematologiche che comportino un aumento del MCV, i pazienti in terapia con farmaci antiepilettici e i soggetti che dimostravano scarsa collaborazione; 2) 21 pazienti forti bevitori affetti da cirrosi esotossica che dichiaravano un consumo negli ultimi tre mesi di almeno 60gr/die di alcol o affetti da sindrome da dipendenza alcolica secondo la definizione del DSM IV. Da questo gruppo sono state escluse tutte le cirrosi ad eziologia mista o con epatocarcinoma. 3) 34 pazienti con consumo alcolico superiore a 60gr/die o affetti da sindrome da dipendenza alcolica secondo la definizione del DSM IV, ma senza segni e sintomi di cirrosi. La CDT è stata dosata con il metodo Biorad che prevede la separazione in colonna a scambio ionico delle isoforme a diverso contenuto di acido sialico (asialica, monosialica e disialica) e la loro determinazione immunoturbidimetrica (Biorad, %CDT TIA).

Risultati. Nell'individuare l'abuso alcolico la CDT ha mostrato i seguenti valori di sensibilità 78,2%, specificità 96%, VPP 97,7% e VPN 66,6%. Nel confronto con gli altri test la CDT ha mostrato un Odds Ratio più elevato dimostrando una maggiore capacità discriminante. La transferrina carboidrato carente appare essere l'unico marcatore non influenzato dalla cirrosi epatica. Data la bassa numerosità campionaria la capacità discriminante dei test risente di piccole variazioni numeriche tra le popolazioni.

INTERFERENZA DELLA MACROPROLATTINA SUI SISTEMI PER IMMUNODOSAGGI MODULAR E170 (ROCHE) E VIDAS (BIOMERIEUX)
F-06
M. Schinella, V. Curci, D. Armotti, A. De Angeli, S. Linardi, L. Rozza

Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia, Ospedale di Rovereto, piazzale S.Maria, 38068 Rovereto (TN)

Scopo del Lavoro. La macroprolattinemia rappresenta il 10-25 % di tutte le forme di iperprolattinemia e va ipotizzata ed esclusa in tutti i pazienti che presentano elevati livelli di prolattina non associati ad alcun sintomo clinico. Il metodo di riferimento per la rilevazione della macroprolattina è la GFC (gel -filtration chromatography) anche se da vari autori viene segnalata la buona concordanza con la metodica di precipitazione con polyethylene glycol (PEG), quando usata come complemento nel dosaggio Roche Elecsys-Modular PRL. Il presente lavoro valuta l'interferenza da parte della macroprolattina sui sistemi per immunodosaggi Modular E 170 (Roche) e Vidas (Biomerieux) e l'applicabilità della metodica di precipitazione con PEG (Roche) su Vidas (Biomerieux).

Materiali e Metodi. Sono stati selezionati 50 campioni dalla routine afferente al nostro centro con concentrazioni di prolattina al di sopra dei valori di riferimento stabiliti, dosata su analizzatore Modular E 170 Roche con tecnica ECLIA. Gli stessi campioni sono stati dosati su analizzatore Vidas Biomerieux con tecnica ELFA. Ciascun campione è stato successivamente trattato con polyethylene glycol (PEG) 6000, che permette la precipitazione della macroprolattina e degli oligomeri seguendo il protocollo proposto dalla ditta. Dopo centrifugazione, il surnatante di ciascun campione, contenente prolattina monomerica, è stato dosato su entrambi gli analizzatori. La macroprolattina e gli oligomeri sono stati determinati tramite il recupero della prolattina dopo precipitazione con PEG. Per la valutazione dei risultati è stato considerato un recupero > 60% (prevalenza di prolattina monomerica), ed un recupero < 40% (prevalenza di macroprolattina e/o oligomeri).

Risultati. Dei 50 campioni testati su entrambi gli analizzatori, 37 hanno presentato risultati di PRL patologici (v.r. Roche: > 30 ng/ml femmine; >20 ng/ml maschi; v.r. Biomerieux: > 35 ng/ml femmine; >25 ng/ml maschi) 13 sono stati patologici per Roche e normali per Biomerieux. L'applicazione della metodica di precipitazione con PEG proposta dalla Roche sui 50 campioni ha riscontrato la presenza di macroprolattina in 16. La stessa metodica è stata testata con il sistema Biomerieux e si è dimostrata inapplicabile per una netta interferenza (elevati valori di recupero su tutti i campioni).

Conclusioni. Lo studio evidenzia una maggiore interferenza di macroprolattina sul dosaggio Roche rispetto a Biomerieux. Il pretrattamento con PEG utilizzato come complemento nel dosaggio Roche si è dimostrato metodo dipendente in quanto non applicabile su Biomerieux. Poiché al momento non vi sono kit del commercio esenti completamente dalla reattività verso la macroprolattina, è auspicabile ottimizzare sulle singole metodiche metodi rapidi e correlati con la GFC, come è il metodo di precipitazione con PEG proposto da Roche, che consentano di ottenere un valore aggiunto immediato nelle condizioni di iperprolattinemia da macroprolattina.

VALUTAZIONE DI UN METODO IMMUNOMETRICO PER IL DOSAGGIO DEL PEPTIDE NATRIURETICO DI TIPO B (BNP)
F-07
S. Lazzarini, C. Martelli, C. Minneci *, L. Doni

Laboratorio Chimica Clinica - *Ambulatorio Scompensio Cardiaco - Nuovo Ospedale San Giovanni di Dio, Via di Torregalli 3, 50143 Firenze

Scopo del Lavoro. Lo scopo del nostro studio era quello di valutare la performance analitica di un dosaggio immunometrico per la determinazione quantitativa del peptide natriuretico di tipo B (BNP) nel plasma umano utilizzando il sistema ADVIA Centaur della ditta Bayer Diagnostics. Il BNP è sintetizzato nel cardiomiocita come pro-ormone (pre-pro BNP) di 134 aa, da cui derivano un pre-ormone (pro BNP) di 108 aa ed un peptide sentinella di 26 aa; il pro BNP è scisso in un peptide C-terminale a 32 aa fisiologicamente attivo (BNP-32) ed in un frammento N-terminale a 76 aa (NT-pro BNP). Il BNP è determinato attraverso un immunodosaggio in chemiluminescenza diretta a due siti che utilizza quantitativi costanti di due anticorpi monoclonali specifici, il primo per la struttura anulare ed il secondo per la porzione C-terminale del BNP-32.

Materiali e Metodi. Esaminati 425 soggetti (310 M - 115 F), in particolare 131 (103 M - 28 F) donatori con assenza di sintomi o segni di problemi cardiaci provenienti dal Centro Trasfusionale del nostro ospedale (gruppo di controllo) e 294 (207 M - 87 F) pazienti distribuiti nelle classi I - III secondo la classificazione della New York Heart Association (NYHA), provenienti dal nostro Ambulatorio Scompensio Cardiaco; tutti i soggetti hanno dato il loro consenso informato. Campioni raccolti in provette di plastica contenenti EDTA e testati in doppio; in ogni seduta analitica dosati tre livelli di controllo, sia all'inizio che alla fine. I valori di BNP sono in pg/mL.

Risultati. Gruppo di controllo: età media 42.5 anni (18-65 anni); Media 13.8, Mediana 11, 97.5° percentile 49.8. Pazienti: valori 0-4808; Media 368.5. Suddividendo i pazienti in base alla frazione d'iezione (FE): > 35% - Media BNP 227.36; 25%-35% - Media BNP 317.00; < 25% - Media BNP 485.42; in base alla classe NYHA: Classe I - Media BNP 50.17; Classe II - Media BNP 195.44; Classe III - Media BNP 579.12. Il cut-off è 100; al di sotto solo pazienti stabili (classi NYHA I-II). Imprecisione: controllo L (Media 45.57; SD 2.172; CV 4.8%), controllo M (Media 441.33; SD 15.568; CV 3.5%), controllo H (Media 1715.69; SD 50.216; CV 2.9%).

Conclusioni. ADVIA Centaur BNP può essere inserito in un sistema dove sono già eseguiti altri immunodosaggi, senza dover cambiare l'organizzazione del lavoro; questo dosaggio deve essere usato come test di routine. I dati emersi hanno confermato che il BNP può essere usato per una vasta gamma d'applicazioni cliniche (diagnosi, monitoraggio e prognosi). Lo studio effettuato, alla luce dei risultati ottenuti, ha rafforzato la nostra convinzione sulla capacità del laboratorio d'analisi di fornire un valido aiuto ai nostri colleghi Clinici per la diagnosi e la cura dei pazienti.

CM ASSOCIATA A NEUROPATIA O PROTEINA CHE MIMA UNA CM? UN CASO CLINICO CHE ENFATIZZA IL RUOLO DELLA IF**F-08****L. Cinquanta, *R. Pisano, *B. Talento**

Lab. Patologia Clinica Az.Osp. San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona Salerno, *Lab. Patologia Clinica Osp. San Francesco Oliveto Citra(Sa)

Scopo del lavoro. A causa dell'elevata prevalenza di CM d'incerto significato (MGUS), in alcuni ambienti persistono perplessità sulla strategia d'adottare quando una componente monoclonale (CM) di piccole dimensioni è evidenziata a seguito di un esame elettroforetico. Al fine di contenere il numero di immunofissazioni (IF), in crescente aumento, è oggetto di revisione da parte di alcuni autori l'indicazione di tipizzare tutte le CM, nonostante i suggerimenti di diverse linee guida elaborate sull'argomento. Il caso clinico proposto ha lo scopo di ribadire la necessità di praticare comunque la IF anche solo per escludere la presenza di una CM sospetta, come nel caso della presenza anomala di una proteina come il fibrinogeno.

Materiale e Metodi. Un uomo di 72 anni, con una storia di TVP agli arti inferiori, episodi di embolia polmonare, ipertrofia prostatica e asma, si ricoverava in ospedale per intensi dolori articolari e muscolari alle spalle, alla zona lombare del rachide, alla tuberosità ischiatica dx e ai polpacci insieme a parestesie e sensazione di eccessivo affaticamento alle gambe. Per i sintomi che il paziente presentava e gli esiti dei test di laboratorio, degli studi elettromiografici e dell'esame neurologico, la diagnosi fatta fu di poliradiculoneuropatia demielinizante infiammatoria cronica (CIDP). A questo punto la ricerca di CM diveniva necessaria e a tal scopo furono eseguite elettroforesi delle sieroproteine (sistema Hydrasys della Sebia) e immunofissazioni sieriche (Kit cod. 3067 della Helena Laboratories).

Risultati. L'elettroforesi delle sieroproteine evidenziava in prima istanza una gammopatia monoclonale di 0.62 g/dL, localizzata tra le frazioni beta e gamma delle globuline. La IF, eseguita per la caratterizzazione della banda, non mostrava alcuna zona di immunoprecipitazione, usando antisieri specifici per le catene pesanti (IgG, IgA e IgM) e leggere (kappa e lambda) delle Ig. La posizione della banda, associata all'osservazione di un sottile filamento di coagulo nel siero, fece insorgere il sospetto che la banda fosse costituita da fibrinogeno. A questo punto una seconda IF, praticata usando un antisiero anti-fibrinogeno, confermava quanto ipotizzato.

Discussione e Conclusioni. Il fibrinogeno non è presente nel siero, in caso contrario appare all'elettroforesi come una distinta banda, che mima una CM. Sono affetti da CIDP maggiormente gli adulti di sesso maschile, in circa il 25% dei casi essi presentano una MGUS. Non esiste una definizione assoluta per le MGUS, tuttavia è importante classificare i pazienti CIDP-MGUS rispetto agli altri CIDP senza CM perché la sintomatologia è diversa nei due gruppi e, inoltre, il sottogruppo di pazienti con CM costituita da IgM presenta un decorso più protratto e una risposta alla plasmateresi meno favorevole. Nel caso descritto l'esecuzione della IF, per tipizzare la presunta CM, ha evitato che al nostro paziente fosse attribuita una componente monoclonale inesistente, contribuendo ad inquadrarlo in modo corretto.

CONFRONTO INTERPRETATIVO TRA METODI ELETTROFORETICI: GEL D'AGAROSIO ED ELETTROFORESI CAPILLARE**F-09****N. Camusso, R. Irde, M. Angius**

A.S.L n°5 Oristano

Scopo del lavoro. L'elettroforesi delle sieroproteine necessita di un'attenta interpretazione tecnica. La corretta suddivisione delle frazioni fornisce infatti corrispondenti informazioni cliniche. I principi che guidano l'analisi del gel sono applicati ai tracciati prodotti in elettroforesi capillare per dare al clinico una rappresentazione grafica a lui familiare. Abbiamo confrontato i risultati ottenuti con i tracciati in gel d'agarosio (Helena Biosciences, e quelli ottenuti con un CZE (Beckman-Coulter).

Materiali e metodi. Sono stati analizzati trenta campioni provenienti dalla routine. Sono stati confrontate le percentuali e i valori assoluti così come scaturivano da un'interpretazione tecnico/clinica sul gel d'agarosio e dall'elettroforesi Capillare.

Risultati. La correlazione tra le due metodiche è risultata eccellente con l'eccezione della frazione Alfa1 globuline la cui discordanza è spiegabile dalla nostra scelta interpretativa sul gel d'agarosio di isolare la frazione alfa1 antitripsina nel contesto delle alfa1 globuline con lo scopo di fornire al clinico uno screening di immediata interpretazione per il deficit d'alfa 1 Antitripsina.

Conclusioni. Considerando la diversa valutazione (per convenzione interna) delle frazioni Alfa1, riteniamo le metodiche sovrapponibili nel messaggio clinico.

valore percentuale	Albumina	α 1 globuline	α 2 globuline	β globuline	GammaGlobuline
t student	0,255	2,606	0,187	0,473	0,192
p (differenza medie)	p=0,7999	p=0,0116	p=0,8526	p=0,6378	p=0,8484
r Pearson	0,714	0,590	0,674	0,951	0,948
R2	0,518	0,348	0,454	0,904	0,900
p (correlazione)	p<0,0001	P=0,0006	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001

valore assoluto	Albumina	α 1 globuline	α 2 globuline	β globuline	GammaGlobuline
t student	0,152	3,019	0,191	0,342	0,164
p (differenza medie)	p=0,8797	p=0,0038	p=0,8492	p=0,7337	p=0,8704
r Pearson	0,910	0,527	0,719	0,967	0,963
R2	0,820	0,278	0,517	0,935	0,928
p (correlazione)	p<0,0001	p=0,0027	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001

STANDARDIZZAZIONE DEL DOSAGGIO DELL'ENZIMA DI CONVERSIONE DELL'ANGIOTENSINA (ACE) SU ADVIA-1650 BAYER**F-10****S. Ferraro, M. Basile, L. Acquadro, A. Appiani, B. Bardone, D. Scarano, MG. Sulas, P. Zumaglini, L. Kurilko, C. Musitelli, G. Bellomo**

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche, ASO Maggiore della Carità, Università del Piemonte Orientale, Novara e Bayer Diagnostics SRL, Milano

L'attività dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) rappresenta un importante parametro nella diagnosi e prognosi di numerose patologie. La valutazione cinetica dell'enzima necessita di una standardizzazione/automazione di metodi che utilizzino come substrato della reazione il furil-acrilil-fenilalanilglicilglicina (FAPGG).

Scopi della ricerca: a) automatizzazione e standardizzazione del dosaggio ACE (con reagentario Sigma) su analizzatore di chimica-clinica ADVIA-1650 Bayer b) miglioramento dei parametri di precisione e accuratezza c) adeguamento dei limiti di riferimento di normalità al metodo standardizzato.

Metodi: La metodica colorimetrica è stata quantitativamente modificata per il dosaggio in automazione con la dispensazione di microvolumi; la reazione segue una cinetica di ordine 0 in decremento, con lettura a 340 nm e a 410 nm.

Risultati: Il dosaggio ha dimostrato una buona ripetibilità (associata ad un CV intraassay medio di 5.3%) una sensibilità analitica pari a 10U/L associata ad un CV intraassay di 8.6% per livelli molto vicini a questo valore limite, dimostrando come il metodo sia adatto al monitoraggio di pazienti trattati con ACE inibitori. Un CV intraassay del 5% per livelli vicini al valore limite di normalità superiore, dimostra che il test permette di discriminare accuratamente tra popolazione sana e patologica. Il CV interassay è risultato pari al 10.4%. L'accuratezza del dosaggio è stato confermato da test di diluizione (da 1:1 a 1:128 di un pool serico di pazienti) che ha rivelato un $R^2 = 0.985$. La valutazione analitica su siero non appare inficiata da molecole interferenti in aggiunta al conosciuto EDTA. Vi è un'ottima stabilità della calibrazione (6 settimane) e del reagente (a 4°C superiore a 4 settimane). Non sono state identificate variazioni significative nei livelli di ACE su siero pre e post-congelamento.

L'adeguamento dei limiti di riferimento di normalità, eseguito secondo i criteri dell'NCCLS, è stato effettuato su una popolazione di donatori sani (100 maschi e 100 femmine) comparabili per età; non si sono rilevate differenze dipendenti dal sesso. I limiti di riferimento di normalità unici sono risultati 19.4-65.5 U/L.

Conclusioni: La standardizzazione del metodo su analizzatore di chimica-clinica ADVIA-1650 Bayer ha permesso di unire ai vantaggi dell'automazione, come la pronta disponibilità del risultato, ottimi parametri di precisione ed accuratezza del test.

CONCENTRAZIONE PLASMATICA TOTALE, LIPOPROTEICA ED ERITROCITARIA DI ANTIOSSIDANTI LIPOSOLUBILI DOPO DUODENO-CEFALO-PANCREASECTOMIA**F-11****G. Bellomo, M. Bagnati, R. Bordone, R. Rigoni, M. Basile, M. Garavoglia**

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche e Clinica Chirurgica, Università del Piemonte Orientale, ASO Maggiore della Carità, Novara

Gli antiossidanti liposolubili svolgono un ruolo importante nella patogenesi e nella progressione di numerose patologie. La loro biodisponibilità dipende in gran parte dall'assorbimento intestinale per il quale è indispensabile una adeguata funzione pancreatica.

Scopi della ricerca: (a) valutazione del contenuto plasmatico e lipoproteico degli antiossidanti a- e g-tocoferolo (AT e GT), licopene (Lic) e b-carotene (BC), (b) valutazione del contenuto di AT nelle membrane eritrocitarie e (c) valutazione dell'efficienza di una supplementazione orale con AT in un gruppo di pazienti sottoposti a duodeno-cefalo-pancreasectomia.

Metodi: Ai pazienti (n=20) e soggetti di controllo (n=24) è stato effettuato un prelievo di sangue venoso prima o dopo (14 giorni) supplementazione con 600 mg/die (per os) di AT. Lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) e a densità bassa (LDL) sono state ottenute mediante ultracentrifugazione. Membrane eritrocitarie sono state ottenute mediante lisi ipotonica degli eritrociti. Gli antiossidanti liposolubili sono stati quantizzati mediante HPLC dopo estrazione. Il dosaggio di colesterolo e fosfolipidi è stato effettuato con metodiche convenzionali.

Risultati: Il contenuto in AT e GT nel plasma, VLDL ed LDL è risultato sovrapponibile nei pazienti rispetto ai controlli, mentre la concentrazione di Lic e BC è risultata nettamente ridotta sia nel plasma (0.047 ± 0.040 vs 0.197 ± 0.070 mmol/mol colest. per Lic e 0.040 ± 0.027 vs 0.090 ± 0.047 mmol/mol colest. per BC) che nelle frazioni lipoproteiche. Il contenuto in AT nelle membrane eritrocitarie isolate dai pazienti è risultato nettamente inferiore a quanto riscontrato nei controlli (0.73 ± 0.41 vs 2.44 ± 0.78 mmol/mol fosfolipidi). La supplementazione con AT ha determinato un aumento significativo della sua concentrazione plasmatica e lipoproteica sia nei pazienti che nei soggetti di controllo seppure in misura differente. Il contenuto eritrocitario di AT è risultato aumentato dopo supplementazione (1.22 ± 0.48 mmol/mol fosfolipidi) anche se non ha raggiunto i valori riscontrati nei controlli sia in condizioni basali che dopo supplementazione (3.97 ± 1.12 mmol/mol fosfolipidi).

Conclusioni: Il riscontro di basse concentrazioni di carotenoidi nel plasma e nelle lipoproteine e di basse concentrazioni di AT in membrane eritrocitarie di pazienti sottoposti a duodeno-cefalo-pancreasectomia suggerisce come tale intervento possa determinare alterazioni complesse della omeostasi degli antiossidanti liposolubili, non sempre corrette da supplementazione orale. Il dosaggio di tali antiossidanti potrebbe essere utilizzato per una valutazione accurata della funzionalità pancreatica.

LIVELLI SIERICI DI COMP IN PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE PRIMA E DOPO TRATTAMENTO CON INFILIXIMAB**F-12****M. Tampoia, P. Falappone*, A. Zucano, E. Scioscia *, G. Lapadula *, N. Pansini**

Laboratorio di Patologia Clinica I- Policlinico di Bari; *Clinica Reumatologica Universitaria -Policlinico di Bari

Scopo del lavoro: valutare i livelli sierici del COMP in pazienti affetti da Artrite Reumatoide in trattamento con Infliximab, e compararli con altri indici di laboratorio (VES e PCR) e di attività di malattia.

Pazienti e metodi: abbiamo studiato 28 pazienti affetti da AR di cui 23 femmine e 5 maschi, di età media 41anni (range 20-68), con durata di malattia 11.5anni (range 1-33). Tutti i pazienti sono stati valutati dal punto di vista clinico (VAS, HAQ score, tender joint e swollen joint, DAS28) e di laboratorio (VES, PCR) al tempo 0 e dopo 6 mesi di trattamento con Infliximab. Il dosaggio del COMP è stato eseguito con metodica immunoenzimatica quantitativa, AnaMar Medical (Menarini, Italy). L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il Wilcoxon test per le comparazioni e lo Spearman test per le correlazioni.

Risultati: i livelli circolanti di COMP, al tempo 0, hanno mostrato valori medi di concentrazione di 9.62 U/l (range 4.3-21.9) e nessuna correlazione statisticamente significativa con i seguenti parametri: durata di malattia (p=0.55), HAQ (p=0.14), VAS (p=0.21), livelli di PCR (p=0.14), valori di VES (p=0.95), SJC (p=0.09). Al contrario, una correlazione significativa è stata osservata al tempo 0 tra livelli di COMP e tender joint count (p=0.008) e tra livelli di COMP ed indice di Ritchie (p=0.04). Dopo 6 mesi di trattamento con Infliximab i livelli sierici del COMP sono risultati significativamente ridotti in 11 dei 13 pazienti ACR responders (p=0.006), ma sono rimasti invariati o sono aumentati nei pazienti ACR non responders (p=0.09). La riduzione nei livelli circolanti di COMP è stata più marcata nei pazienti che al tempo 0 presentavano valori più elevati di tale marcatore. In tali pazienti il decremento dei livelli di COMP, già significativo a 6 settimane di trattamento (p=0.01), è rimasto tale sino al termine del periodo di osservazione di 6 mesi (p=0.03).

Conclusioni: i nostri dati dimostrano che i livelli sierici di COMP, nei pazienti affetti da AR in trattamento con Infliximab, concordano con la risposta al trattamento (ACR responders), ma non correlano con i livelli di PCR e VES. Pertanto il COMP, potrebbe essere proposto, quale marcatore di danno cartilagineo, come test di laboratorio da eseguire nel follow-up dei pazienti affetti da AR.

INTEGRAZIONE TRA CLINICA E LABORATORIO NELLA GESTIONE DEL PAZIENTE MALNUTRITO**F-13****G. Devoto, G. Albalustri, C. Marchello, M. Musso, F. Fumanti**

Laboratorio Analisi lavagna (GE)

Scopo del lavoro. Implementare nella pratica clinica un protocollo diagnostico per identificare i soggetti ad alto rischio di malnutrizione o francamente malnutriti, ricoverati nei reparti di degenza.

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati 108 pazienti ricoverati nel dipartimento medico, 40 maschi e 68 femmine, età media 75aa. Per la valutazione dello stato nutrizionale abbiamo utilizzato i seguenti metodi: 1) Azad method (Riferimento clinico), Subjective Global Assessment (SGA), Prealbumina, Retinol Binding Protein (RBP), Indice di PINI. Abbiamo valutato la capacità diagnostica, la sensibilità e specificità dei test di screening in confronto al metodo di riferimento clinico.

Risultati. Sono riportati in tabella 1

Discussione e conclusioni. I risultati dimostrano che:

1) SGA, Prealbumina, RBP valutano correttamente lo stato nutrizionale dei pazienti e posseggono sufficienti sensibilità e specificità tali da essere applicati quali test di screening

2) PINI sovrastima, per effetto delle elevate concentrazioni di proteine della fase acuta, il numero di pazienti malnutriti.

Sulla base di queste risultanze abbiamo implementato nella pratica clinica un algoritmo diagnostico che integra SGA e Prealbumina e l'implementazione di trattamenti dietetici personalizzati nei pazienti malnutriti.

Tabella 1

Parametri	Ben Nutriti	Lieve Malnutrizione	Malnutriti	Specificità	Sensibilità
AZAD	40%	41%	19%	Riferimento	Riferimento
SGA	47%	40%	13%	83.7%	76.5%
RBP	40%	44%	16%	75%	83%
Prealbumina	41%	42%	17%	76.7%	83.1%
PINI	36%	35%	239	65.1%	73%

AUMENTATI LIVELLI DELL'INIBITORE DELLA FIBRINOLISI ATTIVABILE DALLA TROMBINA (TAFI) SONO CORRELATI ALLA PRESENZA DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 2 MA NON AI PRINCIPALI PARAMETRI LEGATI ALL'INSULINO RESISTENZA

F-14

R. Testa 1, C. Sirolla 1, M. Marra 1, S. Cenerelli 1, M. Boemi 1, I. Testa 2, A. Procopio 3, I. Maccaroni 4, F. Panicari 4, D. Fumelli 1, AR. Bonfigli 1

1 Istituto Nazionale Ricovero e Cura per Anziani, INRCA-IRCCS, Ancona 2 Istituto di Medicina Interna, Università dell'Aquila, L'Aquila, 3 Dipartimento di Patologia Molecolare e Terapie Innovative, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 4 Laboratorio Analisi, Ospedale di Recanati

Scopo del lavoro - L'ipofibrinolisi è considerato un aspetto fondamentale della sindrome da insulino resistenza che caratterizza il diabete mellito di tipo 2. Poichè nei pazienti diabetici di tipo 2 sono stati trovati livelli aumentati dell'inibitore della fibrinolisi attivabile dalla trombina (TAFI), scopo del nostro lavoro è stato quello di verificare le relazioni esistenti tra TAFI e i principali parametri legati all'insulino resistenza in questi pazienti.

Materiali e Metodi - Sono stati reclutati 145 pazienti diabetici di tipo 2 non complicati (67 uomini e 78 donne, età media \pm DS, 60.9 \pm 10.5 anni) e 139 controlli sani (59 uomini e 80 donne, età media \pm DS, 59.1 \pm 13.5 anni). Sono stati determinati i livelli di TAFI antigenico e i principali parametri metabolici della sindrome da insulino resistenza.

Risultati - La concentrazione del TAFI è stata trovata aumentata nei pazienti diabetici rispetto ai controlli ($p < 0.01$). Nei pazienti diabetici, l'analisi bivariata ha evidenziato una correlazione positiva tra il TAFI e l'età ($r = 0.36$, $p < 0.01$), il colesterolo totale ($r = 0.30$, $p < 0.01$), il colesterolo HDL ($r = 0.45$, $p < 0.01$) e il PAI-1 antigenico ($r = 0.22$, $p < 0.05$). Nei controlli non è stata trovata alcuna correlazione significativa. L'analisi di regressione lineare multipla ($R^2 = 39.8\%$, $p < 0.001$) ha confermato che i livelli di TAFI erano significativamente correlati all'età (r parziale = 0.25, $p = 0.035$) e al colesterolo HDL (r parziale = 0.39, $p = 0.013$) nei soggetti diabetici, mentre nessuna relazione è stata trovata nei soggetti sani.

Discussione e conclusioni - Questi risultati dimostrano che il TAFI è aumentato nei pazienti con diabete mellito di tipo 2 e suggeriscono che tale aumento è correlato alla presenza del diabete mellito di tipo 2 e non all'insulino resistenza.

LA PREVENZIONE DELLE CHD IN UNA POPOLAZIONE DI DONATORI PERIODICI

F-15

F. Abenavoli*, A. Dominijanni, D. Loiacono, F. Talerico^o, P. Puzzonìa, G. Zimatore^o

Servizio di Immunoematologia e Medicina TrASFusionale; ^oDivisione di Medicina Interna, Azienda Ospedaliera Pugliese Ciaccio, *Cattedra di Patologia Clinica, Università Magna Graecia, Catanzaro

Scopo del Lavoro. Nell'ambito del progetto di prevenzione delle CHD rivolta alla popolazione dei donatori periodici afferenti al Centro TrASFusionale dell'Azienda Ospedaliera "Pugliese Ciaccio" di Catanzaro, durante il trimestre Marzo-Maggio 2002, abbiamo arruolato soggetti ad elevato rischio CV, allo scopo di seguirli nel tempo presso il nostro "Lipid Center".

Materiali e metodi. 76 pazienti scelti per l'elevato rischio CV, tra 218 soggetti genericamente dislipidemici, erano affetti da FH (11), FHC (20), Ipercolesterolemia poligenica e almeno un altro fattore di rischio CV (22), Sindrome metabolica (22), Ipertrigliceridemia familiare (1). In questi soggetti è stato documentato l'elevato grado di rischio CV. 53 soggetti sono stati valutati a due anni e, pertanto, riconvocati nel trimestre Marzo - Maggio 2004. 21 soggetti, che non hanno risposto alla convocazione, sono viventi. Uno di essi, affetto da S. metabolica e non trattato, è stato colpito da IMA. Nella distribuzione aggiornata al 2004 dei casi, abbiamo riscontrato 9 soggetti con FH; 16 con FHC; 12 con Ipercolesterolemia poligenica; 15 con S. metabolica; 1 con Ipertrigliceridemia familiare. Abbiamo confermato la diagnosi nei 9 soggetti con FH e nei 16 con FHC. Abbiamo considerato in un unico gruppo i 12 soggetti affetti da Ipercolesterolemia poligenica ed i 15 con S. metabolica.

Risultati. La popolazione esaminata è stata suddivisa in due gruppi omogenei tra loro: soggetti con Iperlipemia Familiare (25) Gruppo I; soggetti con S. metabolica (27) Gruppo II. Nel I gruppo, tutti hanno seguito il trattamento con statine; il goal terapeutico indicato dalle linee guida ATP III e da quelle europee, è stato raggiunto in 18/25 soggetti; non abbiamo osservato la comparsa di nuovi fattori di rischio CV (obesità, DM, IA); non si sono verificati eventi CV maggiori. Nel II gruppo solo i soggetti che sono tornati periodicamente al centro (15) hanno seguito con buona continuità la terapia farmacologica, restando però lontani dal goal terapeutico. Il BMI medio è aumentato; i nuovi casi di ipertensione (4), di DM (2), di IFG (2) si sono manifestati tutti in questo gruppo. Si sono registrati inoltre un episodio di IMA e uno Stroke.

Discussione e Conclusioni. L'esiguità della casistica e il breve arco di tempo dell'osservazione non ci consente di trarre alcuna conclusione, ma l'esperienza fatta ci permette di riaffermare la validità del metodo di arruolamento dei soggetti in prevenzione primaria da una "popolazione opportunistica" da cui si possono enucleare e trattare i soggetti con alto rischio CV.

EMOGLOBINA TOULON: UNA RARA VARIANTE EMOGLOBINICA OSSERVATA DURANTE LA DETERMINAZIONE DELL'HB A1C**F-16****M. Mercadanti 1, D. Leone 2, F. Aiello 3, A. Califfi 1, D. Pancotto 2, C. Monica 1, G. Ivaldi 2**

1Laboratorio Analisi Emato-Chimiche, Azienda Ospedaliera Parma ; 2Laboratorio di Genetica Umana, Ospedali Galliera, Genova; 3Azienda Asl Parma

Scopo del lavoro. Il dosaggio dell'emoglobina glicata (A1c) è una indagine routinaria nel monitoraggio del diabete mellito. In commercio esistono numerosi metodi per questa determinazione; uno dei più utilizzati è quello in HPLC (cromatografia liquida ad alta prestazione). In letteratura esiste un ampio dibattito sulle eventuali interferenze causate da varianti emoglobiniche sul dosaggio dell'A1c nei vari metodi. Nel nostro lavoro presentiamo il caso di una rarissima variante rilevata nel corso del dosaggio dell'A1c.

Materiali e metodi. Il dosaggio dell'A1c e lo screening della variante sono stati eseguiti in HPLC (Variant II Bio-Rad, Hemoglobin A1c Program e β -thal Short Program). La caratterizzazione della variante Hb è stata condotta secondo un protocollo standard comprendente indagini biochimiche e molecolari anche per accertare eventuali difetti talassemici associati.

Risultati. Il valore dell'A1c risultava nella norma (5.7%) e il picco relativo appariva normale nella forma e ben separato dall'Hb Ao, mentre la seconda parte del cromatogramma presentava una anomalia morfologica, con picchi aggiuntivi eluiti dopo la Ao: ciò suggeriva la presenza di una variante emoglobinica non riconducibile però ad una delle varianti più frequenti quali Hb S o Hb C. Con il β -thal Short Program molto più chiaramente una frazione anomala coeluviva con l'Hb A2, mentre all'elettroforesi alcalina non si separava dalla Ao. L'analisi molecolare dei geni globinici dimostrava la presenza di una variante delle catene alfa nota come Hb Toulon (α 77 Pro β His). A successivi controlli della A1c, dopo uno, tre e dodici mesi, si confermava un identico tracciato cromatografico.

Discussione e Conclusione. La Hb Toulon è una rarissima variante, riportata in tre sole segnalazioni in letteratura, che presenta un lieve aumento dell'affinità per l'ossigeno. Il caso da noi osservato conferma la necessità di una attenta ispezione del cromatogramma dell'A1c, sottolinea la riproducibilità dell'indagine cromatografica anche in presenza di questa variante, documenta l'efficienza analitica del sistema HPLC nello svelare varianti non comuni. Secondo una stima riportata da L.Byr, 150.000 diabetici americani, su 16 milioni, sarebbero portatori di una delle oltre 850 varianti note dell'Hb; non è pertanto infrequente il riscontro di diabetici portatori di tali difetti genetici che in alcuni casi possono interferire nel dosaggio dell'A1c oppure essere utilmente segnalati dal sistema HPLC. È quindi importante poter utilizzare metodi analitici in grado di svelare componenti emoglobiniche anomale, che potranno essere successivamente caratterizzate per accertarne la rilevanza clinica.

PERCORSO DIAGNOSTICO PER LO SCREENING DEL DIABETE GESTAZIONALE**F-17****G. Ferrai, G. Zanette °, P. Cappelletti**

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Diabetologia °, AOSMA Pordenone

Premesse e Scopo del lavoro: Esistono linee guida internazionali (ADA, WHO) per lo screening del diabete gestazionale (GDM). Avendo applicato nel nostro ospedale, in accordo con la SOS di Diabetologia (CAD), quelle selezionate dal GdS D SIMeL, abbiamo inteso valutare i risultati organizzativi e clinici del percorso per la diagnosi del diabete gestazionale.

Materiali e metodi: Il percorso diagnostico è organizzato su due livelli, screening (GCT) all'ambulatorio del Laboratorio, approfondimento (OGGT 100) presso il CAD. Il test di screening per il diabete gestazionale (GCT), dosaggio della glicemia plasmatica dopo 60 minuti dall'assunzione di 50 gr di glucosio a digiuno, è stato reso facilmente accessibile alle pazienti 6 giorni alla settimana, nell'orario di apertura della Sala Prelievi. Il referto segnala la necessità di eseguire un approfondimento diagnostico, se la glicemia a 60' risulti ≥ 140 mg/dL. L'invito allo specialista facilita l'esecuzione dell'approfondimento (OGTT con 100 g. di glucosio) al CAD. Abbiamo valutato, dopo 15 mesi dall'applicazione del percorso verso i 15 mesi precedenti, il numero delle richieste di GCT, il numero di test con valore glicemico > 140 mg/dl, quante pazienti abbiano eseguito il test OGTT e quante abbiano evidenziato un diabete gestazionale, secondo con i criteri di Carpenter e Coustan.

Risultati: Il numero di richieste GCT ha avuto un incremento del 41,8%, passando da 531 a 753. Il 68,3% delle gestanti avevano un valore di glicemia < 140 mg/dL e il 31,7% (n. 239) ≥ 140 mg/dL. 220 pazienti hanno eseguito il test diagnostico OGTT (84 in Laboratorio, 136 al CAD). Secondo i parametri di Carpenter e Coustan, 44 pazienti avevano il diabete gestazionale (20,1%), 31 ridotta tolleranza al glucosio (IGT 15.5%), 74 sono risultate euglicemiche (33.6%), 1 non ha eseguito il test per vomito. La prevalenza di GDM è stata pari a 6.2% (44 pazienti su 703 screening).

Conclusioni: Il percorso definito, con la riorganizzazione della diagnostica su due livelli e i suggerimenti sul referto, ha migliorato l'accessibilità e la fruizione del servizio, con un aumento significativo dello screening per GDM, un uso più mirato del CAD e un coinvolgimento maggiore del Laboratorio nella diretta gestione dei pazienti. La prevalenza rilevata di GDM nella popolazione locale è in linea con la media nazionale, segnalando la corretta identificazione della patologia.

ABITUDINI ALIMENTARI E BIOMARCATORI NUTRIZIONALI NELLE FAMIGLIE DEI DIABETICI DI TIPO 1: LA MODERNIZZAZIONE DELLA MEDICINA DI LABORATORIO NELLO STUDIO DELLA POPOLAZIONE

F-18

°L. Rossi, E. Matteucci, S. Passerai, *M. Mariotti, I. Evangelista, O. Giampietro, °B. Innocenti

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa; *Servizio Dietetico, °U.O. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana

Scopo del lavoro: alimentazione e stile di vita influenzano profondamente lo stato di salute. Abbiamo confrontato stile di vita, apporto dietetico abituale di calorie e principali nutrienti, e biomarcatori dello stato nutrizionale nelle famiglie di pazienti con diabete mellito tipo 1 (T1DM) vs soggetti sani di controllo senza familiarità diabetica
Materiali e metodi: abbiamo usato l'European Prospective Investigation of Cancer and Nutrition questionnaire per valutare apporto dietetico e stile di vita in 38 pazienti con T1DM, 76 parenti, e 95 controlli sani. Sono stati registrati gli indici antropometrici e dosati biomarcatori nutrizionali, quali concentrazione plasmatica di albumina, ferro, lipidi, omocisteina, vitamine B9 e B12, escrezione urinaria di azoto, sodio e potassio.

Risultati: dall'analisi dei dati è emerso quanto segue: 1) Il 45% dei controlli sani era sovrappeso. L'età era associata con un progressivo incremento del peso corporeo ed una riduzione dell'attività fisica abituale a fronte di un invariato apporto calorico giornaliero. 2) L'apporto calorico derivato da grassi totali e colesterolo era superiore a quello consigliato dalle linee guida generali. Il consumo giornaliero di fibre superava i 25 g/d solo nel 27% di tutti i partecipanti allo studio. 3) L'apporto giornaliero stimato della vitamina idrosolubile B9 e delle vitamine liposolubili D ed E era insufficiente rispetto all'apporto dietetico raccomandato. 4) Abitudini alimentari e di stile di vita più sane erano maggiormente frequenti nelle donne e nei pazienti con T1DM (in questi ultimi, probabilmente, in seguito all'intervento educativo medico). Al contrario, il coinvolgimento dei familiari in termini di cambiamento di comportamenti non idonei appariva nullo.

Conclusioni: questo studio dimostra, nella popolazione pisana, la diffusione di comportamenti alimentari non corretti, tali da predisporre a sovrappeso, diabete e complicanze cardiovascolari. In particolare, il deficit combinato di vitamina B9 e vitamina E potrebbe influire negativamente sulla funzione endoteliale, poichè questi antiossidanti sono implicati nella modulazione di vie di traduzione del segnale ossido nitrico- ed eicosanoide-dipendenti.

RISPOSTA PRESSORIA SISTOLICA ALLO SFORZO NELLE FAMIGLIE DEI DIABETICI DI TIPO 1

F-19

*B. Innocenti, E. Matteucci, J. Rosada, M. Pallini, F. Fagnani, *I. Evangelista, C. Giusti, O. Giampietro, *L. Rossi

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa; *U.O. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana

Scopo del lavoro: nei parenti di primo grado dei diabetici di tipo 1 è riscontrabile un aumentato livello dei biomarcatori di danno ossidativo. Abbiamo confrontato la risposta al test elettrocardiografico da sforzo delle famiglie di pazienti con diabete mellito tipo 1 (T1DM) vs soggetti sani di controllo senza familiarità diabetica, ed analizzato eventuali relazioni tra la risposta al test ergometrico e la presenza di fattori di rischio cardiovascolare, tradizionali e non.

Materiali e metodi: abbiamo studiato 38 pazienti con T1DM (età 37 ± 12 a; durata di malattia 18 ± 11 a; 10 con retinopatia e 9 con nefropatia), 76 loro parenti di primo grado non diabetici (50 ± 13 a; 44 genitori e 32 fratelli/sorelle), e 95 controlli sani (44 ± 13 a), senza coronaropatia nota, che hanno eseguito test ergometrico al cicloergometro. Lo studio prevedeva: anamnesi clinica, valutazione del rischio cardiovascolare (peso corporeo, pressione arteriosa, fumo, attività fisica abituale, glicemia e insulinemia a digiuno, HbA1c, lipidi plasmatici, proteina C reattiva, fibrinogeno, folati, omocisteina, dosaggio dei tioli plasmatici come biomarcatori di ossidazione proteica) e test ergometrico.

Risultati: nessun soggetto ha presentato angina da sforzo. Rispetto ai controlli, i pazienti con T1DM raggiungevano valori maggiori di pressione sistolica massimale (SBP 191 ± 30 vs 176 ± 24 mmHg, $p < 0.05$). La SBP restava significativamente elevata al 2° (145 ± 27 vs 133 ± 19 , $p < 0.01$) e 4° minuto (131 ± 23 vs 119 ± 14 , $p < 0.05$) del recupero. Una ridotta risposta della frequenza cardiaca allo sforzo, espressa come incompetenza cronotropa (82 ± 9 vs $89 \pm 9\%$, $p < 0.01$), era osservabile. Anche i parenti presentavano valori superiori ai controlli di pressione sistolica al massimo dello sforzo (197 ± 27 vs 187 ± 30 , $p < 0.05$). Nei pazienti con T1DM, l'incremento di SBP indotto dall'esercizio normalizzato per il carico di lavoro massimale ($\Delta ExSBP/W$) era positivamente correlato solo con la durata della malattia ($R 0.7$, $p < 0.001$, t-value 5.0). Nei parenti e nei controlli, $\Delta ExSBP/W$ era associato ($R 0.4$, $p < 0.001$) positivamente con la concentrazione plasmatica di colesterolo totale (t 3.1) e un'indice di insulino-resistenza (homeostasis model assessment, HOMAIR) (1.9), negativamente con la concentrazione plasmatici dei tioli (-2.0) e l'attività fisica abituale (-2.3).

Conclusioni: abbiamo evidenziato una risposta pressoria anomala non solo dei probandi diabetici, ma anche nei loro parenti non diabetici e normotesi. In questi ultimi, tale risposta è correlabile con indici di insulino resistenza e di danno ossidativo.

POTERE ANTIOSSIDANTE DEL PLASMA (PAO) DIPENDENTE ED INDIPENDENTE DALL'ACIDO URICO: STUDIO NEL DIABETE MELLITO DI TIPO 2**F-20****M. Bagnati, E. Raiteri, M. Basile, B. Bardone, G. Bellomo**

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche, ASO Maggiore della Carità, Università del Piemonte Orientale, Novara

I vari metodi proposti per la valutazione della capacità antiossidante totale del plasma o del siero non appaiono in grado di discriminare il contributo dei singoli composti antiossidanti ed, in particolare dell'acido urico che rappresenta di gran lunga l'antiossidante più abbondante.

Scopo della ricerca: Valutare la possibilità di discriminare la capacità antiossidante totale del plasma dipendente e indipendente dall'acido urico in un gruppo di soggetti normali e di pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2, utilizzando una modificazione di un metodo attualmente disponibile in commercio

Metodi: È stato impiegato, per i dosaggi, un metodo disponibile in commercio (PAO, MedDia) che misura la riduzione del Cu(II) a Cu(I) ad opera dei riducenti (antiossidanti) plasmatici o serici in presenza di batocuproina che lega Cu(I) ed assorbe a 490 nm. Lo studio è stato condotto su plasma (eparina) isolato da 180 pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 e 31 soggetti normali di controllo. Il plasma è stato utilizzato senza pretrattamento o a seguito del trattamento per 60 minuti con uricasi (il trattamento abbassa i livelli di acido urico a valori indosabili). Sono stati inoltre misurati glicemia a digiuno, emoglobina glicata, microalbuminuria e acido urico con metodi convenzionali.

Risultati: Il PAO totale ed il PAO dopo trattamento del plasma con uricasi sono risultati significativamente ridotti nei pazienti rispetto ai controlli (930 ± 317 vs 1166 ± 209 U, $p=0.0003$ e 410 ± 207 vs 866 ± 245 U, $p<0.0001$). In entrambi i gruppi la concentrazione di PAO totale è risultata correlata alla concentrazione di acido urico ($r=0.853$, $p<0.0001$ per i controlli; $r=0.602$, $p<0.0001$ per i pazienti). La concentrazione di acido urico è risultata comparabile nei due gruppi (5.04 ± 1.25 vs 5.11 ± 0.94 mg/dL $p=0.746$, non significativo). Ciononostante, il contributo dell'acido urico al potere antiossidante è risultato maggiore nei pazienti rispetto ai controlli (520 ± 286 vs 299 ± 133 U, $p<0.0001$). Il PAO totale e quello indipendente da acido urico non hanno evidenziato alcuna correlazione significativa con l'età, il sesso, la durata del diabete, la glicemia, l'emoglobina glicata e la microalbuminuria

Conclusioni: (a) la valutazione della capacità antiossidante plasmatica mediante misurazione della capacità riducente il rame evidenzia una significativa riduzione nei pazienti con diabete mellito di tipo 2, in accordo con quanto dimostrato con altri metodi; (b) che tale riduzione interessa in modo particolare i composti antiossidanti diversi dall'acido urico; (c) che il metodo proposto, ancorché di semplice impiego, può essere efficacemente utilizzato per una valutazione più completa dello status antiossidante.

VALUTAZIONE SUL DOSAGGIO DEGLI ELETTROLITI E DEL GLUCOSIO SU SANGUE INTERO IN EMERGENZA**G-01****M. Daves, M. Floreani, S. Scala, G. Cosio, F. Rizza**

Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano

Scopo del lavoro. Il miglioramento dei tempi di risposta è una delle finalità del Laboratorio: in questa ottica abbiamo valutato due metodi per il dosaggio di alcuni parametri biochimici in urgenza-emergenza, uno su sangue intero che offre risultati quasi in tempo reale e quello utilizzato normalmente in urgenza che oltre al tempo di esecuzione richiede la centrifugazione del campione. Nell'arco di 5 mesi sono giunte dal pronto soccorso 50 richieste emergenti per la valutazione del "profilo emogasm metabolico" su strumento ABL725, che comprende la determinazione di parametri emogasanalitici e di glucosio, potassio, sodio, cloro e calcio ionizzato. A tutti i pazienti veniva richiesta anche l'esecuzione degli stessi parametri su plasma con lo strumento LX20. Abbiamo quindi potuto confrontare i valori degli analiti misurati sia su sangue intero che su plasma e valutare l'attendibilità di un metodo che in emergenza offre il vantaggio della rapidità di esecuzione.

Materiali e metodi. Le richieste riguardavano 50 pazienti (27 maschi, 18 femmine), di età compresa tra i 9 e i 93 anni (media 68.9). Le determinazioni su sangue intero eparinizzato sono state eseguite con l'analizzatore ABL 725 (Radiometer Copenhagen), mentre quelle su plasma litio eparina con l'analizzatore LX20 (Beckman Coulter). Per confrontare i valori ottenuti abbiamo calcolato il coefficiente di correlazione per ottenere il grado di associazione lineare tra i risultati delle misure effettuate dai due analizzatori.

Risultati. Valori (media \pm deviazione standard) ottenuti con ABL 725: potassio $4 \text{ mmol/L} \pm 0.74$; sodio 137 ± 3.30 ; cloro 104 ± 6.39 ; glucosio $144 \text{ mg/dl} \pm 58.24$ e calcio ionizzato $5 \text{ mmol/L} \pm 0.31$. Valori ottenuti con LX20: potassio $4 \text{ mmol/L} \pm 0.87$; sodio 138 ± 3.33 ; cloro 101 ± 6.02 ; glucosio $150 \text{ mg/dl} \pm 62.90$ e calcio totale $9 \text{ mg/dl} \pm 0.69$. Dai confronti effettuati emerge una buona correlazione per potassio ($r=0.93$), sodio ($r=0.95$), cloro ($r=0.87$) e glucosio ($r=0.98$). Dall'analisi delle curve di regressione di questi quattro analiti si osserva che le intercette presentano al massimo un valore di 14 (sodio) e i coefficienti angolari oscillano tra 0.86 (cloro) e 1.09 (potassio). Non sono invece confrontabili direttamente i valori di calcio ionizzato e calcio totale per le variabili associate (valore del pH, concentrazione albuminica).

Discussione e conclusione. Da tale studio risulta evidente come i dosaggi di potassio, glucosio, cloro e sodio eseguiti in emergenza su sangue intero siano ben correlabili con quelli ottenuti su plasma con il vantaggio di fornire al clinico i risultati quasi in tempo reale.