Riassunti delle Comunicazioni Poster e delle Comunicazioni Selezionate

GRUPPO A:	Diagnostica ematologica	A-01 - A-24	137
	Diagnostica della coagulazione	A-25 - A-30	149
	Diagnostica del sistema nervoso centrale	A-31	152
GRUPPO B:	Diagnostica immunologica	B-01 - B-18	152
	Diagnostica nelle infiammazioni	B-19	161
	Diagnostica allergologica	B-20 - B-23	162
GRUPPO C:	Malattie genetiche	C-01	164
	Medicina molecolare	C-02	164
	Biologia molecolare	C-03 - C-14	165
	Diagnostica microbiologica	C-15 - C-23	171
GRUPPO D:	Indicatori di neoplasia	D-01 - D-03	175
	Indicatori di lesione d'organo	D-04 - D-11	177
	Comunicazione Selezionata	*D-12*	181
	Malattie metaboliche	D-13 - D-16	181
	Comunicazione Selezionata	*D-17*	183
	Indicatori di metabolismo osseo	D-18	184
	Evidence Based Medicine	D-19 - D-24	184

GRUPPO E:	Biochimica e patologia cellulare	E-01 - E-02	187
	Enzimi – Ormoni - Proteine – Lipidi - Lipoproteine	E-03 - E-11	188
	Comunicazione Selezionata	*E-12*	193
	Automazione	E-13 - E-14	193
	Qualità - Accreditamento - Certificazione	E-15 - E-19	194
	Comunicazione Selezionata	*E-20*	197
GRUPPO F:	Organizzazione - Gestione	F-01 - F-22	197
	Comunicazioni Selezionate	*F-23 - F-26*	208
GRUPPO G:	Valutazione metodi	G-01 - G-21	210
	Valutazione sistemi	G-22 - G-28	221

Riassunti delle Comunicazioni Poster segnalati all'Editorial Board

GRUPPO A: A-03, A-06, A-25, A-26, A-27, A-30, A-31

GRUPPO B: B-02, B-04, B-12, B-14, B-16, B-17, B-20, B-21, B-22

GRUPPO C: C-01, C-06, C-09, C-12, C-13, C-19, C-20

GRUPPO D: D-01, D-02, D-03, D-04, D-05, D-08, D-10, D-11, D-15, D-16, D-18, D-22

GRUPPO E: E-02, E-05, E-10, E-13

GRUPPO F: F-17

GRUPPO G: G-01, G-04, G-19, G-28

I riassunti delle Comunicazioni Poster e delle Comunicazioni Selezionate sono riprodotti dal materiale fornito dagli Autori, impaginato secondo le esigenze della Rivista

INTRODUZIONE DI UN SISTEMA GESTIONALE AUTOMATIZZATO NEL LABORATORIO DI EMATOLOGIA:IMPATTO SUI PROCESSI OPERATIVI DEL PERSONALE TECNICO

A-01

L. Favaretto, E. Celentano, R. Gubertini, G. Perossa, L.Visintin
Dipartimento di Medicina di laboratorio AOUTS Trieste

Scopo del Lavoro. Valutare l'impatto dell'introduzione di un sistema gestionale automatizzato sull'operatività del personale tecnico.
Materiali e Metodi. La nostra Struttura Semplice di Ematologia utilizza 4 analizzatori Coulter LH 750 (3 in routine ed 1 in urgenza) dotati di un sistema tecnico-gestionale automatizzato dedicato all'ematologia chiamato Hematology Manager2 (HM2). HM2 dialoga con gli analizzatori e il LIS visualizzando le informazioni ed i flussi dati su una serie di client dislocati presso gli analizzatori e le sedi di validazione medica e analisi microscopica. Al fine di produrre un quadro dettagliato dei carichi di lavoro e azioni di responsabilità del personale tecnico, sono state monitorate alcune giornate lavorative "tipo" sia quantitativamente che qualitativamente.
Risultati. Vengono processati mediamente 700 campioni/die. Di questi circa il 75% è validato automaticamente da HM2, grazie alle regole reflex impostate dal laboratorio, il restante 25% è validato dal personale medico. Il personale tecnico interviene sul 27% dei campioni da validare che necessitano di striscio, diluizione, ripetizioni. L'analisi qualitativa ha individuato i seguenti step operativi: AVVIAMENTO Start up, verifica di qualità, allineamento strumentale (analisi di sei emocromi sui 4 strumenti e verifica statistica del dato). LAVORAZIONE Lavorazione dei campioni in completo accesso random, esecuzione e refertazione in priorità di alcuni campioni oncologici, striscio dei campioni segnalati in automatico da HM2 o dal validatore medico, eventuali ripetizioni o diluizioni, monitoraggio on-line del flusso dat i. CONCLUSIONE Verifica della presenza di campioni pendenti, shut down strumentale.
Discussione e conclusioni. L'introduzione del sistema HM2 ha riorganizzato ed ottimizzato tutte le fasi del processo analitico. Alcune competenze e operazioni di controllo e verifica del dato sono passate al gestionale, automatizzando i processi e rendendoli fruibili a tutti, consentendo che tutti intervengano indifferentemente su qualsiasi step operativo.
L'accentramento delle informazioni dell'intera isola ematologica permette di monitorare in tempo reale lo stato della lavorazione, migliorando e snellendo l'esecuzione della routine. Il personale tecnico ha così allargato le proprie competenze ed è divenuto responsabile, oltre che del dato analitico (verifica del QC, performance analitiche, interferenze conosciute), anche del flusso dati, cioè è garante dell'intero processo operativo.

DEFINIZIONE DI PROTOCOLLI DA PARTE DEL PERSONALE TECNICO PER LA GESTIONE PRATICA DEL CAMPIONE EMATOLOGICO

A-02

L. Favaretto, E. Celentano, R. Gubertini, G. Perossa, L. Visintin
Dipartimento di Medicina di laboratorio AOUTS Trieste

Scopo del Lavoro. Attuazione di protocolli operativi nella gestione dei campioni ematologici con interferenze note.
Materiali e Metodi. La nostra Struttura Semplice di Ematologia utilizza 4 analizzatori Coulter LH 750 (3 in routine ed 1 in urgenza) dotati di un sistema tecnico-gestionale automatizzato dedicato all'ematologia chiamato Hematology Manager2 (HM2). Coulter LH750 esegue i conteggi cellulari con tecnologia AccuCount, la formula leucocitaria, NRBC e RET con tecnologia VCS - Volume, Conduttività (densità e forma nucleo; rapporto nucleo/citoplasma), Scatter laser (granulazioni citoplasmatiche). Il sistema presenta una serie di messaggi specifici in caso di anomalie di conteggio e presenza di cellule patologiche.
Risultati. L'interpretazione dei diversi messaggi che gli analizzatori forniscono in lavorazione ha permesso di definire una serie di protocolli interpretativi che portano alla produzione di un dato strumentale corretto da eventuali interferenze. Il gestionale HM2 interpreta i messaggi strumentali e i dati numerici impedendo la validazione automatica del campione, i messaggi generati suggeriscono l'intervento da parte del personale tecnico che agisce secondo protocollo. Sono stati definiti i seguenti protocolli di intervento: aggregati piastrinici, agglutinazione eritrocitaria, campione lipemico, iperbilirubinemia. La definizione del protocollo consta delle seguenti fasi: blocco del campione grazie a parametri spia e messaggi di sospetto, interpretazione degli istogrammi e citogrammi, azione correttiva (richiesta prelievo in CPT, termostatazione, diluizione), rilascio del dato.
Discussione e Conclusioni. L'automatizzazione dei processi analitici nel laboratorio consente di evidenziare in tempi brevi i campioni che necessitano di un intervento tecnico per la garanzia della qualità del dato. Grazie alla presenza di specifiche segnalazioni e dell'accuratezza dei dati analitici i campioni fermati per interferenze vengono gestiti in modo adeguato senza rallentare la tempistica globale di refertazione. Le competenze tecniche rimangono fondamentali nel passaggio dei dati alla fase di refertazione medica a garanzia della qualità del dato analitico.

MULTIPLEX RT-PCR UNA STRATEGIA PER LA RAPIDA IDENTIFICAZIONE DEI PIU' IMPORTANTI GENI DI FUSIONE DELLA LEUCEMIA ACUTA LINFOIDE (LAL)

A-03

L. Elia, S. Niccoli, M. Nanni, D. Scappaticci, C. Ariola, A. Negulici
Dip. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia Univ. "La Sapienza"-RM/SIMEL DSLB-Lazio.

*Scopo del lavoro.*Negli ultimi anni l'identificazione dei geni coinvolti nelle alterazioni cromosomiche responsabili della trasformazione neoplastica delle cellule del midollo osseo,ha consentito l'utilizzo di metodiche di biologia molecolare per la diagnosi,il monitoraggio e la valutazione della risposta alla terapia delle Leucemie Acute.L'utilizzo di tali tecniche quali l'RT-PCR,ci permette di individuare la presenza all'esordio di malattia di alcuni marcatori molecolari e di utilizzarli come marcatori diagnostici sia per la classificazione dei pazienti in diverse classi di rischio, che per l'identificazione di una terapia sempre più spec *ifica e mirata alle caratteristiche biologiche della malattia*
Materiali e metodi. Presso il laboratorio di Biologia Molecolare della Cattedra di Ematologia dell'Università degli Studi di Roma,uno dei tre laboratori Italiani insieme a Napoli e a Torino in cui si centralizzano le Leucemie Acute provenienti da tutti i centri Italiani(36 centri)che aderiscono al GIMEMA(Gruppo Italiano per le Malattie Ematologiche dell'Adulto),è stato messo a punto un sistema di Multiplex RT-PCR che consente,in poche ore,di rilevare la presenza dell'eventuale marcatore molecolare in un paziente affetto da LAL alla diagnosi,identificandolo tra le più comuni alterazioni genetiche che si associano alle Leucemie Acute quali:BCR/ABL con le due isoforme p190ep210, ALL1/AF4,ALL1/ENL,TEL/AML1,SIL/TAL, E2A/PBX1 e il nuovo trascritto di fusione NUP98/RAP1GDS1.
Risultati. Dal 1999 ad oggi sono stati studiati 753 pazienti affetti da LAL all'esordio,263(34.9%)mostravano una positività per uno d ei trascritti di fusione esaminati,in 12pazienti(1.5%)l'analisi molecolare non era valutabile.Sugli stessi campioni è stata effettuata anche l'analisi citogenetica ed stata dimostrata una completa corrispondenza con questa metodica.Inoltre,l'incidenza delle lesioni genetiche trovate nei pazienti era simile alla frequenza normalmente riportata in letteratura.La particolare sensibilità e specificità della metodica ci ha consentito l'utilizzo anche per il monitoraggio della malattia minima residua.
Discussione e Conclusioni. Questa strategia di PCR rappresenta un sistema economicamente vantaggioso, perché con solo una reazione di PCR riesce a studiare simultaneamente le lesioni genetiche più frequenti delle LAL all'esordio,ed è clinicamente utile perché grazie alla rapidità e alla specificità della diagnosi, i pazienti risultati positivi ,considerati quindi ad alto rischio di recidiva, possono essere sottoposti ad un trattamento chemioterapico più aggres sivo e possono avviare la ricerca di un donatore di midollo osseo.La Multiplex RT-PCR risulta quindi una metodica molecolare che garantisce un'accuratezza e un'appropriatezza diagnostica fondamentali per la cura del paziente oncoematologico.

ALTERNATIVE TREATMENT WITH GLYCOPROTEINS IIb/IIIa INHIBITORS IN A PATIENT WITH HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA (HIT) AND CARDIAC SURGICAL EMERGENCY

A-04

P. Consiglio, S. De Michele, G. Calabrò, A. Aiosa, C. Di Maio, G. Vitale, M. Di Quattro, I. Menozzi
A.R.N.A.S Ospedale Civico, Palermo, Italy, Laboratorio Analisi

Introduction: Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is an uncommon but potentially devastating complication of anticoagulation with unfractionated heparin (UFH) or low molecular weight heparin (LMWH). HIT was defined as a decrease in platelet to less than 50 % or to less than 100 x 109/L and positive laboratory HIT assay. The need for anticoagulation in patients requiring cardiac surgery and the usual unavailability of thrombin inhibitors during emergency implies the use of alternative therapies such as glycoproteins IIb/IIIa inhibitors in patients with HIT.
Case report: 37-years-old and overweight man presenting palpitations, ventr icular tachycardia, an enlarged left ventricle, hypocinesia and a small apical thrombus. PLT 252 x 109/L. LMWH heparin and then UHF and subsequently LMWH were performed. On the 5th day PLT 174 x 109/L with an unexpected increase of the apical thrombus; heparin dosage was augmented. On the 13th day PLT 82 x 109/L and a therapy with AO and heparin was performed. On the 15th day PLT 24 x 109/L, therefore the treatment with heparin was interrupted. Two successive ELISA tests with anti-Heparin/PF4 antibodies were highly positive. On the 17th day PLT 92 x 109/L. The increase of the apical thrombus to more than one-third of the cavity, the loss of adherence to walls, the augmented mobility and a sudden thromboembolism of the inferior limbs prompted a cardio surgical emergency. The unavailability of thrombin-inhibitors determined the use of glycoproteins IIb/IIIa inhibitors. An abciximab bolus before the operation, and later infusion plus UHF in the CEC, were performed. Surgical ex eresis of the ventricular thrombus and thromboembolectomy at the aortic iliac carrefour were performed. Concentrated platelets were transfused and OAT restored. No hemorrhagic event occurred post-operation and during recovery, platelets was normal.
Conclusion: the use of glycoproteins IIb/IIIa inhibitors is an effective therapeutical alternative in cardiac surgery of patients with HIT.

UTILIZZO DEL SOFTWARE OPERATIVO "HEMALINK" PER LA GESTIONE COMPLETA DELL'ESAME EMOCROMOCITOMETRICO: PRIMA ESPERIENZA PRESSO IL LABORATORIO CENTRALIZZATO DEL POLICLINICO S.ORSOLA-MALPIGHI

A-05

M.G. Silvestri, G. Covili Faggioli, T. D'Atena , F. Fortuna, R. Lamedica, M. Luongo
U.O. Pat. Clinica, Az. Ospedaliero-Universitaria Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

Scopo del lavoro. Il concentratore ematologico Hemalink BAYER è un software che consente la validazione completa degli esami emocromocitometrici, con l'ausilio delle informazioni anagrafiche e analitiche.
Le caratteristiche del software sono:
1. comunicazione con il LIS del laboratorio in maniera modulare;
2. acquisizione a video dei dati anagrafici del paziente (età, sesso, reparto di provenienza) e dei risultati numerici, grafici, flags strumentali , provenienti dagli analizzatori collegati;
3. possibilità di configurare criteri di validazione personalizzati;
4. la gestione real time del controllo di qualità.
Materiali e metodi. Nel nostro laboratorio vengono eseguiti circa 1400 esami emocromocitometrici al giorno (routine + urgenze) utilizzando cinque contaglobuli ADVIA 2120 BAYER, dislocati in diverse aree. Hemalink opera mediante un server che ospita il database dei risultati e delle informazioni paziente e quattro postazioni client da cui è possibile validare integrando i risultati numerici, i flag morfologici e strumentali, i grafici e gli istogrammi e la funzione di delta check verso i risultati precedenti. I campioni che ricadono entro i limiti di validazione vengono immediatamente resi disponibili al LIS di laboratorio, quelli "patologici" vengono trattenuti in attesa di verifica/validazione. Durante la verifica con un semplice click sulle apposite icone il campione viene marcato per la ripetizione o la preparazione dello striscio per l'osservazione microscopica. La formula leucocitaria viene totalizzata utilizzando direttamente la tastiera per introdurre i valori e i commenti che potranno così pervenire direttamente al LIS.
Risultati. Nella nostra esperienza il 50% dei campioni viene validato automaticamente, il 42% dopo osservazione critica dei dati anagrafici, numerici e dei grafici e circa l'8% viene osservato al microscopio (dati preliminari, considerando pazienti interni ed esterni).
Conclusioni. Hemalink si rivela lo strumento ideale per un'efficiente validazione dei campioni ematologici e dei controlli di qualità direttamente presso la postazione microscopica, con l'ausilio delle informazioni relative al campione in analisi e dei grafici strumentali senza la stampa cartacea dell'analizzatore e senza intervenire sul LIS, migliorando così il Turn Around Time (TAT) dell'esame emocromocitometrico. Le postazioni di validazione possono operare da località remote quali laboratori satellite purchè cablati sulla stessa rete ospedaliera. Vi è, inoltre, la possibilità di creare un database di pazienti completo di tutti i dati numerici, grafici e microscopici a cui ricorrere in caso di necessità.

CONCENTRAZIONE MONOCITARIA E LIVELLO DEL COLESTEROLO PLASMATICO NELLE ANEMIE MEGALOBLASTICHE: DUE PARAMETRI SPESSO TRASCURATI

A-06

M. Buttarello, P. D'Altoè, V. Temporin, E. Piva, M. Plebani
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera/Universita'-USL16, Padova

Introduzione e scopo del lavoro. Le anemie megaloblastiche sono patologie carenziali (B12 e/o ac.folico) caratterizzate da anemia macrocitica, eritropoiesi inefficace e riduzione della vita media eritrocitaria. Spesso è presente leucopenia con modica neutropenia. E' noto un coinvolgimento di tutte le mucose e possono coesistere disturbi neurologici. Le alterazioni biochimiche descritte sono costituite da aumento della LAD dovuto all'eritropoiesi inefficace e da sporadiche segnalazioni di diminuzione del colesterolo plasmatico. Indagini recenti indicano una possibile diminuzione della concentrazione monocitaria. In questo lavoro vengono descritti il comportamento della concentrazione del colesterolo plasmatico e dei monociti.
Materiale e metodi.Sono stati studiati 3 soggetti (40-70 aa) con anemia (Hb 4.9-7.8g/dL) da carenza di B12, alla diagnosi e dopo 4, 7 e 19 giorni dall'inizio della terapia per via parenterale. L'emocromo è stato ottenuto su XE2100 (DASIT, Milano),i parametri reticolocitari su ADVIA120 (BAYER, Milano)e i test biochimici su HITACHI modularDP (ROCHE, Milano).
Risultati. L'efficacia della terapia è testimoniata dalla riduzione del volume medio dei reticolociti già in 7° giornata (media:120.2fL).
I monociti, pressoché assenti alla diagnosi (media 0.07x109/L)sono aumentati di circa 10 volte il giorno 4 e tali sono rimasti fino al giorno 19. Il colesterolo totale (media alla diagnosi 3.0 mM/L), pur restando a valori inferiori a quelli medi per età, aumenta di circa il 20% al 4° giorno e rimane relativamente stabile fino al giorno 19 (media 3.68 mM/L).
Discussione e conclusioni. I monociti si sono dimostrati un parametro interessante per la diagnosi e dalla rapida e significativa risposta post-terapia(liberazione midollare da normalizzazione dell'emopoiesi?). L'aumento è risultato più rapido di quello dei granulociti neutrofili e ciò potrebbe essere spiegato con il minor tempo di maturazione intramidollare dei monociti. Il comportamento del colesterolo potrebbe dipendere da ridotto assorbimento per alterazioni delle mucose (ma ciò contrasterebbe con il comportamento opposto tenuto dai trigliceridi) oppure potrebbe essere dovuto ad una aumentata utilizzazione midollare in fase conclamata (possibile marker di attività proliferativa).

INTERVALLI DI RIFERIMENTO DEL PARAMETRO "FRAZIONE DI PIASTRINE IMMATURE" (IPF) DEL SISTEMA EMATOLOGICO SYSMEX XE-2100

A-07

A. Grillo, P.P. Biancotti, F. Martinelli, A. Cazzola, G. Sabbadin
Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche "Baldi e Riberi", Azienda Ospedaliera S.Giovanni Battista (Molinette) Torino

Scopo del lavoro: Sysmex XE-2100 con software IPF-Master determina con metodo ottico-laser in fluorescenza, dopo colorazione dell'RNA residuo in esse contenuto, la Frazione di Piastrine Immature (IPF). Tale parametro risulta utile, come dimostrato in recenti studi, nella diagnosi differenziale delle piastrinopenie (con valori inferiori alla norma nella ridotta produzione midollare e superiori nell'aumentato consumo periferico). Scopo del lavoro è la valutazione degli intervalli di riferimento (IR) in soggetti normali e il loro confronto con i dati disponibili in letteratura.
Materiali e metodi: Su 258 campioni di donatori volontari e sani (138 M,120 F),di età compresa tra 18 a 66 anni, con valori ematologici nei limiti di riferimento e senza flags strumentali, sono stati determinati gli IR con statistica non parametrica (range 2.5°-97.5° percentile, mediana).Eventuali differenze legate al sesso sono state esaminate con test di Kruskal-Wallis (significativo per $p<0.05$) per i parametri IPF %, IPF # (x10^9/L),conteggio PLT(x10^9/L). Con lo stesso metodo è stata valutata la differenza per classi di età, suddividendo i soggetti in 3 gruppi: fino a 35 aa (n=81), da 36 a 49 aa (n=96), da 50 a 65 aa (n=81).
Risultati: IPF% e IPF # hanno distribuzioni di frequenza non normali per asimmetria. Gli IR ottenuti sono: IPF% da 0.85 a 5.26, mediana (md) 2.00 nel gruppo "tutti"; da 1.05 a 5.36, md 2.20 nei maschi (M); da 0.80 a 5.39, md 1.90 nelle femmine (F). IPF # (x10^9/L): da 2.30 a 11.35, md 4.80 nel gruppo tutti; da 2.25 a 10.71, md 5.15 in M; da 2.30 a 11.89, md 4.75 in F. E' risultata significativa la differenza M/F (come già noto in letteratura) per conteggio PLT(md-M = 229, md-F= 246, con $p<0.0001$) e per il parametro IPF% ($p= 0.0124$) md-M =2.20, IR 1.05-5.36; md-F =1.90,IR 0.80-5.39. Non sono risultate significative le differenze degli altri parametri, compreso IPF?, per sesso e di tutti i parametri per classi di età.
Discussione e conclusioni: I risultati del nostro studio evidenziano che nel valutare il parametro IPF è opportuno considerare non solo IPF% ma anche IPF?. Per quest'ultimo parametro le differenze per sesso non sono significative e si può utilizzare un IR unico. Gli IR ottenuti sono confrontabili ai dati della letteratura: la conferma e la confrontabilità degli IR tra laboratori diversi dimostra i vantaggi di questo metodo rispetto ai metodi citofluorimetrici tradizionali, tra loro difficilmente confrontabili. Pertanto l'uso di XE-2100,sfruttando una completa automazione, consente la standardizzazione del metodo, fornendo un parametro di facile acquisizione e di utilità clinica nella valutazione e monitoraggio del paziente trombocitopenico.

INDICI EMATOLOGICI DEL SISTEMA SYSMEX XE-2100 NELLA VALUTAZIONE DELLA CARENZA DI FERRO IN PAZIENTI DIALIZZATI

A-08

M. Maconi°, B. Casolari°, R. Baricchi°, F. Cardarelli§, M. Brini°
°Dipartimento di Patologia Clinica, Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia
§Dipartimento di Medicina II, Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia

Scopo del lavoro: I parametri % Hypo e CHr dei sistemi ematologici Bayer sono stati validati come utili indicatori nella valutazione e nel trattamento dell'anemia nell'Insufficienza Renale Cronica (IRC). Scopo del nostro lavoro è stato di valutare la correlazione e l'utilità diagnostica dei parametri RET-He, RBC-He del sistema Sysmex XE-2100 e di un nuovo indice ematologico (IPO-He, attualmente allo studio) derivato da Hgb, Hct e RET-He rispetto ai parametri %Hypo e CHr.
Materiali e Metodi: I valori di CHr, %Hypo, RET-He, RBC-He e IPO-He, ottenuti da 54 pazienti in dialisi in trattamento con rHuEPO, sono stati valutati in termini di: intervalli di riferimento 2.5° – 97.5° percentile (IR95), confronto RET-He vs CHr e RBC-He, IPO-He vs %Hypo con correlazione di Pearson, analisi del Bias secondo Bland-Altman ed efficacia diagnostica con analisi curve ROC. Il cut-off di positività è stato posto a 6% per %Hypo e 29.0 pg per CHr, secondo le attuali Linee Guida della A.O. Reggio Emilia.
Risultati: Gli IR95 sui 54 pazienti valutati sono: CHr 27.90-39.18; RET-He 23.86-41.36; %Hypo 0.20-19.25; IPO-He 1.55–16.49; RBC-He 25.86–35.42. La correlazione di Pearson è risultata ottima per RET-He vs CHr (coeff. $r=0.93$, $p<0.0001$) e per IPO-He vs %Hypo ($r=0.92$, $p<0.0001$). Molto debole, pur se statisticamente significativa, per RBC-He vs %Hypo ($r= -0.47$, $p<0.0010$). Il bias medio di RET-He vs CHr è di 1.21 pg (IC 95% da 0.77 a 1.66) mentre per IPO-He vs %Hypo è di 1.04 (IC 95% da 0.60 a 1.49). Dei 54 pazienti analizzati, 10 avevano valori di Hypo > 6%. L'area sotto la curva ROC (AUC) per IPO-He era di 0.950, con IC 95% da 0.895 a 1.000. Utilizzando un cut-off di 6.2% per IPO-He si ottiene Efficacia diagnostica=89%, Sensibilità=90%, Specificità=88.6%. Scarse le performance diagnostiche di RBC-He, con una AUC pari a 0.792 (IC 95% da 0.652 a 0.932). 4 pazienti su 54 avevano valori di CHr<29.0 pg. L'area sotto la curva ROC per RET-He è di 1.000 (IC 95% da 1.00 a 1.00). Utilizzando per RET-He un cut-off di 29.4 pg si ottiene Efficacia diagnostica=100%, Sensibilità=100%, Specificità=100%.
Discussione e Conclusioni: Il nostro studio conferma l'ottima concordanza diagnostica di RET-He con CHr anche nei pazienti in dialisi, come già evidenziato da altri studi. Al contrario RBC-He, se pur di documentata utilità nelle anemie microcitiche da carenza di ferro, non è correlato con %Hypo e non sembra utile nella valutazione e nel trattamento dell'anemia della IRC. Molto interessante è l'indice XeDF-Ipo, con risultati ben cor relati e concordanti con %Hypo, che meritano conferma su una casistica più ampia di pazienti rispetto all'attuale studio.

UTILITA' DEI PARAMETRI POSIZIONALI DI LH 750 IN ALCUNE PATOLOGIE LINFOCITARIE

A-09

C. Piccinini, B. Biasioli
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, AOU Trieste

Scopo del lavoro. Coulter LH 750 misura i valori medi (M) e l'eterogeneità (Deviazione Standard o SD) di Volume (V), Conduttività (C) e Scatter (S), chiamati Parametri Posizionali (PP), delle sottopopolazioni leucocitare. Studi precedenti hanno descritto come la variazione dei PP rispetto alla popolazione normale corrisponda a modificazioni morfologiche cellulari (1). Le differenze dei PP in diversi tipi di disordini linfoproliferativi e patologie linfocitarie reattive (PR) rispetto ai linfociti normali sono state descritte ma non completamente definite. Lo scopo di questo studio è di valutare l'utilità dei PP nell'indirizzare il sospetto diagnostico in alcune patologie linfocitarie.
Materiali e metodi. Sono stati utilizzati tre Coulter LH 750 che impiegano, per l'analisi della formula leucocitaria, la tecnologia VCS: Volume (tecnologia AccuCount su principio Coulter), Conduttività (densità e forma nucleo; rapporto nucleo/citoplasma), Scatter laser (granulazioni citoplasmatiche). Abbiamo analizzato i PP di: 46 Leucemie Linfatiche Croniche B (LLC), 23 patologie reattive (PR) (Epstein-Barr Virus, Citomegalo), 18 altri disordini linfoproliferativi (ADL) (differenti tipi di Linfomi: a cellule T, Mantellare, Linfocitico, a grandi cellule B, SLVL; Waldenström e Plasmacitoma). Per ogni campione sono stati raccolti l'immunofentipo, la sierologia, i dati clinici e dell'osservazione microscopica.
Risultati. SD V e SD C dei campioni patologici è significativamente ($p<0.0001$) più alta rispetto ai normali (SD V AUC 0.946, Sensibilità(Se) 87.4, Specificità(Sp) 100; SD C AUC 0.887, Se 85.0, Sp 100)
M V ed SD V sono significativamente differenti tra i diversi gruppi patologici ed il gruppo dei normali (pd"0.0001): MV di LLC è più basso dei normali (AUC 0.915,
Se 80.4, Sp 100) e di PR e ADL (AUC 0.929, Se 80.4, Sp 90.2), SD V di LLC è più alto dei normali (AUC 0.940, Se 84.8; Sp 100), ma più basso di PR e ADL; MV ed SD V di PR e ADL non distinguono tra i due gruppi ma sono più alti dei normali.
MC in PR è più basso che in ADL ($p<0.05$)
SD S differenzia i normali da LLC/PR ($p<0.0001$) e PR da ADL ($p=0.0013$).
M S differenzia i patologici dai normali e i vari gruppi patologici tra loro con differenti gradi di significatività.
Discussione e conclusioni. Dal nostro studio risulta che i PP, riflettendo le caratteristiche morfologiche, sono utili nel differenziare i campioni patologici dai normali (M and SD V, SD C, MS) e possono distinguere differenti tipi di patologie linfocitarie, in particolare LLC da PR/ADL (MV) e PR da ADL (MC e SD e MS).
1 Piccinini C., ISLH 2004 Barcelona, May 13-15; Fuensanta Millá et al. *Blood, Volume 104, issue 11, November 16, 2004*

RICERCA DI ALCUNE ALTERAZIONI CROMOSOMICHE NELLA LEUCEMIA LINFATICA CRONICA (LLC) MEDIANTE IBRIDAZIONE IN SITU A FLUORESCENZA (FISH)

A-10

B. Milanesi°, P. Barbieri*, M. Calarco*, M. Gheda*, L. Orsini*, A. Regazzoli*
°Dip.Med. di Laboratorio A.O.Desenzano del Garda, *1°Lab.Analisi A.O.Spedali Civili Brescia.

Scopo del lavoro: recenti studi hanno messo in evidenza che la presenza di alcune alterazioni cromosomiche in pazienti affetti da LLC possono essere correlate con una diversa prognosi e con una possibile resistenza al trattamento con fludarabina. La ricerca di queste alterazioni viene oggi comunemente eseguita utilizzando la FISH, che permette di analizzare anche cellule in interfase e che quindi può essere applicata su cellule che entrano difficilmente in replicazione (come è il caso dei linfociti della LLC) e dalle quali è perciò difficile ottenere metafasi analizzabili mediante tecniche di citogenetica convenzionale. Le alterazioni cromosomiche che abbiamo ricercato sono: 1) la delezione del gene p53 (regione 17p13.1), 2) la delezione del gene ATM (regione 11q22.3), 3) la delezione della regione 13q14.3, 4) la trisomia del cr.12.
Materiali e metodi: sono stati esaminati 32 campioni di sangue periferico e 3 campioni di sangue midollare provenienti da pazienti affetti da LLC; le cellule sono state prima trattate con una soluzione ipotonica di KCl e poi fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1), prima di essere dispensate su un vetrino. Le sonde utilizzate per l'esecuzione della FISH, prodotte dalla ditta Vysis, sono le seguenti: LSI p53, che ibridizza in regione 17p13.1; LSI ATM, che ibridizza in regione 11q22.3; LSI D13S319, che ibridizza in regione 13q14.3; CEP 12, che ibridizza in regione 12p11.1-q11. L'analisi FISH è stata eseguita seguendo la metodica consigliata dalla ditta produttrice.
Risultati: dei 35 campioni analizzati 10 (29%) sono risultati negativi per tutte e quattro le alterazioni che abbiamo ricercato, mentre gli altri 25 (71%) hanno presentato una o più anomalie; in particolare 3 (9%) la delezione del gene p53, 4 (11%) quella del gene ATM, 13 (37%) la delezione in regione 13q14.3 e 9 (31%) la trisomia del cr.12; in 1 caso la delezione 13q14.3 è risultata associata a quella del gene p53, in 2 a quella del gene ATM ed in 3 alla trisomia del cr.12.
Discussione e conclusioni: la ricerca di alterazioni cromosomiche nei linfociti di pazienti affetti da LLC sta acquisendo importanza sia da un punto di vista prognostico, essendo alcune di esse associate ad un andamento peggiore o migliore della malattia, sia da un punto di vista terapeutico, dato che la presenza di particolari anomalie (specie la delezione del gene p53) correlano con una resistenza al trattamento con fludarabina. Nel nostro studio abbiamo utilizzato la FISH per l'analisi di quattro alterazioni cromosomiche in 35 pazienti ed è risultato che un'elevata percentuale di essi (71%) presenta almeno una delle anomalie ricercate.

A-11

LA CONTA DEI MONOCITI: VALUTAZIONE DI TRE ANALIZZATORI EMATOLOGICI VS CITOFLUORIMETRIA

A. Santoro, G. De Michele, E. De Nitto, S. De Tommaso Fontò
U.O. Patologia Clinica Presidio Ospedaliero di Brindisi - AUSL BR/1 - Brindisi

Introduzione. I differenti parametri dell'esame emocromocitometrico e del conteggio differenziale leucocitario generalmente offrono buone correlazioni utilizzando gli attuali analizzatori ematologici automatici; tuttavia per alcuni parametri, ed in modo particolare per le conte monocitarie, la correlazione comparata appare meno evidente, probabilmente in ragione delle differenti tecnologie utilizzate.
Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare il valore del coefficiente di correlazione R esistente tra l'analizzatore ematologico automatico Coulter LH 750 ed il metodo citofluorimetrico (CMF) per le conte piastriniche, attraverso l'utilizzo di anticorpi monoclonali MoAb, CD41-CD61. Abbiamo inoltre valutato il coefficiente di correlazione R esistente tra gli analizzatori automatici Coulter LH 750/Horiba ABX Pentra DX 120/Abbott Sapphire ed il citofluorimetro mediante l'utilizzo di anticorpi monoclonali MoAb CD45/CD14 per la conta dei monociti.
Materiali e Metodi . Per la conta dei monociti, in tutte le situazioni sperimentali considerate, sono stati valutati 100 campioni di sangue periferico, con valori compresi tra un min. di 0,178 x 10^3 / µL ed un max. di 3,230 x 10^3 / µL .Tutti i campioni sono stati raccolti in vacutainer K3EDTA, casualmente selezionati dalla routine giornaliera, privi di interferenze, processati in serie entro un tempo di tre ore dal prelievo.
Risultati. Lo studio comparativo ha evidenziato un eccellente accordo tra le misurazioni degli analizzatori LH 750 / Sapphire e la metodica di riferimento CD45/CD14 (CFM vs Coulter LH 750 R= 0,961; CFM vs Sapphire R= 0,906), ed un buon accordo tra le misurazioni dell'analizzatore Pentra DX 120 e la metodica di riferimento (CFM vs Pentra DX 120 R= 0,833). Tutti gli analizzatori hanno mediamente sovrastimato la conta in valore assoluto dei monociti rispetto al riferimento.

A-12

CORRELAZIONE DELLA CONTA PIASTRINICA FORNITA DA COULTER LH750 VS CITOFLUORIMETRIA

A. Santoro, G. De Michele, E. De Nitto, S. De Tommaso Fontò
U.O. Patologia Clinica Presidio Ospedaliero di Brindisi - AUSL BR/1 - BRINDISI

Introduzione. Per alcuni parametri emocromocitometrici, ed in modo particolare per le conte piastriniche effettuate in condizioni di marcata pistrinopenie, probabilmente in ragione delle differenti tecnologie utilizzate, la correlazione tra gli attuali analizzatori ematologici automatici appare meno evidente. L'analizzatore LH 750 esegue il conteggio e il dimensionamento delle piastrine (Plt) con tecnologia AccuCount che, combinando il principio Coulter a nuove tecnologie di indagine e algoritmi software brevettati, è in grado di fornire elevate prestazioni di precisione, linearità, accuratezza e conteggi piastrinici corretti da possibili interferenti come aggregati, grandi piastrine, eritroblasti.
Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare il valore del coefficiente di correlazione R per le conte piastriniche esistente tra l'analizzatore ematologico automatico Coulter LH 750 ed il citofluorimetro (CMF), attraverso l'utilizzo di anticorpi monoclonali MoAb CD41-CD61.
Materiali e Metodi. Nella situazione sperimentale considerata Coulter LH 750 vs CMF, sono stati valutati 100 campioni di sangue periferico, con valori compresi tra un min. di 3,2 x 10^3/µL ed un max.di 580,5 x 10^3/µL.
Tutti i campioni sono stati raccolti in vacutainer K3EDTA, casualmente selezionati dalla routine giornaliera, privi di interferenze, processati in serie entro un tempo di tre ore dal prelievo.
Risultati. Lo studio comparativo ha evidenziato un eccellente accordo tra le misurazioni dell'analizzatore Coulter LH 750 e la metodica di riferimento CD45/CD14, con una sostanziale sovrapposizione dei risultati dell'analizzatore ematologico rispetto al CFM.

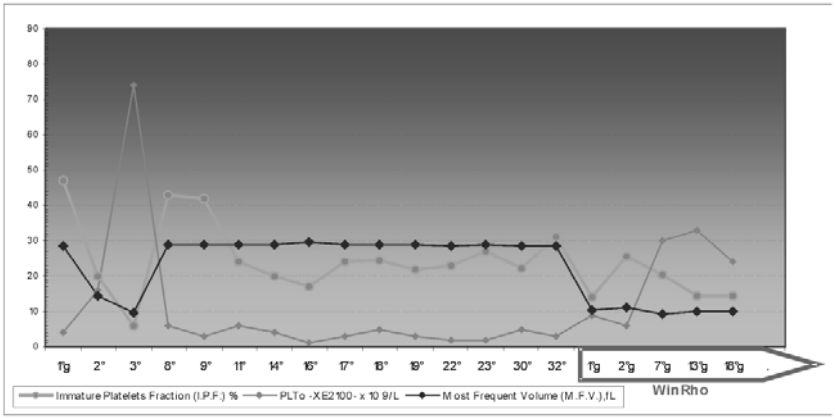
CD41-CD61 vs LH 750
Media (d) 0,442
DS (d) 0,710
R 0,9958
RQ 0,9911

IMMATURE PLATELET FRACTION (IPF) : EFFICACE CONTRIBUTO NELLA VALUTAZIONE DELLE ITP

A-13

M. Diquattro * , G.M. Calabrò*, F. Gagliano, S. Scola*, G. Mancuso**, I. Menozzi***
*Laboratorio Analisi A.R.N.A.S. Civico, Palermo; ** U.O. di Clinica Pediatrica, Centro di Riferimento "Emostasi e Trombosi in Età Pediatrica" Ospedale G. Di Cristina, Palermo

Scopo del lavoro: Utilizzo dell' I.P.F. nella valutazione clinica delle porpore immunologiche acute (ITP) in età pediatrica.
Materiali e metodi: Nel giugno-agosto 2006 è stato monitorato un paziente (f.,a.10) con diagnosi di ITP acuta. Il paziente rispondeva rapidamente alla terapia con Ig i.v., ma in breve ricadeva con resistenza alle Ig i.v. e al cortisone, veniva allora intrapresa terapia con Ig anti-D i.v. (WinRho). La conta piastrinica veniva eseguita con metodologia ottica in fluorescenza (analizzatore XE2100, Sysmex).
Risultati: Il follow-up del paziente è illustrato nella fig.1. La conta piastrinica presentava correlazione inversa statisticamente significativa con l'IPF (R=-0,620,P<0,005) e con il Most Frequent Volume (R=-0,694, p<0,005).
Discussioni e conclusioni: Linee guida dell'ASH (American Society of Hematology) e dell'AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica) evidenziano il ruolo chiave del quadro clinico e della conta piastrinica nella gestione delle ITP acute. L'introduzione della IPF nella pratica clinica propone al clinico un veloce ed efficace strumento diagnostico e prognostico.



VALUTAZIONE DEI RECETTORI PIASTRINICI GPIB E GPIIB/IIIa NEL MANAGEMENT CLINICO- CHIRURGICO IN UN CASO DI TROMBOCITOPENIA INDOTTA DA EPARINA (HIT)

A-14

M. Golato*, M. Liani, R. Liani**, F. Di Luca*, L. Di Cintio*, L. Gargiulo***
*Patologia Clinica O. C. Lanciano ** Nefrologia O. C. Penne

Obiettivi: valutazione di rischio emorragico e terapeutico in paziente trombocitopenico,sottoposto ad angioplastica di arterie renali,mediante dosaggio di recettori piastrinici di superficie (RPS): GpIb e GpIIb/IIIa. Il primo interagisce con il fattore vonWillebrand sottoendoteliale e determina l'adesione di piastrine (PLT) alle pareti vascolari ed il secondo,legandosi al fibrinogeno,da inizio all'aggregazione, regolando adesività e aggregabilità tra cellule e tessuti.
Materiali e metodi: la determinazione di RPS è stata eseguita su prelievo venoso citratato, utilizzando anticorpi (Ab) monoclonali 42b per il GpIb e 41a per il GpIIb/IIIa,marcati con isiotiocianato di fluorescina,aggiungendo Ab CD61 PerCP, per il gate immunologico. I campioni sono stati valutati con fluorescenza media (mean-flow), lettura logaritmica su citofluorimetro Facscalibur B.D, su 10000 eventi per RPS confrontati con la media di un gruppo di controllo in emodialisi (HD).
Caso clinico: in paziente di anni 70,ricoverata per insufficienza renale cronica (IRC) in fase evolutiva, diabete, ipertensione, modesta piastrinopenia (119x103/uL), ecografia negativa per epato-splenomegalia e linfonodi,è stata fatta diagnosi di stenosi bilaterale di arterie renali. Parametri clinici e laboratoristici (creatinina 5.27mg%), inducono trattamento con HD ed eparina. L'insorgenza di severa piastrinopenia (14x103/uL) in corso di terapia, impone la sostituzione dell'HD con diuretici e cortisonici. L'agoaspirato midollare evidenzia un incremento di megacariociti; la cinetica piastrinica,aumentata distruzione periferica; il dosaggio di autoAb, presenza di Ab antipiastrine; lo studio coagulativo è nei limiti; il dosaggio di RPS, aumentata mean-flow. La diagnosi finale di HIT con iperfunzionalità piastrinica e la grave IRC rendono necessario un'angioplastica ed impianto di stent per evitare un trattamento cronico con eparina,indispensabile nell'HD. Le linee guida prevedono,durante il trattamento chirurgico, l'uso di cardioaspirina ed eparina. La valutazione del rischio di emorragia da piastrinopenia è stata fatta con dosaggio di RPS.
Risultati: In terapia eparinica per HD la mean flow del GpIb è 312 (versus 221,10 +/-55,0), del GpIIbIIIa 302(versus 205,99 +/-42,90); le PLT sono 4 x103/uL.
Discussione e conclusioni: i risultati hanno consentito di sottoporre la paziente ad un trattamento invasivo risolutivo,senza rischi di emorragie,per aumento significativo di espressività del GpIIbIIIa ed incremento di aggregabilità di PLT. Si evidenzia come gli RPS contribuiscano al management clinico con utili indicazioni sulla funzionalità di PLT,in un paziente critico si a nella valutazione del rischio intraoperatorio che nel monitoraggio terapeutico delle complicanze da angioplastica.

I PARAMETRI POSIZIONALI DI LH 750 NELLA VALUTAZIONE DELLA DISPLASIA GRANULOCITARIA DI VARIA ORIGINE

A-15

C. Piccinini, B. Biasioli
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, AOU Trieste

Scopo del lavoro: Coulter LH 750 misura i valori medi (M) e l'eterogeneità come Deviazione Standard (SD) di Volume (V), Conduttività (C) e Scatter (S), chiamati Parametri Posizionali (PP), delle sottopopolazioni leucocitarie. Dati della letteratura dimostrano che ↓ MS e ↓MC nei granulociti neutrofili (GN) sono presenti nelle MDS secondo FAB (particolarmente in RAS, RAEB, CMML), in altre malattie ematologiche (1) ed in altre patologie non ematologiche (2). Scopo dello studio è di ottenere ulteriori dati sul comportamento dei PP in presenza di displasia di varia origine.
Materiali e Metodi. Utilizzando la strumentazione Coulter LH 750 che impiega, per l'analisi della formula leucocitaria, la tecnologia VCS: Volume (tecologia AccuCount su principio Coulter), Conduttività (densità e forma del nucleo; rapporto N/C); Scatter laser (granulazioni citoplasmatiche), abbiamo analizzato i PP di:
- 33 casi di MDS secondarie a trattamento chemioterapico (con alchilanti, tetracicline, epidofillotossina) e/o radiante)
- 23 campioni con neutrofilia (arbitrariamente fissata a GN >$8x10^3/\mu L$) dovuta ad infezioni o a somministrazione di fattori di crescita (NF) e 29 campioni con neutropenia (arbitrariamente fissata a GN< $2x10^3/\mu L$) in varie patologie (HIV, alcoolismo, malattie autoimmuni, iatrogene) (NP) tutti con moderata displasia dei GN (ipogranularità citoplasmatica, difetti di segmentazione nucleare).

Tali PP sono stati confrontati con quelli di riferimento ottenuti da 200 campioni normali.
Risultati.Nelle MDS secondarie vengono confermate variazioni significative ($p<0,05$) nei GN: ↓MC e ↓MS; si evidenziano, inoltre, ↑ MV, SDV, SDC ed SDS dovuti all'eterogeneità della popolazione. L'analisi mediante curve ROC ha identificato i seguenti valori di cut off: MS<145 (AUC =0.934, Sens=87.9%, Spec=87.5%), MC<140 (AUC=0.915, Sens=75,8%, Spec=97.5%)
Nei casi di NF ed NP le differenze significative con i PP di riferimento di soggetti normali (N) sono: NP vs N: ↑ SDC – NF vs N: ↑ MV ed SDV, ↑ SDC ed SDS, ↓MS; M C = NS (differenza non significativa)
Confrontando i casi di MDS secondarie ed i casi di neutrofilia si nota che:
NF vs MDS: ↓ SDVed SDC,↑MC; MS = NS
Discussione e conclusioni. L'evidenza di ↓MC e ↓MS nei campioni della routine deve far sospettare la presenza di displasia granulocitaria in presenza di MDS ed altre malattie ematologiche. Ulteriori studi approfondiranno i dati preliminari delle neutropenie che vedono lo scostamento di un solo dato. Nei campioni con neutrofilia ↓MS ed MC non modificato rispetto ai N, ma↑ rispetto ad MDS, suggeriscono la presenza di displasia di origine non ematologica

1) Orero M. et al, Hematologica 2001, vol 86, supl 2; 108ff - Zini G. et al, ASH 2005;#4904 –Piccinini C., Laboratory Hematology 2004,10/4;240 - 2) Wiesent T. et al ,ASH 2005; # 4892

ASPETTI MORFOLOGICI DELLE PLASMACELLULE NEL MIELOMA MULTIPLO: I CORPI DI RUSSEL

A-16

C. Esposito, A. Di Palma, P. Sabatini, P. Danise
UOC di Patologia Clinica, D.E.A.II Umberto I-Nocera Inferiore-A.S.L.SA1

Scopo. I corpi di Russel (CR) sono inclusioni intracitoplasmatiche delle plasmacellule (Pc) variabili per morfologia e grandezza. La cellula di Mott è una Pc moriforme il cui citoplasma è ricco di CR. L'aspetto più comune è quello sferico meno frequentemente bastoncellare o aghiforme.Vengono mostrati gli aspetti morfologici delle Pc di tre pazienti con Mieloma Multiplo (MM) anche al fine di correlare la morfologia delle inclusioni con la malattia.
Materiali e Metodi. Sono stati osservati tre pazienti affetti da MM. Il paziente 1, M di 84 anni affetto da Mieloma IgA ë, il paziente 2, F di 77 anni e il 3 M di 72 anni entrambi con MM IgA k in trattamento con talidomide. L'aspirato midollare è stato eseguito dalla cresta ili aca posteriore superiore. Il materiale raccolto, anticoagulato con EDTA è stato utilizzato per l'allestimento degli strisci e anticoagulato con eparina per l'esame immunofenotipico mediante citofluorimetria a flusso. Dopo colorazione dei vetrini con May Grunwald – Giemsa (MGG) l'osservazione microscopica è stata effettuata prima a 10x e poi a 100x con conta in più campi di 500 cellule.
Risultati. Nel primo paziente si osservano le classiche cellule di Mott con inclusioni sferiche multiple talvolta voluminose al punto da occupare l'intero spazio citoplasmatico con compressione del nucleo. Nei pazienti 2 e 3 si osservano inclusioni di differenti taglie e con forme variabili dallo sferico all'ovalare o al bastoncellare. Spesso tali inclusioni debordano dalla cellula e ne deformano il profilo. L'assetto immunofenotipico è sovrapponibile nei tre pazienti: CD38+, CD138+, CD56+, CD19-.
Considerazioni e Conclusioni. La morfologia dei CR dei tre pazienti esami nati appare piuttosto interessante. Innanzitutto la caratteristica comune dei tre mielomi è l'appartenenza alla classe IgA a conferma che tali inclusioni sono più frequentemente associate anche se non esclusivamente ad Ig secretorie. In effetti tali inclusioni si formano per deposizione di Ig a livello delle cisterne del reticolo endoplasmico ruvido. All'esame ultrastrutturale esse appaiono come materiale elettrondenso circondato da una singola membrana. Dopo colorazione con MGG presentano un aspetto ialino e talvolta azzurro chiaro. I CR oltre che nelle discrasie plasmacellulari e in alcuni linfomi, possono essere rinvenuti anche nelle Pc reattive in corso di processi infiammatori cronici o di infezioni. Di per sé non rappresentano un indice obbligatorio di malignità, tuttavia la presenza in percentuale elevata soprattutto nell'ambito di una infiltrazione midollare massiva è da considerarsi patognomonica dell'attività delle Pc. Le immagini dei 3 casi descritti forniscono un panorama morfologico ampio di CR, che sono di infrequente riscontro nelle patologie ematologiche suindicate.

SISTEMI COULTER LH 750: UTILIZZO DEI PARAMETRI POSIZIONALI VCS IN PRESENZA DI FLAG IMMNE2

A-17

G. Anzil, A. Lorenzon, M. Ruscio
Laboratorio Analisi Ospedale di San Daniele del Friuli Dipartimento Diagnostico e Strumentale ASS4 "Medio Friuli"

Scopo del lavoro: I campioni con immaturità mieloide, di diverso grado, sono indicati dal sistema Coulter LH750 con le segnalazioni Granulociti Immaturi (GranImm) 1 e 2. In questo studio abbiamo valutato l'utilità e il significato clinico dei parametri posizionali (PP) VCS del sistema nella revisione dei campioni con flag di sospetto GranImm2, positivi a microscopio per la presenza di metamielociti, mielociti, promielociti.
Materiali e metodi: Coulter LH750 esegue conteggi WBC/RBC/Plt con tecnologia AccuCount e Formula+NRBC e RET con tecnologia VCS – Volume - V, Conduttività – C – (grandezza/densità nucleo; rapporto nucleo/citoplasma), Scatter laser – S - (granulazioni citoplasmat iche) su cellule allo stato nativo o, per i RET, dopo colorazione con nuovo blu di metilene; la formula è completata da 24 PP, che indicano Media (M) e Deviazione Standard (SD) dei parametri VCS, la cui variazione riflette specifiche anormalità cellulari (Piccinini, ISLH2004). Sono stati analizzati (Coulter LH 750 e revisione microscopica) 280 campioni di sangue di cui 238 normali e 42 patologici con segnalazione di sospetto GranImm2. Dopo aver definito i valori di normalità dei PP dei neutrofili (Ne) nei 238 campioni normali, sono stati analizzati quelli dei 42 patologici. Colorazione vetrini MGG; elaborazione statistica MedCalc vers.9.1.
Risultati: I PP dei Ne che hanno evidenziato differenze significative ($p<0.001$) tra campioni normali e patologici sono VM, VSD e CSD (rispettivamente 142.2±4, 19.3±1, 5.3±0,8 nei normali e 164.3±11, 30.3±4, 9.2±3.4 nei patologici). Tra i 42 campioni positivi per GranImm2, 8 sono risultati falsi positivi (6 con forme bands dal 2 % al 6%, 2 con neutrofili megaloblastici). L'analisi mediante curve ROC ha identificato i seguenti valori di cut-off: VM Ne=152.1 (AUC=0.97, Sens=91.2%, Spec=95,9%); VSD Ne=22.6 (AUC=0.98, Sens=100%, Spec=96,7%); CSD Ne=6.75 (AUC=0.97, Sens=97.1%, Spec=93.1%).
Discussione conclusioni: Le differenze significative dei PP dei Ne nei campioni patologici riflettono le diversità cellulari tipiche dell'immaturità mieloide, oggettivando il significato clinico della flag di sospetto. L'associazione della presenza della flag con il superamento dei valori di cut-off risulta utile e significativa per il processo di screening. Il sistema LH750 permette di impostare regole di validazione assistita; alla luce di tale studio sono stati inseriti i cut-off di VM e VSD insieme alla flag GranImm2 per una maggiore potenzialità di screening così da dedicare maggiore attenzione ai campioni patologici.

VALUTAZIONE DELLA LETTURA MONOCITARIA SU COULTER LH 750

A-18

F. Papa 1, C. Vaccarella 1, M. Cedrone 2, N. Federici 3, C. Gambetta 3
1 U.O.C. Patologia Clinica Osp. Fatebenefratelli Isola Tiberina -ROMA; 2 U.O.C. Ematologia Osp. San Giovanni Roma; 3 Lab. Analisi P.O.S.S. S.Spirito ASL RME Roma

Scopo del lavoro è stato di valutare la capacità di screening dei monociti di Coulter LH750 rispetto alla conta microscopica utilizzata in routine su campioni di pazienti oncoematologici. Studi clinici hanno dimostrato buone performance rispetto alla lettura citofluorimetrica, tuttavia il confronto con il microscopio ci ha consentito di valutare sia la capacità di conteggio rispetto al metodo utilizzato per la refertazione in routine, sia di valutare la capacità di discriminare, nei campioni patologici, l'abilità strumentale nel mantenere le tipologie cellulari negli opportuni cluster di appartenenza.
Materiali e metodi: Coulter LH750 analizza la formula leucocitaria con tecnologia VCS, (Volume, Conduttività-grandezza/densità nucleo, rapporto nucleo/citoplasma, Scatter laser-granularità cellulare). Lo strumento riporta 24 Parametri Posizionali (PP), che esprimono Media (M) e Deviazione Standard (SD) dei leucociti per Volume (V), Conduttività (C) e Scatter (S), che riflettono i cambiamenti morfologici, rilevabili in campioni patologici. Sono stati analizzati 30 campioni di sangue periferico, di pazienti del reparto di oncoloematologia. Revisione microscopica (colorazione May grundwald Giemsa), in accordo al protocollo NCCLS H20A.
Risultati: Le determinazioni dei conteggi cellulari e l'elaborazione dei dati, seppure preliminari, hanno dimostrato una buona correlazione rispetto al metodo di conferma sia in campioni con monocitosi che in campioni patologici (immaturità, displasia, ecc.).
Conclusioni: I moderni analizzatori ematologici dimostrano, generalmente, ottime performance di conteggio nell'analisi di campioni "normali", mentre risultano meno accurati nel conteggio di alcune popolazioni cellulari, specialmente in campioni patologici in cui le caratteristiche morfologiche delle cellule subiscono variazioni rispetto a quelle normali. La correlazione dei monociti letti in automazione rispetto alla lettura microscopica, usata di routine in laboratorio, e tuttora metodo di riferimento, risulta a volte critica, per diverse motivazioni attribuibili soprattutto alla discriminazione da parte degli analizzatori della morfologia cellulare o, nei campioni anormali, alla sovrapposizione di cluster di cellule patologiche nella zona monocitaria (es: Blasti, cellule displastiche, Linfociti attivati, ecc). La nostra valutazione ha dimostrato buone performance di LH 750 sia su campioni normali che patologici, inoltre l'attenta analisi dei citogrammi e dei PP risulta utile nella rilevazione degli elementi immaturi e suggerisce ed evidenzia la natura di cluster displastici. Tali valutazioni meritano di essere confermate ed approfondite su una casistica più ampia e su gruppi omogenei di patologie.

ACCURATEZZA E PRECISIONE DEL SISTEMA PENTRA DX 120 NELLA DETERMINAZIONE DELLE PIASTRINE IN PAZIENTI PIASTRINOPENICI

A-19

F. Papa 1, M. Rongioletti 1, A. Falconio 1, C. Vaccarella 1, L. Laudadio 1, M. Cedrone 2, L. Lenti 3
1 U.O.C. di Patologia Clinica Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina- Roma ; 2 U.O.C. di Ematologia Ospedale San Giovanni – Roma; 3 Istituto di Patologia Generale Università La Sapienza di Roma

Scopo del lavoro: Un intervento terapeutico appropriato è legato alla precisione ed alla accuratezza del conteggio piastrinico e le differenti tecnologie applicate consentono performance differenti dei vari contaglobuli che possono favorire o condizionare le decisioni terapeutiche specialmente nelle gravi piastrinopenie. Gli analizzatori ematologici mostrano prestazioni insoddisfacenti nei pazienti fortemente piastrinopenici; ciò è dovuto alla difficoltà di distinguere le piastrine da altre particelle del sangue venoso periferico, le cosiddette "pseudopiastrine". Obiettivo dello studio è stato di valutare le performance di una strumentazione analitica ABX Pentra DX120, su 66 campioni di sangue periferico di pazienti con piastrinopenia gravi (<50 x10^9/L) confrontandoli con il metodo di riferimento internazionale ratificato dalla Società Internazionale di ematologia di laboratorio (ISLH).
Materiali e metodi: Il prelievo dell'emocromo è stato effettuato da vena periferica di pazienti gravemente piastrinopenici ricoverati presso il Reparto /DH di Ematologia dell'Ospedale San Giovanni Addolorata e dai Reparti del Fatebenefratelli-Isola Tiberina di Roma. Tutti i campioni prelevati in EDTA-k3, sono stati conservati a temperatura ambiente e processati entro le 4 ore dal prelievo. Le piastrine vengono contate su citoflourimetro (Instrumentation Laboratory) con anticorpi monoclonali CD41 e CD61. L'emocromo completo è stato eseguito sull'analizzatore ABX Pentra DX120 che esegue la conta delle piastrine con metodo impedenziometrico.
Risultati: I risultati indicano un coefficiente di correlazione di 0.90. La media dei risultati ottenuti con il metodo citofluorimetrico è di 19.9 versus 23.5 ottenuti con Pentra DX 120; tali dati documentano,in contrasto rispetto ad altri riportati in letteratura una lieve sovrastima rispetto al metodo di riferimento. *Conclusioni:* Buoni risultati sono stati ottenuti in relazioni alle performance diagnostiche assumendo un cut-off per la trasfusione piastrinica a scopo profilattico con un conteggio di PLT inferiore/uguale a 10x10^9/L in cui si evidenzia che in 5 casi in conteggio ottenuto con il sistema automatizzato era in contrasto rispetto ai dati citofluorimetrici.

LA FRAZIONE DI PIASTRINE IMMATURE (IPF) IN ETA' PEDIATRICA

A-20

E. Piva, M. Buttarello, R. Pajola, V. Temporin, P. D'Altoè, M. Plebani
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova

Introduzione. Con lo sviluppo del software Xe-Pro, XE-2100 (Sysmex) ha implementato i parametri piastrinici quantificando la frazione immatura delle piastrine circolanti nel sangue periferico che corrispondono alle piastrine reticolate (RP), descritte da Ingram nel 1969. L'utilità clinica è stata applicata nella valutazione delle piastrinopenie, in particolare a quelle causate da aumentata distruzione come la porpora trombotica trombocitopenica (TTP) e la porpora trombocitopenica autoimmune (AITP).
Scopo dello studio. La valutazione dell'IPF è stata già effettuata in soggetti adulti, ma i dati in letteratura sul comportamento delle piastrine immature in età pediatrica risultano esigui. Anche se rappresenta una patologia non frequente, la piastrinopenia in questa fascia di età può costituire una criticità clinica.
Materiali e metodi. L'analizzatore XE-2100, integrato nel sistema HST, è ampiamente diffuso come sistema ematologico. La frazione immatura di piastrine è determinata in fluorescenza nel canale reticolociti/piastrine con una strategia di gating. Il metodo utilizza la colorazione in fluorescenza con RET-SEARCH™ DYE contenente polimetina ed oxazina. L'analisi in FSC (forward scatter) ed in fluorescenza misura i volumi e la quantità di RNA cellulare, discriminando le piastrine in mature ed immature (IPF). Queste ultime sono espresse come frazione (%) ed in conteggio assoluto.
La casistica del nostro studio preliminare comprende 165 bambini sani, 88 femmine e 77 maschi di età compresa fra i 3 mesi e i 14 anni, selezionati nel nostro ambulatorio nei mesi da Gennaio ad Aprile 2006 sulla base dell'anamnesi clinica e laboratoristica.
Risultati. I parametri valutati sono stati: conteggio piastrinico* (109/L), IPF* (%) e IPF* #(109/L). La media±DS dei valori relativi a tali parametri è stata rispettivamente per le femmine 333±102; 1.7±1.14;5; 1±3.1;per i maschi 313±74.5; 1.74±0.95; 5.2±2.5. Gli stessi parametri calcolati al 5° percentile sono stati rispettivamente per le femmine 188.3; 0.6;2.4 e per i maschi 215.4; 0.7 e 2.4. I parametri calcolati al 95° percentile sono stati rispettivamente per le femmine 479; 4.3 e 10.3; per i maschi 420; 3.7 e 10.4.
*p=ns

Conclusioni. I risultati preliminari non mostrano differenze statisticamente significative relative al sesso.
Con l'intervallo di riferimento o con cut-off appropriato, l'IPF può essere il parametro utile per fornire all'ematologo di laboratorio uno strumento interpretativo per commentare l'attività piastrinopoietica. L'IPF può quindi fornire indicazioni analoghe all'esame morfologico evitando il prelievo di agoaspirato midollare, più critico nella popolazione pediatrica.

VALUTAZIONE DELL'IMMATURITÀ MIELOIDE IN AUTOMAZIONE

A-21

A. Cenci, M. Blasi, A. Coco, F. Torricelli, N. Lelli, O. Bonanno, P. Ferrari
Laboratorio Patologia Clinica, Nuovo Ospedale S. Agostino-Estense AUSL Modena

Scopo del Lavoro. Il riconoscimento e la quantificazione degli elementi immaturi mieloidi sono attualmente oggetto di studio ed interesse per l'impatto clinico ad essi correlato. Infatti possono essere ritrovati in situazioni parafisiologiche (gravidanza, risposta alle infezioni e a terapie), rivelarsi spie di patologie acute e croniche e, da un punto di vista pratico, se ne può ipotizzare l'utilizzo negli algoritmi routinari di revisione microscopica. Scopo del lavoro è quello di valutare la possibilità di acquisire dalla tecnologia informazioni sulla presenza di elementi immaturi mieloidi e sulla loro differenziazione rispetto ad elementi displastici eventualmente presenti nel campione.
Materiali e Metodi. Sono stati analizzati 1248 emocromi prelevati in K3EDTA di cui: 1200 selezionati come normali per valori numerici e per assenza di flag morfologiche, quantitative e distribuzionali, e 48 campioni da gravide (situazione parafisiologica) in tutti i trimestri gestazionali, alla cui revisione microscopica (colorazione di Wright) si fossero trovati elementi immaturi mieloidi dal promielocita alla band cell, senza note morfologiche di displasia. Coulter LH750 analizza la formula leucocitaria con tecnologia VCS, analisi simultanea e multiparametrica dei leucociti allo stato nativo (Volume, Conduttività – grandezza/densità nucleo, rapporto nucleo/citoplasma, Scatter laser – granularità cellulare). La presenza di cellule immature mieloidi si evidenzia, oltre che con specifiche segnalazioni (Flag¸ immagini marker), anche con variazione dei 24 Parametri Posizionali (PP), che esprimono Media (M) e Deviazione Standard (SD) dei leucociti per Volume (V), Conduttività © e Scatter (S). Tali parametri riflettono i cambiamenti morfologici, che avvengono all'interno di cellule anomale. In entrambi i gruppi studiati sono stati calcolati i valori dei PP per il confronto (statistica MedCalc Vers.9.0).
Risultati e Conclusioni. Nei campioni analizzati emerge una buona corrispondenza tra presenza di elementi immaturi mieloidi e flag dedicate (Granulociti Immaturi 1 e 2). Di maggiore specificità nella descrizione dell'armonia maturativa cellulare appaiono i PP. I loro valori confrontati con i normali evidenziano per i Volumi della popolazione mieloide, l'atteso aumento della media (154 vs 146) e della SD (25.4 vs. 19.9), senza variazione significativa di C e S medi ad indicare un corretto equilibrio maturativo nei rapporti nucleo/citoplasma e granularità citoplasmatica. Un modico aumento di SD della C può ragionevolmente essere in rapporto con i nuclei più grandi delle cellule non segmentate. I valori di C e S si differenziano chiaramente anche da quelli delle cellule displastiche, secondo dati precedentemente pubblicati anche dal nostro gruppo (ISLH 2006).

COME APPROFONDIRE L'EMATOLOGIA CON LE PROPRIE ESPERIENZE

A-22

B. Biasioli*, B. Casolari, A.M. Cenci**, E. Forestiere***, F. Papa***, C. Piccinini***
*Dip. Med. Laboratorio TS; **Dip. Pat. Clinica MO; ***Pat. Clin. Osp Fatebenefratelli I. Tiberina Roma

Scopo del lavoro. Per chi utilizza sistemi analitici per l'emocromo, è essenziale confrontare dati, condividere criteri di approccio, diffondere conoscenze ed esperienze, ottimizzare l'uso clinico dei risultati. I quadri strumentali rispecchiano caratteristiche morfo-distribuzionali degli elementi e danno informazioni su cluster normali, immaturi o displastici e interferenze analitiche, fornendo report marker costanti di cellule o di patologie.
Materiali e Metodi. L'esperienza riportata inizia nel 2003, quando HORIBA ABX raccoglie l'esigenza degli utilizzatori delle sue tecnologie di creare confronto e formazione ematologica. Viene ritenuto idoneo a questo scopo un atlante costituito da cartelle mobili, di consultazione "facile", rivolto non solo ai propri utilizzatori, per interpretare le anomalie ematiche più diffuse. La presentazione del volume, realizzato in 3 anni e volutamente non definitivo alla sua uscita e la veste editoriale a "raccoglitore", da arricchire con il contributo degli utilizzatori, costituiscono elementi peculiari. I fogli, mobili, possono essere consultati a fianco del microscopio. Nell'Atlante-raccolta "on going" di patologie analizzate con i sistemi ABX, i casi proposti sono costituiti da notizie cliniche, referti strumentali dei sistemi PENTRA, descrizione e foto della morfologia microscopica del sangue periferico, se disponibile di agoaspirato midollare, altre indagini diagnostiche significative, sintesi conclusiva del quadro. Le note finali consistono in argomentazioni cliniche, tecniche, o di entrambi i tipi, vera sezione formativa del lavoro.
Capitoli specifici, dopo quello iniziale con la descrizione delle tecnologie ABX, riguardano le patologie quali e quantitative, primitive e secondarie, neoplastiche e non delle serie emopoietiche, secondo la nosografia ufficiale; vengono riportati interferenze, artefatti di varia natura, quadri di liquidi biologici. Il referee group, che ha fornito i casi iniziali quale traccia compilativa, costituisce la commissione scientifica che valuta e seleziona il materiale. Gli utilizzatori divengono così coautori di un testo a loro stessi dedicato.
Risultati. Ne risultano un'ampia diffusione, altrimenti difficile, di interessanti quadri e il tentativo di standardizzare un linguaggio tecnico preciso e condiviso. Ad oggi, sono stati pubblicati 23 casi e 16 sono approvati per l'uscita.
Discussione e Conclusioni. In 3 anni, sono stati valutati indicatori di gradimento quali la buona qualità del materiale acquisito, il numero di nuovi casi in linea con le indicazioni fornite, la notevole partecipazione anche di utilizzatori non ABX. Per consolidare la diffusione, sono previsti audit e pubblicazione su sito web, ipotizzata in vista di formazione a distanza.

VALUTAZIONE DELL'EMATOCRITO RIFERITO AD UN AUMENTATO BACINO DI UTENZA

A-23

R. Faricelli, A.L. Di Mele, D. Dragonetti, F. Peri, V. Dadorante, M. Manso, S. Esposito, M. Di Mascio, G. Filippi, A. Ciaramellano, M. Quaranta, C. Di Cosmo
Patologia Clinica I Policlinico"SS.Annunziata" Chieti

Scopo del lavoro. Eseguire uno studio statistico sulla popolazione che afferisce al ns. laboratorio al fine di rivalutare gli intervalli di riferimento dell'ematocrito (HCT). Attualmente le percentuali di riferimento dell'ematocrito utilizzate nella ns. UO sono comprese in un range che va da 38 a 48% per le donne e da 42 a 54% per gli uomini, senza distinzione per fasce di età.
Materiali e Metodi. Sono stati presi in considerazione 2331 utenti ricoverati ed ambulatoriali, 1322 femmine e 1009 maschi, da giugno 2004 a giugno 2005. La popolazione è stata suddivisa in fasce d'età. I campioni sono stati analizzati con il sistema XE 2100 SYSMEX-DASIT. Lo strumento ottiene il valore dell'HCT per sommatoria dell'ampiezza degli impulsi sul canale dei globuli rossi ed in ottica con focalizzazione idrodinamica. I dati sono stati elaborati con il programma statistico di EXCEL.
Risultati

FEMMINE	Numerosità	Media	Mediana	5° Percentile	95° Percentile
6 - 18	74	**37,450**	37,500	33,99	41,00
18 - 35	276	**36,866**	37,100	31,85	41,23
36 - 50	253	**37,569**	38,000	32,30	41,64
51 - 65	276	**38,883**	39,200	33,98	42,73
> 65	443	**38,271**	38,300	32,51	43,79
MASCHI	Numerosità	Media	Mediana	5° Percentile	95° Percentile
6 - 12	32	**35,491**	35,800	31,81	38,36
12 - 18	37	**38,327**	38,200	33,66	43,30
18 - 35	132	**42,017**	42,300	37,72	46,00
35 - 50	177	**41,669**	42,200	35,46	45,86
50 - 65	208	**41,347**	41,650	35,71	45,80
> 65	423	**40,249**	40,600	33,10	46,40

Discussione e Conclusioni. La tabella mostra la media dei valori dell'HCT divisi per età. Tale studio si propone la determinazione dei valori di normalità dell'HCT in seguito all'aumento del bacino di utenza della ns. UO. Pensiamo dunque di proseguire il lavoro ampliando la casistica per una migliore valutazione del range di riferimento utilizzato nella nostra UO.

VALUTAZIONE DELL'UTILITA' DEI PARAMETRI POSIZIONALI DI COULTER LH500

A-24

M.C. Brocca, M.R. Coppi, M. Perrucci, G. Mele, G. Quarta
Laboratorio di Ematologia – A.U.S.L.BR/1-A.Perrino – Brindisi

Scopo del lavoro: Valutazione dell'andamento dei Parametri Posizionali (PP) di Coulter LH500 in patologie di tipo mieloide e linfoidi rispetto ai valori di riferimento.
Materiali e metodi: Coulter LH 500 analizza la formula leucocitaria con Tecnologia VCS**,** analisi simultanea e multiparametrica dei leucociti allo stato nativo (Volume, Conduttività - grandezza/densità nucleo, rapporto nucleo/citoplasma, Scatter laser - granularità cellulare). Unitamente ai conteggi della formula, il sistema fornisce, 24 Parametri Posizionali, che esprimono la Media (M) e la Deviazione Standard (SD) di Linfociti, Monociti, Neutrofili ed Eosinofili per le misure di V, C ed S. Le anormalità morfologiche cellulari vengono evidenziate, oltre che da opportune segnalazioni, anche dalla variazione dei PP. Sono stati analizzati campioni di sangue periferico, prelevato in EDTA, di 75 campioni normali (per determinare i PP di riferimento), 16 Mielodisplasie -MDS- (13 AR; 2 AREB, 1 ARS), 32 patologie linfoproliferative -PL- (20-B-LLC, 4-B-LLC atipiche, 4 B-LLC/LCL. 1 B-LPL, 3-T_LLC).
Colorazione vetrini: May Grunwald Giemsa.
Statistica: MS Excel 2002, Medcalc Vers 9.0.
Risulati:
T test, valore significativo per $p<0.05$.
- PP dei neutrofili in MDS: aumento di SD e diminuzione di M per V, C, e S.
- PP dei linfociti nelle PL: aumento SD di V, C e S. Le M non presentano differenze significative, ma una maggiore eterogeneità distributiva.

Suddividendo i campioni in base alla morfologia cellulare si ottengono tre sottogruppi all'interno dei quali si osservano variazioni significative anche nei valori di M:
1 - linfociti piccoli… (B-LLC) – Diminuzione VM
2 - linfociti polimorfi di piccoli grandi e medie dimensioni (B-LLC atipiche, B-LPL) – aumento VM e SM
3 - prolinfociti, linfociti villosi (B-LLC atipiche, LLC/LPL, T_LLC) – aumento VM, diminuzione CM
Discussione e conclusioni: I PP hanno evidenziato un'ottima capacità di descrivere le caratteristiche morfologiche cellulari. Nei diversi tipi di patologia si evidenzia la variazione delle SD di V, C e S, ad indicazione di eterogeneità morfologica anomala. Nelle MDS i neutrofili ipolobulati e ipogranulati vengono descritti con la diminuzione di S e C. Anche nelle patologie linfoproliferative le caratteristiche di grandezza cellulare e densità interna vengono rilevate dalle medie di V, C, S in modo differenziato a secondo del quadro morfologico. Quindi i PP nei campioni patologici variano, rispetto ai normali, in modo specifico in base alla patologia. Le informazioni fornite dai PP, offrono valore aggiunto, perchè si possano indirizzare i casi patologici verso un percorso diagnostico adeguato.

VALUTAZIONE PRELIMINARE DEL D-DIMER IMMULITE 2000

A-25

G.L. Salvagno, G. Lippi, L. Rossi, M. Montagnana, M. Pasetto, R. Poffe, G.C. Guidi
Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona, Verona

Scopo del lavoro: La determinazione del D-dimero è tuttora il gold standard biochimico per la diagnosi d'esclusione di tromboembolismo venoso e coagulazione intravascolare disseminata. La disponibilità di metodi in grado di produrre risultati rapidi ed attendibili anche in regime d'urgenza è essenziale, poiché influenza sostanzialmente l'outcome di queste patologie.
Materiali e Metodi: Il nuovo D-dimero per Immulite 2000 (DPC, Los Angeles, USA) è un dosaggio immunoenzimatico in fase solida a due siti in chemiluminescenza, in grado di fornire risultati quantitativi su campioni primari di plasma citrato o eparinato entro 30 minuti.
Risultati: Le prove di precisione su tre campioni con valori sotto (700 FEU/mL), sopra (8000 FEU/mL) ed al cut-off diagnostico (900 FEU/mL) hanno prodotto i seguenti risultati: coefficiente di variabilità (CV) intra-assay (n=10): 2.2-5.1%; CV inter-assay (n=10): 2.9-6.0%. La prova di linearità ha prodotto risultati eccellenti nell'ambito di concentrazioni comprese tra 650 e 15000 FEU/mL (y=0.993x+217; r = 1.000). Il confronto tra campioni in sodio-citrato e litio-eparina (y = 0.976x-264, r = 0.995) conferma che possono essere utilizzati entrambi i campioni, previa correzione per il fattore di diluizione del plasma citratato. Il confronto con il metodo di riferimento (Vidas D-dimer, bioMerieux, Marcy l'Etoile, Francia), è soddisfacente (y=2.11x-644, r=0.969). L'analisi mediante curva ROC (Receiver Operating Characteristic) ha prodotto un'area sotto la curva (AUC) pari a 0.961 ($p<0.0001$). Alla soglia diagnostica di 1000 FEU/mL, sensibilità e specificità sono pari all'85% e 100 % rispetto al metodo di riferimento (Vidas D-dimer, cut-off <500 ng/mL).
Discussione: nuovo D-dimero per Immulite 2000 conferma ottime prestazioni analitiche. La buona precisione, l'ampio intervallo di linearità, la possibilità d'impiegare provette primarie di plasma citratato o eparinato e l'applicazione sull'analizzatore completamente automatizzato Immulite 2000 lo rendono una valida alternativa al metodo di riferimento per la determinazione sia in routine che in urgenza del D-dimero.

INFLUENZA DELLA CENTRIFUGAZIONE SUI TEST COAGULATIVI

A-26

G.L. Salvagno, G. Lippi, M. Montagnana, G. Poli, G.C. Guidi
Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona, Verona

Scopo del lavoro. Il test d'urgenza hanno una considerevole importanza nella gestione dei processi diagnostici e terapeutici. Il turnaround time (TAT) è un aspetto cruciale, molto influenzato dalla procedure di separazione dei campioni. Scopo del presente studio è la valutazione dell'impatto del tempo di centrifugazione sui test coagulativi.
Materiali e metodi. È stato valutato il tempo di protrombina (PT), il tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT), il fibrinogeno, la conta leucocitaria, eritrocitaria e piastrinica su 10 campioni di soggetti volontari. I campioni sono stati centrifugati nella stessa centrifuga per 1, 2, 5, 10 e 15 minuti a temperatura ambiente e 15 00 g.
Risultati. La conta piastrinica è inversamente proporzionale al tempo di centrifugazione. Variazioni statisticamente significative sono state rivelate fra procedura di riferimento (15 minuti a 1500g) e 5 minuti o meno di centrifugazione per il fibrinogeno e 2 minuti o meno di centrifugazione per l'APTT (Tabella 1).
Discussione. Questo studio sperimentale ha dimostrato la possibilità di ridurre i tempi di centrifugazione del campione per test coagulativi di routine a 10 o 5 minuti senza inficiare la qualità analitica dei campioni e riducendo il TAT.

	Bias desiderabile	Tempo di centrifugazione				
		15 min	10 min	5 min	2 min	1 min
Leucociti, 10^9/l		0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.02	0.43±0.38†
Eritrociti, 10^{12}/l		0.01±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01†	0.05±0.02‡	0.06±0.03‡
Piastrine, 10^9/l		20±9	39±14‡	127±52‡	316±112‡	434±149‡
Tempo di protrombina (s)	±2.0%	12.06±0.56	12.06±0.56	12.00±0.57	11.97±0.61	11.96±0.58
Tempo di tromboplastina parziale attivato (s)	±2.3%	30.27±1.95	30.27±1.92	30.39±1.98	30.77±1.87‡	30.98±1.82‡
Fibrinogeno (mg/dL)	±4.8%	403±97	401±97	395±96†	380±93‡	366±94‡

Nella tabella sono riassunti i risultati dei test di coagulazione ed ematologici ottenuti su 10 campioni di soggetti volontari, centrifugati a 1500 g per 15,10, 5, 2, 1 minuti in una centrifuga convenzionale. I risultati sono espressi come media ± deviazione standard. Le differenze fra campione di riferimento (15 minuti a 1500g) sono stati valutati con il test di t-Student per dati appaiati († P <0.05, ‡ P <0.01).

DETERMINAZIONE DEI VALORI DI RIFERIMENTO PER L'OMOCISTEINA PLASMATICA

A-27

D. Giavarina, A. Fortunato, S. Consolaro, G. Secco, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. Calcolare gli intervalli di riferimento per l'omocisteina è complesso, per la difficoltà di identificazione della popolazione di riferimento. L'utilizzo di metodi indiretti può rappresentare una valida alternativa, valutata in questo lavoro.
Materiali e metodi. Sono stati considerati i risultati per tHcy misurati nel periodo 1/6/2004 - 23/11/2005 con metodo di fluorescenza polarizzata (FPIA, IMX, Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA). Si sono considerate le classi di età <15 anni, tra 15 e 65 anni e maggiore di 65 anni. I limiti si riferimento sono stati calcolati secondo Kairisto (Scand J Clin Lab Invest 1995; 222 suppl.:43-60), utilizzando il software GraphROC. Basandosi sul presupposto che gran parte dei risultati del laboratorio derivino da soggetti non affetti da condizione patologica, la moda della distribuzione di frequenza è definita uguale a quella di una popolazione di riferimento, mentre sono calcolate due emigaussiane (dx e sx), su cui sono stimati i limiti.
Risultati. 445 risultati sono stati prodotti nel periodo considerato. La tabella riporta i limiti di riferimento ottenuti, ripartiti per età e sesso). La numerosità per i soggetti con meno di 15 anni non era sufficiente, ed è riportato il valore massimo misurato (*).
Discussione. I limiti di riferimento risultano superiori a quelli proposti in letteratura (rispettivamente per ragazzi, adulti e anziani: 10, 15 e 20 µmol/L). La numerosità non è molto ampia e questo potrebbe essere causa di bias rispetto al metodo diretto di calcolo, per un eccesso di "positivi" nella popolazione studiata.

L'approccio diretto avrebbe però necessitato di 120 campioni per ogni classe di età (360 campioni, senza distinguere per sesso). Il metodo indiretto applicato permette in ogni caso di avere delle informazioni sulla popolazione afferente e di verificare nel tempo la validità dei limiti di confronto utilizzati, in funzione anche del cambiamento dei metodi e delle calibrazioni.

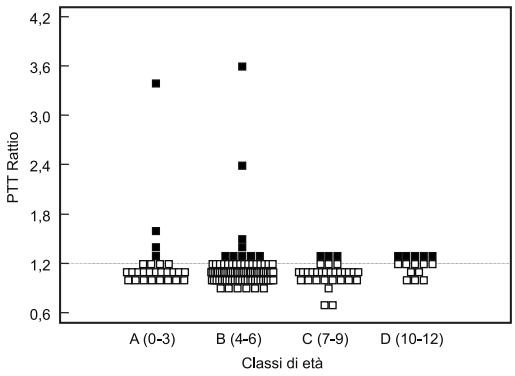
		numero	2,5°	97,5°
			µmol/L	*µmol/L*
ragazzi <15 anni		4		10*
adulti 15-65 anni		386	5	19
	Maschi	164	7	19
	Femmine	222	6	18
anziani > 65 anni		124	8	22
	Maschi	69	10	23
	Femmine	55	7	20

PREVALENZA DI INIBITORI ASPECIFICI DELLA COAGULAZIONE IN BAMBINI IN VALUTAZIONE ANESTESIOLOGICA PRECHIRURGICA

A-28

D. Giavarina, L. Urbani, G. Rossettini, A. Bedin, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. Non esistono evidenze a sostegno degli screening emocoagulativi preoperatori. Ciononostante la prassi è ancora molto diffusa, specialmente per le età pediatriche, dove l'anamnesi può essere difficile da raccogliere e la storia clinica troppo breve per la comparsa di episodi emorragici. La presenza di inibitori aspecifici della coagulazione determina spesso allungamenti non significativi del tempo di tromboplastina parziale attivato (aPTT) e rappresenta un problema per i ritardi nella programmazione degli interventi. Abbiamo valutato la prevalenza di questi casi nella nostra realtà.
Materiali e metodi. Il test aPTT è eseguito con reagente PTT (Roche) su STA-R (Roche, Basel, Switzerland). Sono stati considerati i soggetti da 0 a 12 anni, pervenuti al laboratorio per visita anestesiologica pre-intervento (prevalentemente otoiatrico), nel periodo 15/06/2005 - 12/06/2006 (164 bambini in totale).
Risultati. 21 soggetti su 164 hanno presentato un valore di aPTT ratio (r) > di 1,2 ed in particolare 14 soggetti 1,3 r, due soggetti 1,4 r e 5 soggetti da 1,5 a 3.6 r. La figura mostra i risultati raggruppati per classi di età. I valori > di 1,2 r sono marcati in nero.
Discussione. La prevalenza di inibitori aspecifici interessa tutte le classi considerate, ma valori < di 1,5 r si sono riscontrati solamente in soggetti con meno di 6 anni. Tutti questi soggetti sono stati sottoposti ad intervento senza complicazioni emorragiche, ma a tutti è stata richiesta la ripetizione del test e, al permanere della positività, sono stati misurati il fattore VIII e IX, oltre alla richieste di consulenza ematologica. La sensibilità alla presenza di inibitori aspecifici reagente dipendente è probabilmente correlata alla sensibilità del reagente stesso agli inibitori di tipo lupico. Complessivamente, con un reagente mediamente sensibile, come quello utilizzato in questa valutazione, circa il 13% dei soggetti subisce dei ritardi all'intervento. L'utilizzo di reagenti meno sensibili può ridurre il problema, ma una maggiore appropriatezza dell'uso del test rimane auspicabile.



APPLICABILITA' DEL D-DIMERO NELLA PRATICA CLINICA: DUE METODICHE A CONFRONTO

A-29

F. Antonelli * L.Masotti L. Villani* G.C. Landini
*U.O. Laboratorio Analisi chimico Cliniche e Microbiologiche, U.O. Medicina Interna
Ospedale Civile Cecina Azienda USl 6 - Cecina (Li)

Introduzione: Il principale ruolo del D-Dimero nella pratica clinica è rappresentato dalla sua applicazione nella diagnostica della malattia tromboembolica venosa. Un D-D negativo associato ad una bassa probabilità clinica pre-test valutata mediante scores a punteggio ha un alto potere predittivo negativo nell'escludere la diagnosi. Esistono differenti metodiche di dosaggio che hanno diversa sensibilità, specificità e potere predittivo negativo. Il principale limite del suo utilizzo del è rappresentato dall'elevata aspecificità. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare la percentuale di negativi e quindi indirettamente la potenziale applicabilità clinica nella malattia tromboembolica venosa del D-D dosato con due differenti metodiche in diverse fasce d'età ed in differenti tipologie di pazienti afferenti al nostro Presidio Ospedaliero.
Materiali metodi: Dal 1/03/04 al 30/05/05 è stata utilizzata la metodica immunoturbidimetrica Dade-Behring (sensibilità 96.8%, specificità 46.2%). Dal 1/06/05 al 25/08/06 è stata utilizzata la metodica Elisa Vidas BioMerieux (sensibilità 100%, specificità 32%). Abbiamo confrontato i valori di D-D, con le due metodiche in pazienti suddivisi per fasce d'età crescenti ed afferenti al Pronto Soccorso o ricoverati in Medicina Interna, Cardiologia, Chirurgia ed Ortopedia.
Risultati. Nei periodi considerati è stato effettuato il dosaggio del D-D con metodica Dade in 1909 pazienti e con metodica BioMerieux in 777 pazienti. La percentuale di pazienti con D-D negativo sul totale dei pazienti è risultata 68% con metodica immunoturbidimetrica contro 19% con metodica ELISA. La percentuale di pazienti con D-D negativo è risultata progressivamente decrescente con l'aumentare dell'età per entrambe le metodiche (≤ 54 anni 79% con metodica Dade contro 47% con metodica Vidas BioMerieux, 55-64 anni 84% vs 35%, 65-74 anni 74% vs 25%, 75-84 anni 67% vs 14%, ≥ 85 anni 55% vs 1%). Medesimo andamento è risultato suddividendo tipologia di pazienti. Nei pazienti ricoverati in Chirurgia ed Ortopedia il D-D è risultato negativo nel 66% con metodica Dade e nell'8.5% (0% in Ortopedia) con metodica Vidas BioMerieux.
Conclusioni. L'applicabilità clinica del D-D decresce progressivamente con l'età sia nei pazienti afferenti al PS che nei pazienti ricoverati, soprattutto in ambito chirurgico, limitandone il ruolo a pochi pazienti. Tra le metodiche analizzate, il dosaggio del D-D con metodica ELISA più sensibile, in associazione ad un test di probabilità clinica consente di escludere con maggior probabilità TVP e EP in pazienti non ospedalizzati. L'elevato costo e la bassa percentuale di D-D negativo con la metodica ELISA dovrebbero indurre a riconsiderare il ruolo di questo marker nella pratica clinica, soprattutto nel paziente anziano ed ospedalizzato.

TROMBOFILIA: INCIDENZA DELLE CAUSE DI TROMBOFILIA NEI CASI DI TROMBOEMBOLISMO VENOSO DI UN CENTRO TAO IN LIGURIA

A-30

E. Intra, S. Bellotti, S. Leoncino, L. Norese, G. Paglialunga, A. Pescarollo, D. Serra
Ospedale Evangelico Internazionale, Genova

Scopo del lavoro è stato valutare l'incidenza delle cause congenite ed acquisite di tromboembolismo venoso (TEV) seguiti presso il Centro FCSA del nostro ospedale negli ultimi tre anni: il TEV comprende la trombosi venosa profonda (TVP) e l'embolia polmonare (EP) e rappresenta la più comune patologia cardiovascolare dopo l'infarto acuto del miocardio e l'ischemia cerebrale, oltre ad essere causa importante di mortalità e di morbilità. L'incidenza annuale di TVP è di circa 145 casi per 100.000 abitanti(1) ed il rischio aumenta in modo proporzionale con l'età (2).
Materiali e metodi: sono stati studiati 204 casi di TEV verificando la positività ai seguenti test emocoagulativi, utilizzando ACL TOP: Proteina C, S ed Antitrombina (test cromogenici), fibrinogeno (Clauss), dosaggio F VIII:C e LAC (DDRVVT ed SCT). E' stata effettuata la ricerca degli anticorpi anti cardiolipina, anti β- 2 GPI ed antiprotrombina (met. EIA), dell'omocisteina (met. FPIA) ed infine sono state effettuate le ricerche delle mutazioni del Fattore V Leyden e del Fattore II (ibridazione inversa).
Risultati: I casi di TEV osservati evidenziano una prevalenza della fascia d'età tra i 60 e 90 anni (79%). Le TVP degli arti inferiori sono state 132 ed i casi con EP 62. I rimanenti 10 casi comprendevano 5 con diagnosi di trombosi retinica, 2 tromboflebiti ricorrenti migranti, 1 trombosi splenoportale e 2 di trombosi venosa cerebrebrale. L' incidenza percentuale del deficit congenito di proteina S libera del 1.98 %, di proteina C del 3.92 %, di AT del 1.40%, di mutazione del fattore V Leyden del 3.94% e di mutazione della protrombina del 2.45%. I soggetti con iperomocisteinemia osservati sono stati pari al 9.80%, con valori medi di 15.77 μmol/L. L'incidenza dei casi con positività ai test per la ricerca dell'anticoagulante lupico (DDRVVT ed SCT) è stata pari al 8.33%, di cui solo il 48% aveva anticorpi anticardiolipina e/o anti beta2 glicoproteina.Infine i casi con aumento del fibrinogeno osservati erano il 7.35%, mentre quelli con fattore VIII: C il 14.70%.
Discussione: la ricerca delle positività per cause congenite si è dimostrata particolarmente utile per la diagnosi eziologica e l'inquadramento terapeutico dei 61 casi (30% circa)di TEV idiopatica osservati, dei quali sono stati indagati anche i collaterali di primo grado. Inoltre le ricerche effettuate hanno consentito di selezionare i casi ad alto rischio di ricadute, come le TEV LAC positive con valori elevati di anticorpi anti cardiolipina e/o anti β-2 GPI per le quali sono indicati valori più elevati di decoagulazione e TAO a lungo termine.

Bibliografia: 1. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Melton LJ: Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population - based cased - control study.Arch. Intern. Med. 2000; 160: 809 - 15.
2. Howell MD, Geraci JM. Congestive heart failure and outpatient risk of thromboembolism: a retrospective,case-control study. J.Clin Epidemiol 2001;54:810-6.

SERUM LEVELS OF SOLUBLE E-SELECTIN, L-SELECTIN AND P-SELECTIN IN AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS PATIENTS

A-31

M.R. Metelli, *P. Bongioanni, F. Fulceri, F. Manzone, C. Domenichini, E. Panicucci, *B. Rossi, P. Pietrini
U.O. Laboratory of Clinical Biochemistry, Department of Experimental Pathology, *Neurorehabilitation Unit, Department of Neuroscience, University of Pisa, Italy.

Aim of the study. Immunological abnormalities have been implicated in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) pathogenesis. Adhesion molecules are markers of activated endothelial cells up-regulated by cytokines. The aim of the present study was to investigate whether the vascular cells of ALS patients are activated.
Materials and methods. We assayed repeatedly over a two-year period soluble E-selectin (sE-selectin), soluble L-selectin (sL-selectin) and soluble P-selectin (sP-selectin) in sera from 69 ALS patients (28 women and 41 men; mean age (± SD): 62 (± 10) years). Disease severity was scored by means of the ALS Functional Rating Scale, and patients subgrouped accordingly into 3 classes: I (scores between 40 and 31); II (scores from 30 to 11); III (between 10 and 0).Blood samples were drawn in the morning, and serum was stored immediately at -20° C. Adhesion molecules were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [R&D Systems].
Results. Presented selectin data concern assays at time of diagnosis (T0) and those at time of the most recent clinical examination (Tn). Mean sP-selectin levels were significantly higher, in class I and class II patients at Tn vs T0 (259.2 ± 343.4 vs 76.6 ± 26.7 ng/ml, p= 0.015 and 240.1 ± 447.0 vs 89.7 ± 44.5 ng/ml, p = 0.03 respectively, Un-paired t test). Mean sP-selectin levels were higher, but non significantly, in class III patients at Tn vs To (176.6 ± 299.5 vs 57.5 ± 26.1 ng/ml respectively). Mean sE-selectin levels were higher, but non significantly, in clas s I vs class II vs class III patients at To (45.4 ± 31.2, 38.3 ± 20.1, and 23.4 ± 3.1 ng/ml, respectively) and at Tn (34.2 ± 12.7, 30.1 ± 16.6, and 29.6 ± 15.9 ng/ml, respectively).Mean sL-selectin levels were mostly in the normal range and did not differ significantly among patients' classes.
Discussion. Our data, although still preliminary, suggest a different role of sE-selectin, sP-selectin and sL-selectin in ALS: the former might be down-regulated when disease worsens. The precise meaning of these findings in terms of vascular cell activation is not clear. Mechanisms involved in such a modulation are nowadays largely unknown: further studies are much needed to confirm our data and shed light on related molecular events.

VALUTAZIONE DI UN NUOVO TEST ELISA PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI ANTI GLIADINA

B-01

S. Finazzi, G. Re, S. Forlani, B. Bollini, M. Lotzniker
Laboratorio Analisi AO Civile di Legnano

Scopo del lavoro. Attualmente la diagnostica della celiachia fonda principalmente sulla determinazione degli anticorpi (Ab) anti tranglutaminasi (tTG) ed anti endomisio (EMA) dotati di maggior sensibilità e specificità, riservando l'impiego degli Ab antigliadina (AGA) IgA/IgG in età pediatrica o in casi particolari. L'antigene gliadina, modificato ad opera della tTG2, ha peraltro un ruolo cardine quale chiave di innesco dell'attivazione immunologia T e B; per tale motivo è stato recentemente approntato un test ELISA che impiega un peptide sintetico deimidato di gliadina. Nel presente studio le performance del nuovo test sono state valutate su una casistica selezionata di pazienti con quadri sierologici disarmonici.
Materiali e Metodi. Casistica: 50 pazienti della seguente tipologia: 46 celiaci di cui 16 osservati in diagnosi e 30 in monitoraggio con Ab anti tTG positivi ma EMA negativi o non valutabili per presenza di ASMA e 4 pazienti non celiaci con positività per AGA. Metodo in valutazione: Quanta Lite Gliadin IgA e IgG II (Inova Diagnostic) su Plato Autoimmunità Menarini. Metodi routinariamente in uso presso il laboratorio: anti tTG = Quanta Lite h-tTg IgA su Plato Autoimmunità Menarini, AGA IgA e IgG mediante tecnica FEIA su Unicap 100, Phadia, EMA IgA con tecnica IFA su esofago di scimmia (Inova Diagnostic). Per la valutazione sono stati utilizzati i valori di riferimento consigliati dai singoli produttori.
Risultati AGA. Pazienti in diagnosi = concordanza di 14/16; le 2 discordanze sono relative ad 1 caso IgG Inova pos/Phadia neg e 1 caso IgA e IgG Inova neg/Phadia pos. Pazienti in monitoraggio = concordanza di 29/30, discordanza in un solo caso (IgG Inova pos/Phadia neg). Pazienti non celiaci = concordanza 0/4; le discordanze sono relative a 2 casi IgA e IgG Inova neg/Phadia pos e 2 IgG Inova neg/Phadia pos.
Discussione e Conclusioni. La concordanza globale dei risultati con i 2 metodi appare buona (92% per AGA IgA e 88% per AGA IgG), anche in considerazione della bassa standardizzazione dei test antigliadina. La negatività di AGA IgG II Quanta Lite nei non celiaci (da confermare su una casistica specifica più ampia) potrebbe suggerire una maggiore specificità del nuovo test, di possibile ausilio diagnostico nei pazienti con deficit selettivo di IgA, in affiancamento all'impiego ancora critico di Ab anti tTG IgG.

VALUTAZIONE DELLE IMMUNOGLOBULINE SIERICHE IN 173 SOGGETTI DOWN IN ETA' EVOLUTIVA

B-02

A. Bonasera°, M. Piccione*, E. Caravello°, M. Martines*
°Laboratorio di Analisi Cliniche-Dipartimento Universitario Materno Infantile Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico,Palermo.*U.O Pediatria e TIN Dipartimento Universitario Materno Infantile-Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico,Palermo

Scopo del lavoro: L'anomalo sviluppo del sistema immunitario nella sindrome di Down,spiega l'elevata suscettibilità alle malattie respiratorie,alle malattie autoimmuni, e l'aumentato rischio di neoplasie.L'immunità umorale è alterata nei bambini con trisomia 21 al di sopra dei 6 anni di vita.Scopo del lavoro è valutare l'evoluzione del pattern anticorpale(IgA,IgG,IgM) in un gruppo di soggetti Down in età evolutiva.
Materiali e Metodi: Sono stati esaminati i sieri di 173 soggetti Down,divisi per età in due gruppi:uno con età compresa tra i 6 mesi-5 anni(n.60 soggetti), ed uno con età compresa tra 6 e 18 anni(n.113 soggetti).Le Immunoglobuline sono state determinate mediante metodo immunoturbidimetrico.
Risultati: Nel I gruppo(età 6 mesi-5 anni)su 60 pazienti,6(10%)mostrano deficit di IgA, 14(23,3%)soggetti mostrano un aumento sierico delle IgA, 12(20%)mostrano aumento dei livelli sierici di IgG, in 4(6,6%)soggetti si è evidenziato deficit di IgM.Nel II gruppo(età compresa tra 6 e 18 anni) su 113 soggetti Down, 7(6.2%)mostrano deficit di IgA, 4(3,5%)deficit di IgG, 45(39,8%)aumento dei valori sierici di IgG,in 16(14,1%)si è evidenziato deficit di IgM.
Discussione e conclusioni: L'immunità umorale dei soggetti con trisomia 21 non mostra nei primi anni di vita sostanziali differenze rispetto alla popolazione generale. Nella nostra esperienza l'aumento dei valori sierici delle IgA e delle IgG si è evidenziato già dai 4 anni di età.Dopo il sesto anno,invece,come già segnalato in letteratura,si riscontra una tendenza all'aumento dei livelli sierici delle Immunoglobuline,in particolare delle IgA e delle IgG,con riduzione delle IgM,con conseguente maggiore rischio per infezioni batteriche.

INFEZIONI DA H. PYLORI ASSOCIATE A TIROIDITE ED ORTICARIA CRONICA: FOLLOW UP CON UREA BREATH TEST E SPETTROMETRIA DI MASSA ISOTOPICA

B-03

C. D'Amario*, A. Di Sante*, G. Fiore, M. Cervone***, B. Raggiunti**,**
* U.O. Patologia Clinica, ** U.O. Endocrinologia, *** U.O. Allergologia Ospedale San Liberatore Atri (TE)

Scopo del Lavoro: Le infezioni gastriche da H. Pylori sono associate con elevata frequenza a tiroidite e ad orticaria cronica autoimmune.Col nostro lavoro ci siamo preoccupati di valutare la presenza attiva di H.p., con somministrazione di Urea C13 ,in pazienti Immunoallergopatici e gli eventuali miglioramenti clinici dopo terapia eradicante.
Materiali e Metodi: Ai fini dello studio è stato creato un protocollo per cui i pazienti con disturbi tiroidei,allergopatici con orticaria e positivi per H. Pylori venivano sottoposti, nel nostro Ospedale, ad un profilo ematochimico di funzionalità tiroidea, di immuno-allergologia - autoimmunità ed al Breath Test con Urea C13.
Presso il nostro Laboratorio viene effettuato il test al respiro dopo somministrazione di Urea marcata con isotopo stabile del Carbonio 13 e doppia lettura T zero e T 30 min. con valutazione del Δ di positività con GAS-CROMATOGRAFO e Spettrometria di Massa dedicato , totalmente automatico, modello BreathMATplus-Finnigan.
Sia i substrati (urea)che il sistema diagnostico vengono forniti dalla ditta ABanalitica-Padova.
Risultati: Dal giugno 2004 al giugno 2006 sono stati sottoposti al Breath Test con Urea C13, presso il nostro Presidio, 2000 pazienti (M =750; F=1250, Età media aa 32, range 19-63). La presenza attiva di H.p. è stata confermata in 820 pazienti (41%, F=547, M=273), tutti sottoposti a terapia eradicante specifica. 120 Pazienti (6%) presentavano, in associazione all'infezione da H.P., sintomi e segni di tiroidite ed orticaria cronica.
Discussione e Conclusione: L'attivazione del tessuto linfoide intestinale(GALT) e del complemento da parte di tossine H.P. dipendenti, la presenza di "releasing factors"dell'istamina e la cross reattività tra recettori cutanei e tiroidei spiegherebbe come i pazienti sottoposti a terapia eradicante e negativi successivamente al breath test di controllo, presentavano una riduzione o una completa remissione del quadro allergologico oltre che dei disturbi gastrici. I risultati ottenuti col nostro protocollo ci stimolano a proseguire nella valutazione e nella ricerca di eventuali nessi di causalità tra infezione da H.P e disturbi allergologici ed autoimmuni. L'Urea C13 Breath Test con Spettrometria di Massa isotopica, in completa automazione, ha evidenziato, oltre alla possibilità di gestire un elevato numero di campioni, un alto grado di sensibilità (98%) e specificità (97%), di VPP(98%) e VPN (97%) sia nella diagnosi che nel follow-up di infezioni gastriche da H.p.

B-04

EFFETTI IMMUNOMODULANTI DELLA TELITROMICINA SU ALCUNE FUNZIONI DELLA IMMUNITA' INNATA ED ACQUISITA CELLULO-MEDIATA

G. Lobreglio, S. Scolozzi, L. Frisullo, G. Matarelli, D. Turco, G. Pasanisi
U.O. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera "Card. G. Panico", Tricase, Lecce

Background e scopo del lavoro. Infezioni virali acute o da patogeni atipici (Mycoplasma e Chlamydophila) possono esacerbare i sintomi dell'asma sia nei bambini che negli adulti. Il trattamento per dieci giorni con telitromicina, un macrolide semisintetico, migliora i sintomi dell'asma determinando un significativo aumento del FEV1 a fine trattamento (Johnston et al, N Engl J Med 2006; 354: 1589-600). Questo miglioramento si verifica sia nei pazienti con segni clinici e/o biochimici di infezione da microrganismi atipici che nei soggetti non affetti, facendo ipotizzare un ruolo non solo antibiotico della telitromicina. Lo scopo di questo studio è di valutar e se la telitromicina possa svolgere effetti immunomodulanti, già descritti per altri macrolidi (Wales et al, Thorax 1999; 54 S58-S62), su alcune funzioni dell'immunità innata e dell'immunità acquisita cellulo-mediata.
Materiali e metodi. L'effetto della telitromicina è stato valutato in vitro su sangue fresco di 10 donatori, anticoagulato con litio-eparina, eseguendo i seguenti test: chemiotassi dei granulociti neutrofili con metodo citofluorimetrico (CFM); fagocitosi di batteri opsonizzati da parte di granulociti neutrofili e monociti con CFM; burst respiratorio e Killing O2-dipendente con CFM; test di attivazione dei basofili con anti-IgE e misura dell'espressione del CD203c; test di blastizzazione linfocitaria con fitoemoagglutinina e valutazione dell'espressione di marker di attivazione (CD69, CD25, HLA-DR) in CFM e misurazione della percentuale di cellule in fase S e G2/M del ciclo cellulare. Tutte le indagini sono state eseguite in doppio, entro due ore dal pr elievo di sangue, sia in assenza di telitromicina che previa incubazione con dosi farmacologicamente attive dell'antibiotico.
Risultati e discussione. Rispetto ai valori basali, la preincubazione con telitromicina ha determinato una riduzione media del 53,6% nella fagocitosi dei granulociti polimorfonucleati e del 71,0% nell'attivazione dei basofili. Non si sono osservate variazioni significative nei risultati delle altre indagini effettuate. Questi risultati suggeriscono che la telitromicina ha effetti modulanti sull'attività fagocitaria dei granulociti neutrofili e sull'attivazione dei basofili, che potrebbero complementare l'attività antibiotica della molecola nel determinare il miglioramento dei sintomi dell'asma.

B-05

UN CASO DI L.E.S. CON COMPLICANZE NEURO-PSICHICHE: CORRELAZIONE TRA CLINICA ED ESAMI DI LABORATORIO

E. Trabuio, F. Antico, S. Valverde, G. Gessoni
Servizio di Medicina di Laboratorio A-ULS 14 "Chioggia"

Scopo del lavoro: Il L.E.S. e' una delle patologie autoimmuni più diffuse (0.1%); tra le complicanze possibili si annoverano manifestazioni neuro-psichiche (4% circa) che rientrano tra i criteri ACR classificativi-diagnostici di malattia (VIII criterio). Si vuole evidenziare come gli esami di laboratorio possano essere correlati alle manifestazioni cliniche.
Materiali e metodi: Una donna di 44 anni (P.S.) giunge all'osservazione del medico con evidente eritema a livello facciale, dermatite agli arti inferiori e chiari segni di disagio psichico. Viene effettuata , accanto agli esami di routine la ricerca degli anticorpi anti nucleo (metodo IFI, substrato costituito da cellule HEP 2) e successivamente, data la positività di questi ultimi, valutata la presenza di anticorpi anti Dna nativo (metodo IFI, substrato Crithidia luciliae, Euroimmun) e di anticorpi anti antigeni nucleari estraibili (ENA, metodo immunoblotting, Euroimmun).
Risultati: I test impiegati hanno evidenziato: positività per ANA (titolo 1/640) con pattern omogeneo, positività per anticorpi anti ds DNA, (titolo 1/20), presenza di anticorpi anti RNP, anti Sm, anti SSA, in immunoblotting. La paziente ha effettuato dei controlli negli anni successivi che confermavano gli esiti iniziali e supportavano la diagnosi di L.E.S. Recentemente, la paziente è tornata ripetutamente alla nostra osservazione. Gli esami di laboratorio hanno evidenziato positività ANA (titolo 1/320) con variazione del pattern dapprima in senso omogeneo- granulare (marzo 2006) e successivamente tipo " speckled " (maggio 2006). In quest'ultimo si notava inoltre una debole positività citoplasmatica (tipo milky way). Si confermava in entrambi i ca si la positività per anticorpi anti ds DNA (titolo 1/20). La ricerca degli anticorpi anti ENA, oltre a confermare quanto visto in precedenza, evidenziava nell'ultimo controllo la presenza di anticorpi anti ribosoma P (RPP),riscontrabili nel 45-90% dei casi di L.E.S. con manifestazioni neuro-psichiatriche . Ulteriore conferma si aveva dalla positività delle cellule principali di stomaco di ratto con metodo IFI.
Discussione e Conclusioni: La positività degli ANA ed i risultati ottenuti dai successivi approfondimenti (nDNA, ENA), hanno reso possibile, supportando il quadro clinico,l'inquadramento della patologia autoimmune (L.E.S.) e della sua componente neuropsichiatrica, dimostrando come il dato di laboratorio sia indispensabile nella definizione nosologica della patologie auitoimmuni e di grande utilità nel chiarire quadri compositi e le eventuali complicanze, anche infrequenti.

VALUTAZIONE DI DUE NUOVI TEST ELISA PER IL DOSAGGIO DEGLI AUTOANTICORPI ANTI -MITOCONDRIO M2 E ANTI-RNP SU STRUMENTAZIONE AUTOMATICA ENEA SYSTEM III

B-06

N. Bizzaro 1, R. Tozzoli 2, D. Villalta 3 , D. Visentini 4, A. Picierno 4, E. Tonutti 4
1 Laboratorio Tolmezzo (UD), 2 Laboratorio Latisana (UD), 3 Immunologia e Virologia Pordenone, 4 Immunopatologia e Allergologia Udine

Scopo del lavoro: Il nostro studio si propone di valutare le performances analitiche e l'efficienza diagnostica di due nuovi test ELISA per la ricerca degli autoanticorpi anti-mitocondri M2 (AMA-M2) e anti-RNP, applicabili allo strumento ENEA SYSTEM III (Bioallergy, Fiumicino). Gli AMA sono presenti nel 90% di soggetti con cirrosi biliare primitiva (CBP). Gli AMA-M2 si riscontrano inoltre in pazienti asintomatici molti anni prima della diagnosi di CBP. Gli anticorpi anti-RNP si riscontrano nel 95-100% dei casi in pazienti affetti da connettivite mista (CM) nei quali un elevato titolo è considerato il principale marker sierologico della malattia. Gli anticorpi anti-RNP sono presenti in percentuale minore anche in altre malattie autoimmuni sistemiche quali il LES e l'artrite reumatoide (AR).
Materiali e metodi: La determinazione del test ELISA AMA-M2 è stata eseguita su 16 pazienti affetti da CBP per la determinazione della sensibilità e su 70 sieri (14 campioni di soggetti sani e 56 con patologie autoimmuni diverse da CBP) per la determinazione della specificità. Tutti i sieri sono stati esaminati anche in IFI su fegato e rene murini (Inova, San Diego, CA) e immunoblot (Euroimmun, Lubecca, Germania) e i risultati messi a confronto. Per quanto riguarda il test ELISA anti-RNP sono stati testati 19 pazienti affetti da CM e come gruppo di controllo sono stati esaminati complessivamente 119 sieri (60 campioni di soggetti sani e 59 affetti da patologie autoimmuni diverse da CM, LES e AR); i sieri sono stati valutati anche con il test ELISA Diastat anti-RNP (Axis Shield, Dundee, UK). L'esecuzione dei due test Bioallergy è stata fatta sulla strumentazione ENEA SYSTEM III, analizzatore automatico in grado di eseguire metodologie ELISA in fase solida con curve master memorizzate.
Risultati e conclusioni: I risultati ottenuti indicano che il test AMA-M2 Bioallergy è dotato di una buona efficienza diagnostica avendo identificato, con il cut-off ad alta specificità (1.1 UI/ml), 15 su 16 pazienti positivi (sensibilità = 96.9%) e 70 su 70 pazienti negativi (specificità = 100%), mentre con il cut-off ad alta sensibilità (0.4 UI/ml) 16 su 16 pazienti sono risultati positivi (sensibilità = 100%) e 61 su 70 pazienti sono risultati negativi (specificità dell'87%). Il test ELISA anti-RNP Bioallergy è dotato di una buona efficienza diagnostica avendo identificato con il cut-off di 20 U/ml 19 su 19 pazienti positivi (sensibilità = 100%) e 119 su 119 pazienti negativi (specificità = 100%).

LA CONSERVAZIONE A LUNGO TERMINE DI CAMPIONI DI SIERO CONGELATO O LIOFILIZZATO NON MODIFICA LA CONCENTRAZIONE DEGLI AUTOANTICORPI ANTI-NUCLEO

B-07

N. Bizzaro *, P. Pasini **, D. Villalta ***
Laboratori di Patologia Clinica Ospedali di * Tolmezzo (UD) e ** San Donà di Piave (VE), *** Servizio di Immunologia Clinica e Virologia, A.O. S. Maria degli Angeli, Pordenone

Scopo dello studio. Uno degli aspetti di possibile criticità nella esecuzione di test immunologici, qualora si utilizzino sieri stoccati, è legato alla stabilità della reattività anticorpale in rapporto alla refrigerazione e conservazione per lunghi periodi. In questo studio, è stato valutato il comportamento di alcuni campioni di siero con specificità autoanticorpali diverse, in rapporto al tempo e alle modalità di conservazione.
Materiali e metodi. Quattro sieri prelevati nel 1997 a pazienti con LES (specificità anti-RNP, Sm e Ro/SSA; titolo in immuno-fl uorescenza indiretta (IFI) 1:1.280), sindrome di Sjögren (Ro/SSA e La/SSB; 1:640), polimiosite (Jo1; 1:80) e sclerosi sistemica (Scl70; 1:5.120), sono stati suddivisi in aliquote e, dopo aggiunta di sodio azide, conservati in parte a –20 °C e in parte a –80°C. Una serie di aliquote è stata liofilizzata e conservata in frigo a +4°C. I campioni sono stati esaminati all'inizio dello studio e poi con cadenza annuale per 10 anni, utilizzando metodi di IFI, ELISA e immunoblot di diversa produzione.
Risultati. Il titolo anticorpale in IFI di tutti 4 i sieri si è mantenuto costante nell'arco dei 10 anni, con una oscillazione al massimo di una diluizione, sia nei sieri congelati a –20 e a –80°C che nei campioni liofilizzati. Il campione positivo per anti-Jo1 ha evidenziato una stabilità assoluta, mantenendo sempre la stessa reattività (1:80) osservata nel campione testato all'inizio dello studio. Allo stesso modo, non vi sono state variazioni nella posi tività in ELISA e in immunoblot dei diversi sieri in rapporto alle modalità di conservazione.
Conclusioni. Questo studio ha dimostrato che la conservazione di campioni di siero stabilizzati e liofilizzati o congelati alla temperatura di –20 °C o inferiore, mantiene costante per lunghissimi periodi (almeno 10 anni) la concentrazione degli anticorpi caratteristici delle malattie reumatiche autoimmuni. Le modeste variazioni nel titolo anticorpale sono verosimilmente imputabili all'utilizzo di substrati diversi e alle diverse condizioni di lettura dei preparati durante il periodo dello studio.

DIAGNOSI PRECOCE DELL'ARTRITE REUMATOIDE: VERIFICA DI UNA STRATEGIA ATTRAVERSO METODI DIAGNOSTICI A CONFRONTO

B-08

P. Sabatini *, A.Tedesco*, B. Sessa*, P. Amato, P. Danise***
*UOC di Patologia Clinica,D.E.A.II Umberto I-Nocera Inferiore-A.S.L.SA1; **Dipartimento di Medicina A.S.L.SA1

Scopo del Lavoro: Lo studio ha lo scopo di confrontare i metodi diagnostici classici e quelli di ultima generazione per la determinazione del Fattore Reumatoide (RF) e degli anticorpi anti-peptide ciclico citrullinato (CCP),come marcatori sierologici per la diagnosi precoce dell'Artrite Reumatoide(AR).Sono utilizzati il test tradizionale per la valutazione del RF-IgM con metodo nefelometrico (sensibilità 75% e specificità dell'80%),il test di agglutinazione di Waaler-Rose,il nuovo test multiplex Fidis Reuma per il dosaggio simultaneo dei RF di classe IgM diretti contro IgG umane e animali,che utilizza il sistema Luminex (specificità umana: sensibilità del 100%, specificità del 99.2%- specificità animale: sensibilità del 98.2%, specificità del 99.4%) ed il test ELISA per gli anticorpi anti-CCP.
Materiali e Metodi: Lo studio include una popolazione di 215 pazienti costituita da 70 pazienti affetti da AR,70 pazienti affetti da ECA HCV correlata, 20 pazienti affetti da altre connettiviti, 55 donatori sani.I metodi diagnostici utilizzati sono stati:il test convenzionale con metodo nefelometrico per la determinazione del RF-IgM, (test di agglutinazione con particelle di latex sensibilizzate con IgG umane,DADE BEHRING); il test di agglutinazione di Waaler-Rose con emazie di coniglio sensibilizzate con IgG animali(BIOMERIEUX);il nuovo test multiplex Fidis Reuma(BIOMEDICAL DIAGNOSTICS) che utilizza il sistema Luminex costituito da microsfere identificate da colori differenti,un citometro a flusso,un hardware e un software per l'elaborazione dei segnali digitali;il test commerciale ELISA per la determinazione degli anticorpi anti-CCP2(INOVA).
Risultati: I risultati hanno evidenziato una soddisfacente correlazione tra il dosaggio del RF con metodi convenzionali(nefelometria ed emoagglutinazione) e con il sistema Fidis(concordanza del 93%).Inoltre,con la metodologia Fidis è stata rilevata una specificità superiore di circa il 5% rispetto ai metodi convenzionali. Infine, la valutazione degli anticorpi anti-CCP ha confermato l'alta specificità (99 %) del test nei confronti della diagnosi precoce di AR e nel follow-up della malattia.
Discussione e conclusioni: La diagnosi di AR nelle fasi iniziali della malattia si è dimostrata essere di particolare importanza.Una diagnosi precisa consente di instaurare una terapia mirata e tempestiva,al fine di limitare la progressione delle lesioni osteolitiche gravi e dolorose,e garantire al paziente una migliore qualità di vita.Una strategia diagnostica che preveda il dosaggio di marcatori sierologici come l'RF con metodi tradizionali e di nuova generazione,e degli autoanticorpi anti-CCP, incrementa la specificità della diagnosi,soprattutto nei primissimi stadi dell'AR.

ANTICORPI ANTI-FATTORE INTRINSECO COME MARCATORI PER LA DIAGNOSI DELL'ANEMIA PERNICIOSA:UN CASO CLINICO

B-09

P. Sabatini *, A. Tedesco*, R. Marchitiello*, A. Di Palma*, C. Esposito*, A. Aliperta**
*UOC di Patologia Clinica,D.E.A.II Umberto I-Nocera Inferiore-A.S.L.SA1
**UO di Medicina,P.O. Sarno-A.S.L. SA1

Scopo del lavoro: L'anemia perniciosa essenziale (morbo di Addison-Biermer) rappresenta il prototipo delle forme di anemia megaloblastica.Essa configura il quadro clinico classico da carenza di vitamina B12 come conseguenza di un deficit di assorbimento gastroenterico isolato della vitamina.Questa condizione si realizza in seguito all'azione di autoanticorpi IgG anti-mucosa gastrica, associati ad anticorpi anti-Fattore Intrinseco(IF).Meno frequente è la presenza isolata di anticorpi anti-IF.Gli autori descrivono un caso clinico di anemia megaloblastica in un soggetto anziano,con presenza isolata di anticorpi anti-IF.
Materiali e metodi: Una donna (C. I.) di 63 anni,affetta da aortomiocardiosclerosi,ECA HCV-correlata, gozzo nodulare eutiroideo, diabete mellito,in occasione di un controllo routinario, presenta un quadro ematologico di anemia megaloblastica (Eritrociti 2.25M/uL, Hb 10.40g/dL, MCV 133 fL) e modesta leucopenia (Leucociti 3,76K/uL).La presenza di anemia, associata a sintomi gastroenterici, neurologici (andatura atassica) e i dati di laboratorio impongono un approfondimento diagnostico strumentale e laboratoristico. La paziente viene sottoposta a gastroscopia con biopsia, eco addome e tiroide. Si valuta la morfologia midollare e periferica e si eseguono gli esami ematochimici comprendenti la determinazione di vitamina B12 e acido folico e la ricerca di anticorpi anti-parete gastrica con metodica IFI su stomaco di ratto e di primate e di anticorpi anti-IF, ricercati con tecnica di immunodot (ALIFAX).
Risultati: Gli esami strumentali non presentano aspetti patologici, mentre la biopsia evidenzia una moderata gastrite cronica attiva con metaplasia intestinale. I livelli di vitamina B12 e acido folico risultano ridotti. La ricerca di anticorpi anti-parete gastrica è negativa, mentre sono presenti gli anticorpi anti-IF. Sullo striscio periferico si osserva macrocitosi, anisopoichilocitosi e PMN pluri-segmentati, mentre lo striscio midollare mostra iperplasia eritroide con macro-megalocitosi.
Discussione e conclusioni: Il sospetto di anemia perniciosa, oltre alla valutazione dell'emocromo,è indotto da segni clinici specifici,in particolare neurologici che rendono indispensabile l'approfondimento diagnostico.Il caso descritto appare di particolare interesse sia clinico,per la sintomatologia neurologica, sia laboratoristico,per la presenza isolata di anticorpi anti-IF. Questa condizione, più frequente in età giovanile, va considerata quando, in presenza della sintomatologia, la biopsia e la ricerca degli anticorpi anti-parete gastrica sono negative. Essa configura un disordine autoimmune spesso associato ad altre patologie su base disreattiva immunitaria organo-specifiche.

MODALITA' PREANALITICHE NELLA PREPARAZIONE DI CAMPIONI DI SIERO PER LA IDENTIFICAZIONE DI CRIOGLOBULINE

B-10

M. Tani, B. Milanesi*
Responsabile U.O.Semplice Laboratorio Analisi P.O.Gavardo-Salò A.O. "Desenzano del Garda"
*Direttore Dipartimento di Medicina di Laboratorio A.O. "Desenzano del Garda"

Scopo del lavoro
Negli ultimi anni abbiamo assistito ad un aumento dell'interesse nei confronti della ricerca della identificazione delle crioglobuline, visto il loro riconosciuto legame con malattie infettive virali, con patologie di carattere ematologico e/o immunologico. Al crescente interesse clinico corrisponde un aumento delle richieste per il laboratorio che deve trattare in modo accurato i campioni da utilizzare in queste ricerche, cercando il più possibile di evitare errori nella fase preanalitica. Non ci soffermeremo in questa sede sulle modalità di prelievo o sui tempi di incubazione/precipitazione, bensì vogliamo concentrare il nostro impegno sulle modalità di preparazione del campione prima di sottoporlo ad immunofissazione, dal momento che anche questa fase è estremamente critica, potendo facilmente perdere il crioprecipitato!
Materiali e metodi
A tal proposito abbiamo utilizzato una metodica di recente introduzione (CrioKit, Helena, Milano) che ci è sembrata di facile applicazione senza richiedere l'utilizzo di particolari risorse. Una volta ottenuto, il precipitato viene sottoposto a pochi semplici passaggi per rimuovere sostanze interferenti ricorrendo a lavaggi utilizzando due specifiche soluzioni denominate A e B contenenti rispettivamente soluzione salina tamponata e BSA cui è stato aggiunta una sostanza peptido-simile;in questo caso la soluzione va preparata in proporzione al criocrito (0,2 ml per 1%).
Risultati
Il crioprecipitato lavato è stato quindi sottoposto ad identificazione utilizzando lo strumento denominato SAS3/SAS4 (αWassermann, Milano) in grado di eseguire elettroforesi ed immunofissazioni su gel di agarosio; gli antisieri utilizzati sono quelli distribuiti dal Produttore. Dopo avere apprezzato la qualità dei tracciati ottenuti abbiamo deciso di stressare la metodica sottoponendo dopo 10 giorni gli stessi campioni a migrazione, rilevando una inalterata qualità e ripetibilità della metodica.
Discussione e Conclusioni
Anche se il numero di campioni è stato limitato, proponendo osservazioni di carattere preliminare, riscontriamo come la procedura consenta di ottenere un precipitato stabile, salvaguardandone la qualità anche a distanza di giorni. Con l'incremento della richiesta di ricerca ed identificazione di crioglobuline tali metodiche non sono più appannaggio di laboratori di ricerca ed è opportuno che ogni laboratorio abbia a disposizione una metodica semplice, ripetibile con la quale procedere correttamente sin dalle fasi preanalitiche.

ACCERTAMENTO DELLA PROTEZIONE ANTITETANICA CON UN TEST RAPIDO

B-11

S. Valaperta, S. Brambilla, C. Filippi, M. Longo, A. Montanelli
Laboratorio Analisi Cliniche, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

Scopo del lavoro: Il tetano è ancora oggi un problema mondiale; l'Italia registra il più alto numero di casi tra le nazioni europee. Secondo i dati pubblicati dai CDC di Atlanta nel 1995 la copertura anticorpale nei soggetti vaccinati comincia a decadere dopo i 40 anni, per limitarsi al 30% dopo i 70 anni; la popolazione più colpita dalla malattia infatti è quella di età superiore ai 65 anni, ed in particolare di sesso femminile (3/1). Questi dati sembrano giustificati dall'aumento della longevità, che implica una perdita dell'immunocompetenza, e dal fatto che gli uomini più spesso godono dell'opportunità di una vaccinazione di richiamo (servizio militare, attività lavorative a rischio, ecc). Ci siamo proposti di valutare le performances analitico-diagnostiche e la praticabilità di un point of care test ed esprimere, mediante la sua applicazione, una stima della protezione anticorpale nei soggetti ottuagenari.
Materiali e metodi: Il Teta-test (RADIM) è un test rapido one-step per la determinazione degli anticorpi anti-tetano basato sul principio dell'immunocromatografia; impiega una combinazione di tossoide adeso alla fase solida e di tossoide coniugato con oro colloidale. E' effettuabile con pochi µL di siero, plasma o sangue intero con sviluppo della reazione e lettura in 20 minuti. La sensibilità del test è di 0.1-0.2 IU/mL, corrispondente alla soglia stabilita a livello internazionale come cut-off per accertare la copertura anticorpale. Abbiamo testato con il test rapido e con un metodo ELISA 40 sieri di pazienti ultraottuagenari (24 femmine e 16 maschi) reclutati senza alcun criterio di selezione.
Risultati: Tutti i campioni sono stati processati con entrambi i metodi, ottenendo una concordanza di risultati pari al 100%. E' stata riscontrata una positività anticorpale protettiva nel 7.5% (3/40) dei soggetti: nel 4% delle donne (1/24) e nel 12.5% (2/16) degli uomini.
Discussione e conclusioni: Il Teta-test è risultato di facile esecuzione, robusto e di costi contenuti. Con queste caratteristiche si candida quale test da eseguire in Pronto Soccorso a favore dei soggetti esposti al rischio (onde limitare il ricorso all'immunoprofilassi con le IgG specifiche, non scevra da effetti collaterali) e per il follow-up dei protocolli d'immunizzazione. A favore delle persone di età superiore ai 65 anni, in considerazione dell'incidenza della malattia e della sua letalità (43%), pare razionale proporre una valutazione del livello di immunizzazione con il test rapido, per un'eventuale vaccinazione di richiamo, in occasione delle campagne antinfluenzali.

UN NUOVO TEST IMMUNOMETRICO MULTIPLEX PER LA DIAGNOSI DI ICTUS CEREBRALE

B-12

R. Tozzoli 1, G. Bertola 2, V. Formentini 1, G. Kodermaz 1, A.R. Perosa 1, A. Venudo 1, O. Fantin 2

1) Dipartimento dei Servizi, Laboratorio Analisi Chimico-cliniche e Microbiologia, Ospedale di Latisana (Ud); 2) Dipartimento di Emergenza-Accettazione, Servizio di Pronto Soccorso, Ospedale di Latisana (Ud)

Scopo del lavoro. L'ictus cerebrale costituisce un importante causa di morte a livello mondiale e nei paesi industrializzati e rappresenta una condizione frequente di ricovero dei pazienti nei Servizi Ospedalieri di Pronto Soccorso-Medicina d'Urgenza. La diagnosi e la prognosi sono complesse e si fondano classicamente su dati clinici e di diagnostica per immagini. Del tutto recentemente evidenze sperimentali segnalano che nuovi marcatori biochimici plasmatici (Peptide natriuretico di tipo B, Metallo-proteinasi 9, D-Dimero, Proteina S-100 β) appaiono particolarmente utili per l'inquadramento clinico di questi pazienti. Scopo del lavoro è stata la valutazione del significato diagnostico e prognostico di questi nuovi marcatori biochimici in un gruppo di pazienti affetti da patologie cerebrali.
Materiali e metodi. Sono stati studiati 29 pazienti affetti da ictus e 23 pazienti affetti da altre patologie di interesse neurologico (accessi ischemici transitori, sindromi convulsive, neoplasie cerebrali, comi post-anossici) consecutivamente affluiti presso il Dipartimento di Emergenza di un Ospedale di rete. Sui campioni di plasma dei pazienti è stato effettuato il dosaggio dei nuovi marcatori biochimici mediante un metodo immunometrico a determinazione multipla (Triage Stroke Panel, Biosite Diagnostics, S. Diego, USA), che fornisce un indice complessivo dei risultati quantitativi di ciascun marcatore (indice multiplo: MMX).
Risultati. Valori di MMX inferiori a 1.4 erano costantemente presenti in pazienti non affetti da ictus o da patologie cerebrali. Valori di MMX superiori a 4.6 nei pazienti affetti da patologie cerebrali presentavano una sensibilità per ictus elevata (95%), anche se la specificità non era ottimale (75%). L'indice multiplo è risultato costantemente superiore a 7 nei pazienti con ictus a decorso clinico sfavorevole, cioè deceduti durante la degenza.
Conclusioni. L'impiego di marcatori biochimici plasmatici apre nuovi orizzonti per la diagnosi di ictus cerebrale e si affianca ai test più consolidati per una più accurata definizione della diagnosi e della prognosi della malattia.

VALUTAZIONE DELLA CALPROTECTINA FECALE QUALE MARCATORE DI MALATTIE INTESTINALI CRONICHE

B-13

A. Melegari, E. Baraldi, A.T. Scacchetti, A.Fortuna, A. Carbonieri
Servizio di Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Azienda O.U. Policlinico- Modena

Premessa. La Calprotectina , proteina antimicrobica appartenente al gruppo delle proteine Ca leganti della famiglia S100, e' un marcatore del turnover dei granulociti neutrofili e la sua concentrazione risulta aumentata in diverse condizioni infiammatorie. L'utilita' e l'affidabilita' nella diagnosi e nel monitoraggio dell'attivita' delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali e' stata recentemente oggetto di numerosi lavori rivolgendo l'interesse alla Calprotectina misurabile nelle feci e al suo ruolo nell'ambito gastroenterologico. Il Laboratorio Analisi Chimico Cliniche dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico di Modena, ha avviato da un anno una sperimentazione della Calprotectina fecale in collaborazione con il nostro reparto di Gastroenterologia e con le Gastroenterologie pediatriche del nostro Policlinico e quella di Rimini.
Scopo del lavoro. Il nostro obiettivo è quello di confrontare le distribuzioni dei pazienti con diagnosi certa di MICI con quella dei controlli sani. Questo obiettivo è parte del protocollo sperimentale già avviato e che si pone come risultato finale quello di valutare nel tempo l'outcome dell' utilizzo di questo test.
Materiali e metodi. Durante questa prima fase di sperimentazione sono stati analizzati 60 campioni, provenienti sia da pazienti affetti da MICI che da soggetti sani. Il protocollo ha previsto numerosi criteri di inclusione e di esclusione. La raccolta del campione di feci e' avvenuta mediante dei dispositivi standardizzati dedicati. Per l'esecuzione dell'esame e' stato utilizzato il test Elisa Calprest (Eurospital Diagnostics, Trieste).
Risultati. Valori di calprotectina superiori a 100 µg/g feci sono stati osservati nei pazienti con MICI, mentre i soggetti sani hanno mostrato valori inferiori a 50 µg/g feci.
Conclusioni. Dalla sperimentazione, seppur parziale, appare che il dosaggio della calprotectina come marker diretto di flogosi intestinale può essere considerato nella pratica clinica un test di primo livello per orientare la diagnosi di MICI. Solamente una valutazione e un impiego di questo test protratto nel tempo potranno fornirci gli elementi per dimostrarne l'importanza nel monitoraggio terapeutico, nell'attivita' della malattia e nell'outcome.

FOLLOW UP A CINQUE ANNI DEI PAZIENTI ANTI POLY (DT) POSITIVI CON DIAGNOSI CLINICA NON CERTA

B-14

I. Brusca, M. Barrale, P. Li Vigni, V. Cantisano, F. Sarullo, S.M. La Chiusa
Ospedale Buccheri La Ferla F.B.F. Palermo

Introduzione. Il ruolo dell' immunità innata è largamente studiato come causa della perdita di tolleranza. E' stato evidenziato in diversi studi, che l'interazione tra i Toll Like Receptor 9 e antigeni del DNA conduce alla formazione di anti DNA. Il DNA modificato dai radicali ossidrilici, (ROS-DNA), rispetto al DNA nativo, mostra una maggiore antigenicità, con una capacità di legame agli autoanticorpi fino a 300 volte superiore. Tra i ROS-DNA, il Poly (dT), è uno degli antigeni maggiomente studiati. Nel presente lavoro abbiamo effettuato un follow up ad 1 e 5 anni di pazienti poly (dT) positivi, non affetti all' esordio da malattie del connettivo.
Materiali e Metodi. Su 456 pazienti consecutivi, inizialmente sospettati di malattia autoimmune, sono stati ricercati gli anti poly(dT) (INNO LIA ANA, Innogenetics, Ghent-Belgium). 88 erano anti poly(dT) positivi. 55/88 erano affetti da malattie del connettivo (28 affetti da LES di cui il 92.31% poly (dT) positivi), 8 erano donne con Fetal Loss di cui 5 anti cardiolipina negativi. 1 paziente era affetto da epatopatia cronica HCV-positiva, 7 da neoplasie, 12 da malattie infettive acute, 5 con diagnosi clinica non certa. In questi 33 pazienti nel primo anno della nostra osservazione sono stati dosati a 3, 6 e 12 mesi gli anti poly (dT), in immunofluorescenza ANA ed anti nDNA , in ELISA anti nucleosomi ed anti ENA.
Risultati. Gli anti poly (dT) si sono negativizzati nel primo anno solamente in 9/12 pazienti con malattie infettive. Nel corso del 1° anno abbiamo documentato una transitoria positività degli anti nucleosomi a 3 e 6 mesi in 2 pazienti affetti da Brucellosi. Il follow up a 5 anni nel gruppo affetto da Feta l Loss ha evidenziato variazioni in due casi: una paziente è diventata dapprima anti nucleosomi e poi anti nDNA positiva (diagnosticato LES), nel secondo caso si è avuta solamente una persistente positività degli anti nucleosomi, in assenza di altri segni clinici. Il paziente epatopatico è deceduto, cosi come i pazienti neoplastici. Il gruppo dei pazienti con malattie infettive non ha più presentato positività autoanticorpali Nel gruppo dei pazienti privi di diagnosi clinica, in un caso è stata fatta diagnosi di artrite reumatoide, un paziente ha presentato due successivi episodi di pericardite senza significative evoluzioni del quadro anticorpale.
Conclusioni. I nostri dati mettono in evidenza come la forte immunogenicità dei ROS DNA possa essere causa di sensibilizzazione ad essi in patologie infiammatorie di varia natura. Abbiamo documentato come, in alcuni casi, vi sia una evoluzione verso la formazione di anticorpi diretti contro nucleosomi e DNA nativo, anche transitoria, confermando le ipotesi patogenetiche formulate in letteratura.

VALUTAZIONE DI UN SISTEMA AUTOMATICO PER LA LETTURA DELL'INTENSITÀ DI REAZIONE NELLA RICERCA DI AUTOANTICORPI CON METODICA IMMUNO-DOTBLOT

B-15

M. Tampoia, A. Zucano, A. Fontana, M.C. Petrelli, A. Massaro, A. Calamita, F. Di Serio
U.O. Patologia Clinica I, Policlinico di Bari

Scopo del lavoro. Valutare un sistema automatico per la determinazione semiquantitativa dell'intensità di reazione di campioni positivi alla ricerca di autoanticorpi mediante metodica di immunodot-blot.
Pazienti e metodi. Sono stati valutati 50 campioni, 42 provenienti da pazienti affetti da epatopatia autoimmune (13 EA I tipo, 5 EA II tipo, 1 EA in corso di LES, 2 EA overlap) e 8 provenienti da pazienti affetti da cirrosi biliare primitiva. Otto pazienti, 4 affetti da EA I tipo , 3 EA II tipo ed 1 EA in corso di LES sono stati valutati nel follow-up. La ricerca degli autoanticorpi anti F-actina, anti-Liver Kidney Microsomial (LKM), anti-mitocondrio (AMA), anti- ribosoma è stata eseguita con metodica IFI su cellule HEp-2 e tessuti di ratto(Euroimmun SpA Padova) e con metodica immuno-dotblot (Alifax SpA, Padova).Un sistema automatico Blue Dot (Alifax SpA, Padova) è stato utilizzato per la lettura semiquantitativa della reazione di positività ottenuta con il metodo immuno-dotblot. L'intensità di colore di ciascun dot è analizzata e convertita, mediante un software, in un valore numerico arbitrario compreso tra 0 e 100.
Risultati. La concordanza tra i risultati ottenuti con la lettura in IFI e quelli ottenuti con la valutazione automatica dei dot è stata del 100% (13 positività anti F-actina,5 anti-LKM,8 AMA,1 anti-ribosoma,2 doppie positività AMA/anti F-actina). Il metodo immuno-dotblot ha evidenziato due doppie positività anti-LKM1/ anti-LC1, altrimenti non diversificabili con l'IFI e confermato due doppie positività anti-M2/anti-F-actina.Le diluizioni scalari ottenute con il metodo IFI hanno evidenziato una positività all'end point compresa tra 1:320 e1:1280.La determinazione semiquantitativa ottenuta con il sistema automatico ha dato un range di positività compreso tra 5 e 100 unità arbitraria. Nei pazienti seguiti nel follow-up la concordanza tra metodi è stata del 100%. I pazienti affetti da EA tipo I, positivi per autoanticorpi anti-F-actina, hanno mostrato una riduzione del titolo autoanticorpale in corso di follow-up sia in IFI che in dot-blot.
Conclusioni. La lettura del dot-blot con sistema automatico ha mostrato un ottimo grado di concordanza con i risultati in IFI. Nei pazienti in diagnosi tale sistema permette in un'unica seduta analitica sia la caratterizzazione della specificità autoanticorpale evidenziata con l'IFI, sia la determinazione semiquantitativa del titolo; nei pazienti in follow-up permette in un'unica seduta analitica la valutazione semiquantitativa del titolo evitando la successiva diluizione scalare.

PREVALENZA DEGLI AUTOANTICORPI ANTI-PROTEINE CITRULLINATE IN PAZIENTI AFFETTI DA EPATOPATIE AUTOIMMUNI

B-16

M. Tampoia, A. Fontana, A. Zucano, P. Maggiolini
U.O. Patologia Clinica I, Policlinico di Bari.

Scopo del lavoro. Valutare la prevalenza di autoanticorpi anti-peptide ciclico citrullinato (anti-CCP) ed anti-vimentina citrullinata modificata (anti-MCV) in pazienti affetti da epatopatia autoimmune e di correlarli alla presenza di manifestazioni reumatologiche.
Pazienti e metodi. Sono stati valutati 34 pazienti affetti da epatopatia autoimmune (18 EA I tipo, 16 EA II tipo), 20 pazienti affetti da epatite HCV-correlata, 10 soggetti sani e 34 pazienti affetti da AR, ACR classificati. La ricerca degli autoanticorpi anti-proteine citrullinate è stata eseguita mediante metodica immuoenzimatica (Anti-CCP Immunoscan RA, EuroDiagnostica, Diasorin; Anti-MCV, Orgentec, Bouty). Su tutti i campioni inoltre è stata eseguita la ricerca del fattore reumatoide-IgM (FR-IgM) con metodica nefelometrica. Una valutazione clinica reumatologica è stata effettuata nei pazienti risultati positivi ad uno o entrambi i test.
Risultati. Autoanticorpi anti-CCP sono risultati positivi in 2 (11%) pazienti affetti da EA tipo I ,in 1 soggetto sano(10%) ed in 21 (62%) pazienti affetti da AR.Autoanticorpi anti-MCV sono risultati positivi in 10 (55%) pazienti affetti da EA I tipo, in 4 (25%) pazienti affetti da EA tipo II ed in 26 (76%) pazienti affetti da AR (P.0008). La concentrazione anticorpale media degli autoanticorpi anti-CCP è stata di 13.22 +/-9 U/mL nei pazienti affetti da EA I tipo, di 9.58 +/- 6.21 U/mL nei soggetti sani, di 354+/-491.7 nei pazienti affetti da AR (P<.0001). La concentrazione anticorpale media degli autoanticorpi anti-MCV è stata di 42.56 +/- 46.40 U/mL nei pazienti affetti da EA I tipo, di 20.13 +/-16.76 U/mL nei pazienti affetti da EA II tipo, di 240+/- 367 nei pazienti affetti da AR (P .0008). Nessuna differenza statisticamente significativa è stata evidenziata tra le concentrazioni medie di autoanticorpi tra i pazienti affetti da EA tipo I e EA tipo II (P .06 per anti-CCP; P .07 per anti-MCV). Nessuno dei pazienti affetti da epatite HCV-correlata è risultato positivo a questi autoanticorpi. Nessuno dei pazienti affetti da epatite autoimmune di I e II tipo, positivi a tali autoanticorpi, contemplava i criteri ACR per la diagnosi di AR . 8 pazienti affetti da EA I tipo e un paziente affetto da EA II tipo presentavano positività al FR-IgM.
Conclusioni. Gli autoanticorpi anti-proteine citrullinate possono essere presenti nei pazienti affetti da epatite autoimmnune. Essi potrebbero far parte della varietà di autoanticorpi presenti in questa patologia e meno probabilmente essere predittivi dello sviluppo dell'AR.

ATORVASTATIN INDUCES ATHEROSCLEROTIC PLAQUE STABILITY IN HUMANS BY ELICITING A TH2 RESPONSE

B-17

E. Toniato 1, R. Faricelli 1, C. Cuccurullo 2, M. Fazia 2, S. Esposito 1, A. Iezzi 2, M. Flacco 1, A. Allegrini 1, S. Rabottini 1, M. Quaranta 1, G. Filippi 1, A. Ciaramellano 1, M. Di Mascio 1, S. Martinotti 1, A. Mezzetti 2, F. Cipollone 2
1 Center for Excellance on Aging – Unit of Clinical Pathology, University of Chieti, Chieti, Italy
2 Center for Excellance on Aging – Unit of Internal Medicine, University of Chieti, Chieti, Italy

Objective: Atherosclerosis is an inflammatory disease of the arterial wall where an adaptive Th1-driven immunoinflammatory response contributes to atherosclerotic plaque progression towards instability by mediating inflammatory cell recruitment and activation and extracellular matrix degradation. Statins exert actions beyond that of simply lowering cholesterol levels, and some effects on immune function have been reported. In part icular, recent data in vitro demonstrated that atorvastatin may orient immunity from a Th1 towards a Th2-prevalent profile. However, whether this effect is also present in human in vivo, and therefore could contribute to plaque stabilization after statin therapy is still unknown. Thus, in this study we investigated the effect of atorvastatin on Th1/Th2 cytokine release in atherosclerotic plaques derived from patients undergoing carotid endarterectomy.
Methods: Seventy patients with severe (>70%) stenosis of the extracranial tract of the internal carotid artery were randomized to the American Heart Association Step 1 diet plus atorvastatin (20 mg/d) or the American Heart Association Step 1 diet alone for 3 months before endarterectomy. ELISA was performed on plaque omogenates to assess the release of IL-4, IL-10, IL-12 and INFγ. Plaques were also subjected to analysis of INFgamma, MMP-2 and MMP-9, type 1 procollagen content by immunohistochemistry.
Results: Atorvasta tin treatment resulted in a significant (P<0.0001) reduction in plaque concentrations of IL-12 and IFNγ, Th1-associated cytokines. By contrast, production of IL-4 and IL-10, both being Th2-associated cytokines, was highly increased (P<0.0001) by atorvastatin therapy. Plaques from the atorvastatin group had fewer (P<0.0001) immunoreactivity for INF ã, MMP-2 and MMP-9; reduced (P<0.0001) gelatinolytic activity; increased (P<0.0001) collagen content; reduced (P<0.0001) macrophages, T-lymphocytes, and HLA-DR+ cell infiltration.
Conclusions: This is the first demonstration in humans, to the best of our knowledge, that statins may produce a switch from a Th-1 to a Th-2 profile in inflammatory cells infiltrating atherosclerotic plaques. This effect could contribute to plaque stabilization by inhibiting cell recruitment and collagenolytic activity, and in contrast promoting collagen synthesis and deposition.

CALPROTECTINA ED ECP: DUE MARCATORI A CONFRONTO NELLE MALATTIE INFIAMMATORIE INTESTINALI

B-18

A.T. Scacchetti, E. Baraldi, A. Melegari, A. Fortuna, A. Carbonieri
Servizio di Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Azienda O.U. – Policlinico, Modena

Premessa: la Calprotectina, proteina antimicrobica, appartenente al gruppo delle proteine Ca leganti della famiglia S100, e' un marcatore del turnover dei granulociti neutrofili e la sua concentrazione risulta aumentata in diverse condizioni infiammatorie. La Proteina Cationica Eosinofilica (ECP), è una proteina tossica secreta dagli eosinofili in fase di attivazione. Gli Eosinofili, in corso di reazioni allergiche ed infiammatorie, aderiscono all'endotelio vascolare e migrano successivamente nei tessuti in seguito a stimoli chemiotattici: questo giustifica la loro localizzazione in reazioni specifiche. Quando sono attivati, sono in grado di liberare proteine basiche che si ritiene possano svolgere un importante ruolo proinfiammatorio.
Scopo del progetto: l'obiettivo del nostro studio é quello di effettuare un confronto dei due marcatori di infiammazione (Calprotectina ed ECP) nei campioni di feci di pazienti affetti da disturbi intestinali in modo da offrire ai clinici dei percorsi diagnostici alternativi per la diagnosi e il monitoraggio dei pazienti soggetti a malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI).
Materiali e Metodi: sono stati analizzati 45 campioni, provenienti sia da pazienti affetti da disturbi intestinali che da soggetti sani. Per l'esecuzione dell'esame della calprotectina fecale e' stato utilizzato un test ELISA quantitativo (Calprest, Eurospital Diagnostics, Trieste, Italia). I livelli di ECP nei campioni di feci sono stati successivamente dosati nell'eluato fecale ottenuto nella fase preanalitica necessaria per l'estrazione della calprotectina dalle feci, mediante dosaggio immunoenzimatico ECP-FEIA (UniCAP 100, Phadia, Sweden).
Risultati: sono stati utilizzati come valori di cut off quelli proposti dalle ditte fornitrici dei kit utilizzati. Il 42,4% dei campioni ha fornito un risultato positivo per ambedue i test; il 44,6% dei campioni ha fornito un risultato negativo per ambedue i test e nel 13% dei campioni si sono riscontrati risultati discordanti.
Conclusioni: questa sperimentazione, sia pure in fase preliminare, mostra come i due marcatori di infiammazione indagati (Calprotectina ed ECP) risultano positivamente correlati: restano da valutare le caratteristiche di sensibilità e specificità dei singoli test e l'eventuale incremento di efficacia diagnostica dei due test abbinati nelle malattie infiammatorie intestinali.

MARKERS PROTEICI E CELLULARI NELLA DIAGNOSTICA DELLE SEPSI IN NEONATOLOGIA

B-19

C. Bonaguri, L. Battistelli, C. Gnocchi, R. Aloe, A. Russo, R. Rossi,* E. Volante, C. Monica
U.O.Lab.Analisi Emato-Chimiche Azienda Osp.Univ.Parma;*U.O.Neonatologia Azienda Osp.Univ.Parma

Scopo del lavoro. Diversi sono i parametri biochimici utilizzati nella diagnostica e nel monitoraggio delle sepsi e delle sindromi correlate.Introdurre indicatori altamente sensibili, specifici e con valore predittivo elevato ha una valenza strategica per orientare efficacemente la terapia.La procalcitonina (PCT) è un parametro diagnostico in grado di individuare infezioni batteriche gravi,di consentire una diagnosi differenziale con infezioni virali e di predire complicanze derivanti da infiammazioni sistemiche.La Interleuchina 6 (IL6) appartiene alle citochine proinfiammatorie,mediatori chiave per il reclutamento di leucociti,e compare precocemente nelle sepsi.Nei neonati la diagnosi precoce di infezione è difficile perché i sintomi e le alterazioni ematologiche sono sfumati e aspecifici. Inoltre la positivizzazione della Proteina C Reattiva (PCR) il cui dosaggio è comunemente utilizzato nelle sepsi si ha solo dopo 48-72 h dalla nascita. Scopo dello studio è stato valutare in termini di correlazione e/o di complementarietà i risultati relativi ai dosaggi di PCR, IL6 e PCT effetuati su neonati ricoverati per sospetta infezione.
Materiali e Metodi.57 neonati di età compresa fra 1 e 43 gg ricoverati presso il Reparto di Neonatologia sono stati valutati per i dosaggi di IL6, PCR e PCT. Su 7 casi sono stati considerati dosaggi ripetuti in tempi diversi. La IL6 è stata determinata con un saggio ELISA (Bender MedSystems/Alifax) (v.n.0.0-12.0pg/mL), la PCR con tecnica nefelometrica (Berhing) (v.n.0.0-5.0mg/L); per la PCT si è utilizzato un dosaggio immunoluminometrico (Dasit) (v.n.0.0-0.5ng/mL; 0.0-2.0ng/mL <=2gg).I risultati sono stati valutati in termini di coefficiente di correlazione (r) e di percentuali di concordanza positivi/negativi.
Risultati. I dosaggi di IL6 hanno mostrato una correlazione non elevata (r=0.67) con quelli della PCR e , come prevedibile, ancora più scarsa (r=0.36) con quelli della PCT.La valutazione delle percentuali di concordanza positivi/negativi IL6/PCR e IL6/PCT ha rilevato percentuali rispettivamente del 74.9% e del 67.1%. E' interessante segnalare che in 3 casi positivi per IL6 si è osservata una successiva positivizzazione della PCR.
Discussione e Conclusioni. I risultati di questo studio in fase di approfondimento clinico indicano come i markers di infiammazione presi in esame possano rivestire un ruolo differente nella diagnosi di sepsi.Questa complementarietà, in grado di migliorare la performance diagnostica,è correlabile presumibilmente a differenti tempi di comparsa,a una differente sensibilità per quadri particolari (es. la IL6 recentemente viene valutata come marker precoce di danno neurologico neonatale) o a uno specifico ruolo nella diagnosi differenziale dell'agente infettivo.

UTILITA' DEGLI STUDI DI CROSS-REATTIVITA' MEDIANTE CAP-INIBIZIONE NELLA SCELTA DELLA IMMUNOTERAPIA AL VELENO DI IMENOTTERI

B-20

M. Filippini, B. Caruso, S. Meneghelli, D. Nicolis , M. Rocca, N. Melloni, A. Ferrari, R. Dorizzi, P. Bonadonna*, P. Rizzotti
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, *Unità di Allergologia OCM Borgo Trento, Verona

Introduzione. La positività multipla ai test cutanei per Imenotteri corrisponde a cross-reattività IgE verso proteine presenti nei differenti veleni. Il test di Cap inibizione con i veleni che presentano queste cross-reattività identifica meglio quale immunoterapia intraprendere in questi pazienti.
Materiali e Metodi.Sono stati esaminati 14 soggetti adulti (11 maschi e 3 femmine) che presentavano prove cutanee positive a differenti Imenotteri. In questi soggetti sono state dosate le IgE per veleni di ape (Apis mellifera:I1), per veleni di Vespe (Dolichovespula maculata I2;Vespula species :I3;Polistes dominulus:I4D) e calabrone europeo (Vespa crabro:I75) (UniCap 100, Phadia) Successivamente veniva eseguita la Cap inibizione (programma specifico in UniCap 100): il siero del paziente veniva preincubato 12 ore con diluizioni scalari dei veleni da testare (5 diluizioni partendo dalla concentrazione massima di 300ug/l di veleno). Successivamente sul siero così trattato si sono determinano le IgE specifiche contro i diversi imenotteri. La curva standard IgE appositamente diluita ha seguito gli stessi tempi e temperature di incubazione dei campioni.
Risultati. Dei 14 pazienti(pz) con cross-reattività dimostrata in vitro : in 7 pz il veleno a maggior effetto inibente è stato I4D, veleno che ha inibito non solo le IgE specifiche per I4D ma anche per I3; in 2 pz il veleno a maggior effetto inibente è stato I3, questi pazienti però non avevano cross-reattività per I4D (spIgE <1 KU/L); in 2 pz non si è ottenuta dimostrazione di cross-reattività I3 e I4D; e in 3 soggetti una buona inibizione si otteneva con due veleni di famiglie differenti (2 pz con I1+I4D; e 1 pz con I1 + I3)
Conclusioni. La Cap inibizione risulta essere un buon metodo per definire in vitro quale è il miglior veleno in grado di inibire la reattività IgE , ma la scelta del vaccino deve essere sempre concorde con le prove cutanee e la storia clinica.

GLI SCARAFAGGI SONO UN ALLERGENE IMPORTANTE?

B-21

A.T. Scacchetti, E. Baraldi, A. Carbonieri
Servizio di Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Azienda O.U. Policlinico- Modena

Premessa. La Blatella Germanica, comune ospite delle abitazioni, pare possa essere una fonte occulta di disturbi allergici. Di solito, questo scarafaggio, è associato a scadenti condizioni abitative e a fattori socio-economici depressi ma, purtroppo, trova anche collocazioni abitative in ambienti con adeguate condizioni igienico-sanitarie; l'ubiquità di questa blatta risulta dunque tale, da poterla considerare come un rischioso allergene "indoor".
Scopo del lavoro. In questo studio abbiamo testato l'ipersensibilità allo scarafaggio Blatella Germanica in pazienti che all'anamnesi mostravano differenti sintomatologie, non esclusivamente di tipo respiratorio. I pazienti inclusi nella popolazione studiata, risiedevano indifferentemente i n aree urbane e/o sub-urbane con presenza o meno di animali domestici nelle loro abitazioni. Lo scopo di questo lavoro è dimostrare il rischio di sensibilizzazione allergica verso questo scarafaggio, il cui allergene è ritrovabile anche nelle polveri di casa in condizioni igieniche sanitarie adeguate.
Materiali e metodi. Abbiamo valutato 149 pazienti (89 maschi, 60 femmine, di età variabile da 5 a 57 anni) che presentavano i seguenti disturbi: asma, rinite e/o congiuntivite, cefalea, dermatite, prurito, morbo di chron. Sul siero di questi pazienti abbiamo testato l'allergene I6 = Blatella Germanica, con il sistema Specific IgE–Immunocap 250 (Phadia, Sweden) e diversi allergeni di tipo respiratorio.
Risultati. Il 28 % della popolazione testata è risultata positiva alla Blatella germanica con concentrazioni differentemente stratificate per intervalli di riferimento. La frequenza maggiore è stata osservata nell'intervallo di concentrazione 0.7–3.5 kUA/l. La sintomatologia più evidente, che è risultata correlata all'intervallo di cui sopra, apparteneva all'apparato respiratorio. Un paziente affetto da rinocongiuntivite è risultato monosensibile alla blatta. Altre sensibilizzazioni per pneumoallergeni, erano presenti nei pazienti risultati positivi per la Blatella Germanica.
Conclusioni. L'allergene di Blatella Germanica non deve essere sottovalutato, poichè rappresenta un rischio per la popolazione che vive in condizioni potenzialmente correlate alla presenza di questo scarafaggio. Tuttavia esistono vari fattori confondenti (sensibilizzazione ed esposizione a più di un allergene, presenza di infezioni virali e trattamento farmacologico) che possono rendere meno evidente la relazione tra esposizione personale all'allergene della Blatella Germanica e sintomatologia allergica. In ogni caso, può risultare raccomandabile indagare in modo sistematico su una verosimile sensibilizzazione vs questo insetto, soprattutto s e in presenza di una sintomatologia respiratoria, per poter eventualmente adottare misure preventive e di sorveglianza sanitaria.

VERIFICA DEI LIMITI DEL PHADIATOP™ NEL RICONOSCIMENTO DI IGE SPECIFICHE PER ALTERNARIA ALTERNATA

B-22

M. Negri, E. Marzot, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia–Ospedale "S.Bortolo"-Vicenza

Scopo del lavoro. Abbiamo voluto verificare se lo screening per allergeni inalanti Phadiatop™ riesce a rilevare la monosensibilizzazione per la muffa Alternaria alternata (m6).
Materiali e metodi. In un periodo di quattro mesi a tutti i pazienti afferiti al nostro laboratorio per i quali è stato eseguito lo screening per allergeni inalanti Phadiatop™ abbiamo contemporaneamente ricercato le IgE specifiche per Alternaria alternata; i dosaggi sono stati eseguiti con ImmunoCAP 1000 (Phadia AB, Uppsala-Sweden).
Risultati. Sono stati testati 609 campioni: 239 sono risultati positivi al test di screening e di questi 22 sono risultati positivi anche per m6. Nei restanti 370 campioni il test di screening era negativo ma 7 di essi hanno dato risultato positivo per m6.
Discussione e conclusioni. Il Phadiatop™ è un test "in vitro" molto diffuso per lo screening dei più comuni allergeni inalanti (epiteli animali, pollini, acari e muffe). E' stato segnalato che il siero di pazienti allergici solamente verso la muffa Alternaria alternata risultava falsamente negativo con il Phadiatop™. La prova da noi eseguita ha effettivamente confermato tale segnalazione: dei 370 campioni negativi allo screening 7 (1.9%) avevano livelli aumentati di IgE specifiche per m6. La prevalenza della positività per m6 è risultata essere complessivamente del 4.8%; una parte dei pazienti sensibilizzati verso l'Alternaria presenta IgE specifiche anche verso altri allergeni inalanti (nel nostro caso 22 pazienti) e questo la rende rilevabile al test di screening, ma in circa il 25% dei casi si tratta di monosensibilizzazione che sfugge al Phadiatop™. In base ai risultati ottenuti risulta evidente che per eff ettuare uno screening per allergeni inalanti efficace è necessario affiancare sempre all'esecuzione del Phadiatop™ la determinazione delle IgE specifiche per m6, anche perché la sensibilizzazione verso l'Alternaria occupa un posto rilevante nelle allergie respiratorie con sintomatologia asmatica.

VALUTAZIONE DI ESAMI DI LABORATORIO IN PAZIENTI CON ORTICARIA CRONICA

B-23

P. Prandini, P. Perini, B. Milanesi*
Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Laboratori di Patologia Clinica* A.O. Desenzano del Garda

Scopo del lavoro: valutazione del significato e della utilità di alcuni esami di laboratorio nei pazienti con orticaria cronica.
Materiali e metodi: in un gruppo di 15 pazienti (4 maschi e 11 femmine, età media 40.3 anni, range 21-69 anni) affetti da orticaria cronica è stato eseguito un pannello di esami di laboratorio con le metodiche e la strumentazione attualmente in uso presso il nostro laboratorio: esame emocromocitometrico, VES, glicemia, creatininemia, GGT, ALP, elettroforesi proteine sieriche, fT3, fT4, TSH, HIV, HbsAg, HCV, IgE totali, IgA, anticorpi antitransglutaminasi, AMA, RAST per principali allergeni alimentari (latte, albume, grano, merluzzo, pomodoro, mela, arachide, soia, pesca, patata, sedano). Ai pazienti sono stati inoltre eseguiti: test del pomfo con siero autologo (iniezione intradermica con 0.05 ml di siero autologo), prick test per allergeni inalanti, biopsia cutanea di una lesione. I pazienti sono inoltre stati sottoposti a dieta di Freedman (per indagare una possibile intolleranza ad allergeni alimentari).
Risultati: in tutti i pazienti sono stati trovati valori nella norma di: emocromo, VES, glicemia, creatininemia, GGT, ALP, elettroforesi proteine sieriche, fT3, fT4, TSH, IgA, anticorpi antitransglutaminasi, AMA. In 6 pazienti (40 %) sono stati trovati valori aumentati di IgE totali; tra loro 3 (20%) avevano un prick test positivo per allergeni inalanti e/o alimentari. Il RAST per principali alimenti è risultato positivo solo in 1 paziente (6.6%), per il pomodoro. Il test del pomfo con siero autologo è risultato negativo in tutti i pazienti. La biopsia cutanea non è stata eseguita in 6 pazienti per assenza momentanea di lesioni; nei 9 pazienti in cui è stata fatta ha mostrato sempre un quadro istologico di dermatite perivascolare superficiale compatibile con orticaria cronica. La dieta di Freedman ha dato esito positivo (regressione dei sintomi) in 3 pazienti (20%).
Discussione e conclusioni: l'orticaria è una patologia caratterizzata dalla presenza di pomfi pruriginosi, in varie sedi. Attualmente la forma cronica è considerata una risposta infiammatoria della cute e delle mucose a stimoli diversi con intervento di specifici mediatori biochimici. Gli esami di laboratorio eseguiti si sono mostrati scarsamente utili nella diagnosi. Il RAST per principali alimenti si è mostrato pure scarsamente utile. La biopsia cutanea ha mostrato un quadro aspecifico e non ha rivelato mai segni di vasculite. Il test del pomfo autologo non ha rilevato segni di meccanismo autoanticorpale in atto. Complessivamente perciò si conferma la difficoltà nell'inquadramento diagnostico dell'orticaria cronica, patologia ad eziolog ia molteplice e multifattoriale.

INCIDENZA DI EMOGLOBINOPATIE IN UNA ZONA " NON ENDEMICA"

C-01

M. Mercadanti, A. Caleffi, C. Monica
Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Laboratorio Analisi Emato-Chimiche
Azienda Ospedaliero-Universitaria Parma

Scopo del lavoro: Lo scopo è quello di valutare l'incidenza di emoglobinopatie nella popolazione afferente al nostro laboratorio, ubicato in un'area geografica che non è ritenuta endemica per tali patologie, e di verificare se nell'arco di 20 anni sono occorsi significativi cambiamenti, tali da indurre nuovi percorsi diagnostici.
Materiali e metodi. I dati relativi ai casi avviati per lo screening di emoglobinopatie nel 1985, 1995, 2005, sono stati assunti dai registri di lavoro ove, per ogni seduta analitica, vengono registrati i dati anagrafici del paziente, la provenienza (reparti di degenza ed ambulatori dislocati sul territorio), la data ed i risultati dell'analisi.Lo screening è stato condotto in migrazione elettroforetica nel 1985, in HPLC(Variant e Variant II Biorad) nel 1995 e 2005. La diagnosi di β-Talassemia eterozigote classica è stata posta per valori di A2 ≥4.0 %. La conferma di Hb S e C è stata eseguita mediante elettroforesi a pH alcalino, acido, sickling test.
Risultati: I nostri risultati mostrano un'elevata incidenza di β-Talassemia eterozigote classica pari al 22.8% dei referti nel 1985, al 18.5% nel 1995, all'11.4% nel 2005.Esigua la presenza di stranieri portatori di β-Talassemia (assente nell'85, 0.86% nel 95, 5.4% nel 2005). Il rilievo di varianti strutturali è progressivamente aumentato passando dallo 0.71% nell'85, all'1.76% nel'95 per raggiungere il 5.1% nel 2005 (si arriva all'8.2% se includiamo i referti dei pazienti in follow-up).La Hb S costituisce la variante più frequente con 4 casi nell'85, 12 nel '95, 45 nel 2005 (+ 34 referti per follow-up), seguita dalla C (assente nell'85, 4 casi nel 95, 1 2 nel 2005).Nel 2005 erano presenti 2 casi di doppia eterozigoti S/C con 7 referti per follow-up.I casi di HbS comprendevano 11 forme omozigoti e 5 talasso-drepanocitosi. Altre varianti (4 nell'85, 6 nel '95, 8 nel 2005) comprendevano Lepore, varianti veloci e δ nell'85 e '95, mentre nel 2005 erano presenti Hasharon, O Arabia, D Punjab, D Ibadan, J Oxford, tipizzate presso un Centro di II livello diagnostico. Nell'85 le varianti interessavano solo pazienti italiani, negli anni successivi interessavano pazienti stranieri per il 63.6 % nel '95 ed 80.5% nel 2005.
Discussione e Conclusioni: L'elevata incidenza di β-Talassemia eterozigote ed il costante aumento di varianti, quali la Hb S e la C, pongono al laboratorio di I livello diagnostico la necessità di ampliare le conoscenze cliniche e diagnostiche al fine di rilevare ed identificare varianti insolite nella popolazione stanziale. Riteniamo che l'identificazione di varianti diffuse, quali la S e l a C, possa essere competenza del I livello con l'aggiunta di tests di conferma (sickling test, migrazione alcalina ed acida), demandando al II livello solo i quadri complessi.

RIVELAZIONE MEDIANTE PCR REAL TIME DI CHLAMYDIA TRACOMATIS: DATI EPIDEMIOLOGICI RELATIVI ALLA POPOLAZIONE AFFERENTE AL NOSTRO AMBULATORIO

C-02

M. Rongioletti (1), F. Papa (1), B. D'andrea (1), M. Ragni (1), C. Vaccarella (1), R. Mari (2)
(1) U.O.C. di Patologia Clinica Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina- Roma
(2) Dipartimento Materno-Infantile Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina- Roma

Scopo del lavoro: Dopo aver introdotto una nuova tecnologia in biologia molecolare per la diagnosi delle infezioni da Chlamydia abbiamo voluto verificare i dati ottenuti sulla popolazione afferente al nostro Laboratorio nell'anno 2005 e confrontarli con quelli ottenuti in un precedente studio effettuato nel 2000 su una popolazione sovrapponibile a quella attualmente studiata.
Materiali e Metodi: Lo studio è stato effettuato su 2662 soggetti di sesso femminile, i test sono stati effettuati con il kit Artus-Chlamidya Trachomatis Real Time PCR e processati su Rotor-Gene™; 3000 (Corbett Research). La C.trachomatis plus RG master mix contiene reagenti ed enzimi per l'amplificazione di una regione di 106 Pb del genoma di C. trachomatis ed di una regione di 111 Pb di un plasmide criptico di C. trachomatis
Risultati: Con la metodica in Real Time PCR nell'anno 2005 su 2662 pazienti 33 (1.2 %) risultavano positive al test. Nel gruppo delle pazienti positive 31 corrispondente al 93.9% è in gravidanza. Tutte le pazienti risultate positive per C. trachomatis al test di screening sono state sottoposte a terapia in accordo alle indicazioni riportate sexually transmitted deseases treatment guidelines del 2002 emanate dal CDC di Atlanta. Nessuna delle donne sottoposte a terapia ha manifestato problemi di trasmissione verticale dell'infezione ne parti pretermine.
Conclusioni: La prevalenza totale dell infezioni da C. trachomatis è risultata essere in linea con alcuni dei dati riportati in letteratura. Nel nostro studio si è evidenziato come una diagnosi precoce soprattutto durante la gravidanza permette di impostare rapidamente la terapia antibiotica e quindi di minimizzare i problemi derivabili dalla trasmissione verticale dell'infezione e con la possibilità che l'infezione misconosciuta e/o non trattare possa indurre una gravidanza pretermine.

INFEZIONE DA PARVOVIRUS B19 IN PAZIENTE ADULTO: VALUTAZIONE CLINICO DIAGNOSTICA

C-03

P. Minchella, G.I. Potente, R.A. Leone, S. Nisticò, A. Borelli, E. Caruso. G. Vasta*, M.I. Carlei, A. Luciano
S.C. Microbiologia e Virologia, A. S. 6, via Perugini, Lamezia Terme (CZ)
* Medico Medicina Generale

Scopo del lavoro. L'infezione da Parvovirus B19 rappresenta una importante patologia infettiva, talvolta sottostimata. Infatti, oltre ai gravi danni che può indurre nel feto, il Parvovirus B19 determina severi quadri clinici di immunodeplezione anche in soggetti adulti apparentemente sani. Valutare il percorso clinico diagnostico di un paziente con stato febbrile persistente ed esantema, inviato al nostro ambulatorio per consulenza dal suo medico di fiducia. Correlare i risultati ottenuti con il sistema diagnostico EIA per la ricerca di anticorpi anti Parvovirus B19 IgG ed IgM con il quadro clinico.
Materiali e metodi. Paziente di aa. 18, giunto al nostro Ambulatorio con stato febbrile persistente, esantema al tronco ed importante astenia con immunodeplezione (g.b. 1700/µl; neutrofili 860/µl). La nostra valutazione clinica ipotizzava una probabile infezione da Parvovirus B19. Il paziente decideva comunque di sottoporsi a controllo clinico ematologico c/o un altro ospedale della nostra provincia, dove gli veniva consigliato di eseguire tests sierologici per TORCH ed EBV. L'esito negativo ottenuto da questi tests, induceva il paziente a ritornare c/o il nostro ambulatorio per sottoporsi ad indagine sierologica per ricerca di anticorpi anti Parvovirus B19 con metodo EIA (Kit Parvo B19 EIA dosaggio IgG ed IgM, MIKROGEN).
Risultati. La ricerca di anticorpi anti Parvovirus B19 eseguita su un primo prelievo ematico, evidenziava la presenza contemporanea di Ig specifiche sia di classe M che G. Un prelievo successivo, effettuato a distanza di 30 gg. dal primo, confermava la nostra ipotesi e ziologica, con scomparsa degli anticorpi di classe IgM e aumento dell'indice delle IgG. Tali risultati si sono dimostrati perfettamente correlabili con il quadro clinico del paziente.
Discussione e Conclusioni. L'uso del test EIA per la diagnosi di infezione da Parvovirus B19 rappresenta un valido supporto diagnostico da tenere sempre in considerazione in tutte le patologie infettive con esantema. Inoltre, il caso clinico esposto, vuole essere una ulteriore dimostrazione di come la struttura complessa di Microbiologia e Virologia, rappresenti un esempio di medicina integrata. In essa la diagnostica si integra con la clinica, anzi supporta la stessa in maniera decisiva in tutte quelle situazioni in cui, lo staff medico della Microbiologia può, con la sua competenza specifica, dare una valido contributo alla valutazione del paziente. Tale approccio clinico è perfettamente sinergico con quello diagnostico in cui tutte le professionalità presenti nella struttura offrono un quadro esaustivo di come debba muoversi la medicina moderna.

TRASLOCAZIONE t(8;21): DESCRIZIONE DI UN CASO CLINICO

C-04

E. Rimini, S. Vargiu, M. Sale, A. Pasca, L. Rubattu
Laboratorio Analisi - Osp. SSma Annunziata- ASL N.1 Sassari

Nonostante la traslocazione t(8;21) sia la più frequente nella leucemia mieoloide acuta - subtipo M2 (FAB)- il caso clinico oggetto del presente lavoro è stato il primo da noi identificato con metodi di biologia molecolare, che da tempi relativamente recenti sono stati introdotti nello studio delle leucemie.
Lo scopo del lavoro è stato quello di eseguire una diagnosi molecolare della traslocazione t(8;21) che origina il gene chimerico di fusione AML1/ETO.
Materiali e metodi: La paziente, una donna di 62 anni, presentava i seguenti sintomi: intensa astenia, modesto pallore e dispnea da sforzo con petecchie soprattutto agli arti inferiori. Al momento del ricovero l'esame emocromocitometrico mostrava 5200 WBC, 9.9 Hb, 39000 Plt ed una spiccata eosinofilia (42%). All'esame dello striscio al microscopio ottico le cellule identificate come granulociti eosinofili dal contaglobuli si sono invece rivelate blasti mieloidi. Il midollo osseo è stato analizzato con metodiche molecolari, previa estrazione dell'RNA con Fenolo/Cloroformio, successiva retrotrascrizione in cDNA e nested PCR con primers specifici per il gene chimerico AML1/ETO caratteristico della t(8;21), secondo il protocollo Biomed-1 (1).
Risultati: Il campione in esame è risultato positivo per la t(8;21) con il gene di fusione AML1/ETO, come evidenziato dalla presenza di una banda di amplificazione di 260 bp a seguito di elettroforesi sul gel di agaroso all'1.5%. Dopo la diagnosi molecolare, la paziente è stata sottoposta a terapia di induzione. Al successivo controllo dopo ciclo completo di terapia, il campione di sangue periferico presentava 1000 globuli bianchi e all'analisi del vetrino al microscopio ottico erano scomparsi i blasti mieloidi; con l'am plificazione molecolare era comunque sempre evidenziabile la traslocazione cromosomica.
Discussione e conclusioni: Ancora una volta ad una apparente remissione citologica non corrisponde una remissione molecolare. Il prossimo approccio sarà seguire il follow up della paziente con metodiche molecolari quali la PCR quantitativa (2).
Bibliografia: 1.Van Dongen J. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leucemia for detection of minimal residual disease. Leukemia (1999)13,1901-1928.
2. Gabert J et al. Standardization and quality control studies of real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukaemia-A Europe Against Cancer Program. Leukemia (2003),1-40.

C-05

UN NUOVO E SEMPLICE METODO DI DETERMINAZIONE DEGLI ALLELI HLA PER LA MALATTIA CELIACA

S. Teresi (1), S. Drago (2), L. Sineo (3), E. Gucciardino (1), M. Di Pierro (2), G. Stampone (2), G. Clesi (1), A. Carroccio (4), G. Iacono (1)
(1):Di Cristina Hospital of Palermo- Italy; (2):Bionat Italia Srl Palermo-Italy; (3): Department of Biology University of Palermo-Italy; (4): Internal Medicine University of Palermo-Italy

Scopo del lavoro: la Celiachia è un'enteropatia autoimmune scatenata dall'ingestione di glutine nei soggetti geneticamente predisposti. Tutti i celiaci presentano l'aplotipo HLA II DQ2 e/o DQ8. Allo stato dell'arte, i dispositivi di tipizzazione HLA presenti in commercio richiedono tempi operativi lunghi, sono laboriosi e ingombranti. Scopo del presente lavoro è valutare un nuovo e semplice sistema per la tipizzazione degli alleli HLA associati alla Malattia Celiaca (Diagene S.r.l.-Italy).
Materiali e Metodi: sono st ati analizzati i campioni ematici di 21 pazienti celiaci (diagnosticati mediante esame bioptico) e di 69 loro parenti di primo grado. Tutti i campioni sono stati testati, in primo luogo, con il dispositivo "DQ-CD Screen" che consente con un'unica reazione di escludere tutti i soggetti non suscettibili alla Celiachia, ovvero non DQ2 e/o DQ8. In un secondo step, il dispositivo "DQ-CD Typing" ha consentito di determinare, mediante 8 reazioni per campione, i soggetti che presentano gli aplotipi HLA II DQ/DR (DQ2/DR3-DR7 e DQ8-DR4) associati alla Celiachia. Entrambi i dispositivi prevedono una preliminare estrazione rapida di DNA da sangue intero (5 min.), amplificazione genica (2 ore) e rivelazione mediante elettroforesi su gel (8 min.). Per valutare i dati in uscita dai test, i campioni, in parallelo, sono stati tipizzati per gli alleli DQB con un kit di riferimento.
Risultati: tutti i campioni che con il kit DQ-CD Screen sono risultati essere non suscettibili alla Celiachia, sono stati confermati non DQ2 e/o DQ8 con il dispositivo DQ-CD Typing. La concordanza tra i dati in uscita dai dispositivi DQ-CD ed il kit di riferimento risulta essere pari al 100%.
Discussione e Conclusioni: i dispositivi DQ-CD costituiscono un sistema semplice e rapido, con elevata specificità e sensibilità, per la determinazione degli alleli HLA II associati alla Celiachia.

C-06

TIPIZZAZIONE HLA NELLA DIAGNOSI DI MALATTIA CELIACA

M. Garrubba 1, M. Savino 1, F. Perri 2, M. D'Altilia 3, S.A. Santini 1
1.U.O. Patologia Clinica, 2. U.O. di Gastroenterologia, 3. U.O. di Pediatria.
IRCCS Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza" San Giovanni Rotondo (FG)

Introduzione. La malattia celiaca è un'enteropatia indotta dal glutine ad elevata incidenza (1:150 nella popolazione italiana). Numerosi ed interessanti sviluppi si sono susseguiti negli ultimi anni sulla conoscenza dei meccanismi patogenetici e, soprattutto, molecolari alla base della malattia. In tale contesto, la tipizzazione genetica ha acquisito una importanza sempre maggiore. E' noto, infatti, che la celiachia si associa frequentemente alla presenza di specifici alleli DQ2 e/o DQ8 del sistema HLA osservati rispettivamente nel 90-95 % e 5% dei celiaci. Gli stessi alleli sono osservati nel 25-30% dei familiari sani dei celiaci; quindi, la loro presen za è un indicatore di predisposizione genetica alla malattia.
Obiettivi. Scopo principale di questo studio è stato valutare la presenza degli alleli DQ2 e/o DQ8 del sistema HLA nei gruppi a rischio (familiari di primo grado di celiaci, pazienti con diabete mellito insulino-dipendente, con sindrome di Down, ecc..) ed in quelli con risultati sierologici negativi o dubbi al fine di confermare che da un punto di vista diagnostico la tipizzazione HLA ha un valore predittivo negativo quasi assoluto.
Metodologia. Nelll'Unità Operativa di Patologia Clinica del nostro Ospedale, è stata eseguita la determinazione degli aplotipi DQ2 e DQ8 dell'HLA in 92 casi di cui 36 appartenenti a 9 famiglie (2-51 a) e 56 casi (2-66 a) con risultati sierologici dubbi o negativi. I casi in età pediatrica erano complessivamente 34. Gli aplotipi DQ2 e DQ8 dell'HLA sono stati determinati con il il kit Eu-DQ dell'Eurospital.
Risultati. Lo studio molecolare degli alleli DQ2 e D Q8 ha permesso di identificare la loro presenza rispettivamente in 54 (59%) e in 3 (3%) soggetti. Delle 9 famiglie e 56 casi con risultati sierologici dubbi o negativi analizzati sono risultati negativi per entrambi gli alleli rispettivamente 11 (30%) e 19 (33%) soggetti. Dei 34 casi in età pediatrica 7 (20%) sono risultati negativi. Pertanto, nel 33% dei soggetti analizzati l'assenza di entrambi gli aplotipi è indicativa di "assenza di predisposizione genetica alla celiachia" e suggerirebbe la scarsa probabilità del manifestarsi della malattia.
Conclusioni. L'indagine genetica può dunque costituire il test di screening di primo livello per escludere con una elevata probabilità lo sviluppo della celiachia non soltanto nei gruppi a rischio ma anche in tutti quei casi nei quali l'esame istologico della mucosa intestinale o la diagnostica sierologica sia risultata dubbia o negativa. Un tale approccio diagnostico consentirebbe pertanto di evitare inutili follow-up a lungo termine, il che si tradurrebbe in un minor disagio per il paziente e soprattutto in una netta riduzione dei costi economici.

CONTEGGIO ASSOLUTO DEI LINFOCITI CD4+: VALUTAZIONE DELLA STABILITA' DEI CAMPIONI PRIMA DELLA MARCATURA

C-07

S. Indico, L. Forner, U. Pizzolato, M.T. Comberlato, M. Carta
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale S.Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro: la determinazione dei linfociti CD4 + T Helper è fondamentale nel follow up dei pazienti con HIV ed il dato deve quindi essere accurato e riproducibile.
Le Linee Guida attuali (1) raccomandano che l'esecuzione del conteggio dei linfociti CD4 + avvenga in singola piattaforma, con una determinazione diretta su citofluorimetro, grazie all'utilizzo di microsfere a concentrazione nota e utilizzando una quadrupla marcatura (CD3, CD4, CD45, CD8). I campioni devono essere analizzati entro 48 ore dal prelievo secondo le raccomandazioni delle linee guida e anche della ditta produttrice. Scopo del lavoro è stato quello di valutare la stabilità dei campioni, in particolare relativamente al conteggio assoluto dei linfociti CD4+, anche oltre le 48 ore per valutare se in condizioni eccezionali (es. guasto tecnico o altro) è comunque possibile analizzare il campione oltre le 48 h o se è necessario rigettare la richiesta.
Materiali e metodi: sono stati analizzati 10 campioni appartenenti a pazienti HIV positivi e un controllo di qualità per i 5 giorni successivi dal momento del prelievo. Le determinazioni sono state eseguite su citofluorimetro FACS Calibur Becton Dickinson utilizzando una quadrupla marcatura BD (CD3 FITC/CD8 PE/CD45PerCP/CD4APC) in abbinamento all'utilizzo delle provette TruCOUNT (microsfere a concentrazione nota) per determinare le percentuali ed il conteggio assoluto delle singole sottopopolazioni linfocitarie. I campioni raccolti in EDTA sono stati conservati in frigorifero.
Risultati e conclusioni: l'errore di riproducibilità medio dei campioni, calcolato relativamente al c onteggio assoluto dei linfociti CD4+ eseguito in prima giornata, è pari a -2% in seconda giornata, a -2% in terza giornata, -2% in quarta giornata, -7% in quinta giornata. Si assiste quindi mediamente ad un calo dei linfociti CD4+ quantitativamente importante solo tra la quarta e la quinta giornata. Tale andamento rispecchia il comportamento della conta assoluta dei linfociti CD3 + che risulta mediamente immodificata (variazioni solo dell'ordine dell'1%) fino alla quarta giornata. Dalla nostra esperienza si può quindi concludere che, in casi eccezionali, il conteggio dei CD4+ è possibile anche dopo 72h dal prelievo, anche se sono necessarie casistiche più ampie per confermare tale rilievo.
Bibliografia
1. FF Mandy,JKA Nicholson,JS McDougal: Guidelines for Performing Single-Platform Absolute CD4+ T-Cell Determinations with CD45 Gating for Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. MMWR Recomm Rep 52;1-13,2003

ALVEOLITI ALLERGICHE ESTRINSECHE: DEFINIZIONE DEGLI INTERVALLI DI RIFERIMENTO DI IGG SPECIFICHE PER ALCUNE MUFFE

C-08

E. Marzot, M. Negri, D. Giavarina, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia–Ospedale "S.Bortolo"-Vicenza

Scopo del lavoro. Abbiamo voluto verificare sulla nostra popolazione gli intervalli di riferimento delle IgG specifiche per alcune muffe testate nel nostro laboratorio in caso di sospetta alveolite allergica estrinseca.
Materiali e metodi. Sono stati scelti 120 soggetti equamente suddivisi per sesso e classe di età ed esenti da patologie dell'apparato respiratorio per i quali sono state dosate le IgG specifiche per Cladosporium herbarum (Gm2), Aspergillus fumigatus (Gm3), Candida albicans (Gm5), Micropolyspora faeni (Gm22) e Thermoactinomyces vulgaris (Gm23) (sistema UniCAP - Phadia AB, Uppsala-Sweden).
Risultati. I dati ottenuti sono stati elaborati in modo da ricavarne il 95° perce ntile che è risultato: Gm2=32 mg/L, Gm3=52 mg/L, Gm5=113 mg/L, Gm22=11 mg/L, Gm23=28 mg/L.
Discussione e conclusioni. La determinazione degli anticorpi IgG specifici viene richiesta al nostro laboratorio per la diagnostica delle alveoliti allergiche e i risultati vengono refertati utilizzando gli intervalli di riferimento forniti dalla ditta produttrice dei reattivi (Phadia AB): Gm2<50 mg/L, Gm3<150 mg/L, Gm5<200 mg/L, Gm22<25 mg/L, Gm23<55 mg/L. La diversità tra i limiti decisionali proposti dal produttore (più elevati) e i valori di riferimento da noi trovati può dipendere da una effettiva diversità delle popolazioni utilizzate oppure dalla scelta di cut-off più elevati al fine di aumentare la specificità del test. In quest'ultima ipotesi esiste un'area grigia tra valore di riferimento e limite decisionale all'interno della quale non è noto se esista un qualche significato clinico.

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO E REGOLE DI VALIDAZIONE: PERCENTUALE DI CAMPIONI CONTROLLATI AL MICROSCOPIO E VERIFICA DELLA SPECIFICITA' DEGLI ALLARMI

C-09

M. Buttarello, E. Piva, V. Temporin, P. D'Altoè, R. Pajola, M. Plebani
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera/Università-USL16 Padova

Introduzione e scopo del lavoro. Nei moderni laboratori di ematologia, che eseguono svariate centinaia di esami emocromocitometrici al giorno, esigenze di economicità e di riduzione dei tempi di risposta impongono la scelta di sistemi automatici di validazione basati su regole logiche. Queste sono costruite utilizzando dati quantitativi, allarmi strumentali, dati anagrafici e reparto di provenienza del paziente. Le regole scelte dovrebbero annullare i falsi negativi e rendere il più basso possibile il numero dei falsi positivi.
In questo lavoro è stata controllata la specificità delle regole che inviano al controllo microscopico e quella dei corrispondenti allarmi strumentali che hanno contribuito alla loro attivazione.
Materiali e metodi. Sono stati controllati i campioni inviati all'esame microscopico in 5 giorni nel mese di Agosto 2006 provenienti da un totale di 5277 campioni (pazienti ricoverati e ambulatoriali). L'esame emocromocitometrico è stato eseguito sul sistema SYSMEX HST e le regole sono state implementate sul SIS (Dasit, Milano). Nel caso in cui il campione sia stato bloccato da più regole scattate contemporaneamente, la valutazione è stata fatta per ciascuna di esse ed è stato verificato se al microscopio è stato confermato il singolo allarme (concordanza piena), se il controllo microscopico risultava comunque giustificato indipendentemente dalla conferma del singolo allarme (concordanza parziale) o se il rinvio al microscopio era ingiustificato (falso positivo).
Risultati.La percentuale di verifiche microscopiche è risultata pari al 4,9% dei campioni analizzati. La frequenza delle regole applicate e degli allarmi strumentali che le hanno determinate è la seguente: BLASTS?: 32%, ABN LYMPH?: 19.5%, BASOFILIA: 12,4%, ABN WBC DISTRIBUTION/SCATTERGRAM: 11%, ALTERAZIONI QUANTITATIVE DELLE PIASTRINE: 10,7%, VALORI DI PANICO SUPERATI: 4,7%, ABN PLT DISTRIBUTION: 3,6%, RBC AGGL.:2,5%.
Del totale delle regole scattate (364) c'è stata concordanza piena nel 43%, parziale nel 32% e mancanza di conferma nel 25%, con una percentuale di controlli microscopici non giustificati pari a 1,3% del totale dei campioni.
Discussione e conclusione.Un sistema di regole ben costruite permette di ridurre drasticamente il numero di esami microscopici. I risultati ottenuti sono leggermente migliori della media annuale (7%) probabilmente per il periodo scelto per l'esperimento. La percentuale di falsi positivi è decisamente bassa e la specificità dei singoli flag strumentali è allineata con i dati della letteratura. Ulteriori studi sono in corso per valutare la sensibilità delle regole utilizzate.

CORRELAZIONI TRA TEST HPV-DNA, CITOLOGIA E ISTOLOGIA NEL FOLLOW-UP DI PAZIENTI CON DIAGNOSI DI ASCUS AL PAP TEST

C-10

P. Fontana*, O. Valentini, A. Torri*, L. Mantovani*, S. Cresceri, B. Milanesi
Servizi di Patologia Clinica e di Anatomia Patologica*, A. O. di Desenzano del Garda

Scopo del lavoro. La gestione clinica dopo citodiagnosi di ASCUS è dibattuta. Uno dei protocolli accettati indica come indagine di II livello la ricerca di HPV-DNA. I casi positivi sono avviati alla colposcopia. Il lavoro ha inteso verificare: 1) la significatività clinica della diagnosi di ASCUS alla luce dei risultati del test molecolare per HPV-DNA e delle biopsie cervicali, 2) l' eventuale associazione tra reperti bioptici "borderline" (suggestivi ma non diagnostici per HPV/CIN1) e genotipi virali a basso rischio.
Materiali e Metodi. Per ricerca e genotipizzazione di HPV-DNA si è utilizzato il kit commerciale "AlphaStrip HPV", Alphagenics Diaco Biotechnologies, che consente (mediante amplificazione del DNA e successiva ibridazione su striscia) di identificare 25 differenti genotipi di HPV ad alto o basso rischio oncogeno. Nel periodo considerato le diagnosi di ASCUS sono state 576 su 16.041 PAP test (3, 59%). Per 242 di queste pazienti si è effettuata la ricerca di HPV-DNA entro due mesi dalla citodiagnosi di ASCUS e in assenza di terapie ablative.
Risultati. Il 47,9% dei casi era positivo per genotipi ad alto rischio; il 35,6% negativo; il 16,5% positivo per genotipi a basso rischio. In 99 delle 242 pazienti è stata effettuata la biopsia, riscontrando CIN1 nel 39,3% dei casi; alterazioni suggestive ma non diagnostiche per HPV/CIN1 (borderline) nel 36,5%; alterazioni benigne nel 16%; CIN2-3 nel 8,02 %. Analizzati separatamente, i casi con genotipo a basso rischio hanno dimostrato una probabilità lievemente maggiore di istologia borderline rispetto agli alto rischio (28% delle biopsie contro 16%), mentre sono sovrapponibili nei due gruppi la frequenza di biopsie negative (9%) e quella di CIN1 (60 - 63%). Soltanto nel gruppo ad alto rischio si sono dimostrate lesioni istologiche di CIN2-CIN3. Alcuni casi negativi per HPV-DNA presentavano alterazioni bioptiche borderline.
Conclusioni. La citodiagnosi di ASCUS ha incrementato la sensibilità del PAP test per lesioni squamose intraepiteliali (compresi 8 casi di CIN 2-3), pur mantenendo una accettabile specificità, documentata da positività per HPV-DNA in due terzi dei casi. Le alterazioni istologiche "borderline" non sono significativamente correlabili al genotipo virale, ed occasionalmente sono state riscontrate in soggetti virus-negativi. Pertanto la biopsia, tradizionalmente ritenuta il "gold standard", può essere inconclusiva nel follow-up dei casi di ASCUS. I risultati confermano l' efficacia del test HPV-DNA nelle donne con ASCUS al PAP test, per selezionare i casi da avviare alla colposcopia e terapia ablativa.

PREVALENZA DEI DIVERSI GENOTIPI DI HPV DA TAMPONE CERVICALE NELL'AREA GARDESANA

C-11

O. Valentini, S. Cresceri, A. Torri*, L. Mantovani*, A. Todeschi, B. Milanesi
Laboratori di Patologia Clinica e di Anatomia Patologica*, A. O. di Desenzano del Garda

Scopo del lavoro. Nel corso degli ultimi 18 mesi sono stati analizzati per HPV-DNA 930 campioni da tampone cervicale da pazienti dell'area gardesana. I dati raccolti intendono fornire un'informazione sulla prevalenza nell'area considerata dei singoli genotipi, nonché delle infezioni sostenute da un solo genotipo piuttosto che da più genotipi.
Materiali e Metodi. Le indagini diagnostiche sono state condotte utilizzando il kit commerciale "AlphaStrip HPV" della Alphagenics Diaco Biotechnologies. Il saggio prevede l'estrazione dell'acido nucleico su colonnina e due amplificazioni genomiche in serie. L'amplificato biotinilato viene poi fatto ibridare su striscia di nitroc ellulosa che porta adese 25 sonde genotipospecifiche, oltre a una banda di controllo per coniugato-substrato e a una sonda universale per HPV. La specificità è del 99,9% e la sensibilità è pari a 50 copie/campione. Il saggio consente l'identificazione di 25 genotipi di HPV, a basso o ad alto/medio rischio oncogeno; altri genotipi eventualmente presenti vengono rilevati, ma non identificati, dalla sonda universale.
Risultati. Dei 930 campioni finora analizzati 334(35.9%) sono risultati negativi e 596(64.1) positivi per HPV: di questi ultimi 346(37.2) per un singolo genotipo e 250(26.9) per due o più genotipi. Tra i genotipi ad alto o medio rischio si sono osservate le seguenti frequenze percentuali, riportate in ordine decrescente: genotipo 16(17.6); 31(9.2); 58(8.1); 18(6.8); 66(6.5); 56(3.8); 59(3.3); 33(3.2); 52(3.1); 35(2.3); 51(2.2); 39(1.7); 45(1.7). Tra i genotipi a basso rischio l'ordine di frequenza è risultato il seguente: genotipo 53(8.3); 54(5.2); 61(3.8); 6(3.7); 42(2.9); 70(2.3); 40(2.1); 34(1.4); 11(0.5); 43(0.4); 44(0.4); il genotipo 69 non è stato finora osservato. Nelle pazienti con ASCUS la frequenza di negatività è risultata pari al 56.5%, contro un 15.8% per LSIL e un 13.6% per CIN 1,2. In pazienti con ASCUS i genotipi più frequenti sono risultati, nell'ordine: 16,53,58,66,56,54,59; in pazienti con LSIL: 53,16,42,33,58,39; in pazienti con CIN 1,2: 16,31,58,53,18,54 e 66.
Conclusioni. Il paragone con altri dati di prevalenza riportati in letteratura fa emergere una frequenza relativamente più elevata di quanto spesso riportato in passato e in accordo con la letteratura più recente per il genotipo 53, variamente classificato come genotipo a basso rischio o tra i genotipi a medio o alto rischio. Nella maggior parte dei casi questo genotipo è stato da noi riscontrato in associazione con altri sia ad alto che basso rischio, mentre solo in una minoranza di casi (8) è stato osservato come unico genotipo infettante. In 4 casi su 8 il genotipo 53 non associato era presente in pazienti con ASCUS e negli altri 4 casi in pazienti con CIN1. Questi dati farebbero propendere per una patogenicità di medio grado e giustificherebbero la collocazione di questo genotipo tra quelli a rischio intermedio o medio/alto.

EFFETTO DELLA CONSERVAZIONE A +4°C SU PARAMETRI EMOCROMO CITOMETRICI: RAFFRONTO TRA BAYER ADVIA 2120 ED ABBOTT SAPPHIRE

C-12

L. Penzo, A. Callegari, S. Boscolo, A. Zugno, E. Trabuio, S. Valverde, F. Antico, G. Gessoni
Servizio di Medicina di Laboratorio A-ULS 14 Chioggia

Introduzione: Le nuove esigenze di trasporto e conservazione dei campioni biologici derivanti dalle operazioni di riorganizzazione dei Servizi Diagnostici su area vasta (provinciale o inter-provinciale) implicano la necessità di valutare l'impatto del prolungamento della fase pre-analitica. Ci siamo quindi proposti di valutare l'impatto della conservazione a +4°C su alcuni parametri dell'esame Emocromocitometrico.
Materiali e Metodi: 52 campioni di sangue intero raccolto in EDTA K3 sono stati testati al tempo 0 ed poi dopo 24, 48, 72, e 96 a +4°C. Sono stati utilizzati gli analizzatori Bayer ADVIA 2120 ed Abbott Sapphire.
Risultati: Sono riportati in tabella
Discussione e Conclusioni: In questa fase preliminare sono stati valutati solo i seguenti parametri: RBC, Hb, PLT, WBC. Nessuno di questi parametri si modificava in maniera apprezzabile dopo 24 o 72 ore dal prelievo. Dopo 96 ore di conservazione a +4°C si poteva rilevare una significativa ($p<0.05$) diminuzione del conteggio dei WBC. E' in corso la valutazione relativa alla conta differenziale dei WBC ed ai parametri eritrocitari.

ADVIA	Hb	RBC	WBC	PLT
	g/L	10*12/L	10*9/L	10*9/L
0	124,4	4,133	8,608	217
24h	125,3	4,107	8,238	232
48h	124,5	4,078	8,332	226
96h	125,5	4,001	8,238	218
Sapphire	Hb	RBC	WBC	PLT
	g/L	10*12/L	10*9/L	10*9/L
0	125,1	4,006	8,544	211
24h	124,8	4,015	8,308	212
48h	124,6	4,028	8,405	206
96h	124,9	4,024	8,311	205

STUDIO DELLE FREQUENZE ALLELICHE DEL POLIMORFISMO +1902A/G DEL GENE IL4R IN SOGGETTI AFFETTI DA SCLEROSI MULTIPLA

C-13

A. Crivello (1,2), G. Salemi (3), G.I. Forte (1,2), P. Ragonese (3), G. Candore (2), M. D'Amelio (3), C. Galfano (1,2), A. Giacalone (1,2), N. Di Benedetto (3), G. Savettieri (3), L. Scola (1,2), C. Caruso (2), D. Lio (1,2)
Cattedra di Patologia Clinica (1), Gruppo di studio sull'immunosenescenza (2) - Dipartimento di Biopatologia e Metodologie Biomediche; Clinica Neurologica - Dipartimento di Neurologia, Oftalmologia, Otorinolaringoiatria e Psichiatria. Università di Palermo

Scopo del lavoro: la suscettibilità alla sclerosi multipla (MS) ha una notevole componente genetica con tassi di concordanza per i gemelli monozigoti del 25-30%. Un'associazione ben nota è quella con alcuni alleli HLA (aplotipo esteso HLA-DRB1*1501,DQB1*0602). Inoltre lo studio di polimorfismi dei geni delle citochine ha dimostrato l'associazione con genotipi alti produttori di citochine Th1. Questo riscontro è correlato al ruolo che le citochine di tipo Th1 hanno nell'attivazione della cascata infiammatoria che coinvolge macrofagi e la microglia. Meno chiaro è invece il ruolo delle citochine Th2. Due gruppi di ricerca indipendenti (Hackstein et al. J Neuroimmunol, 113:240, 2001; Mirel et al. Gene Immun, 5:138, 2004) hanno recentemente dimostrato l'associazione della malattia con alcuni polimorfismi del gene che codifica per il recettore dell'IL-4 (IL4R). Il presente studio è diretto alla valutazione dell'associazione del polimorfismo +1902A/G del gene IL4R con la MS.
Materiali e metodi: 95 pazienti affetti da MS e 132 controlli di pari età e sesso sono stati tipizzati per il polimorfismo +1902A/G del gene IL4R tramite una metodica PCR-SSP descritta da Hackstein et al. (Tissue Antigens 54:471, 1999)
Risultati: La frequenza dei genotipi positivi per l'allele +1902G è aumentata fra i pazienti affetti da SM (test chi2 con correzione di Yates; p= 0.0110 =OR=2.01 95%CI=1.18-3.43). I nostri dati, in accordo con quelli di altri gruppi, sembrano quindi attribuire un ruolo a questa variante genica nella suscettibilità alla sclerosi multipla.
Discussione e conclusioni: E' interessante notare che l'allele +1902G è associato ad una maggiore espressione del recettore per l'IL-4 e studi recenti con metodiche citochimiche (Cannella et al. Ann Neurol, 55:46, 2004) hanno dimostrato che questo recettore scarsamente espresso dalle cellule normali nel cervello è iper-espresso dalle cellule della microglia e dai macrofagi coinvolti in lesioni demielinizzanti attive o cronicizzate. In conclusione il nostro studio rafforza l'ipotesi il background genetico del network citochinico e, in particolare, modificazioni nelle vie di trasduzione del segnale dell'IL-4 possono svolgere un ruolo nella predisposizione alla MS, di cui occorre tener conto per disegnare percorsi diagnostici e terapie efficaci per questa patologia.

MIELOMA IgD: TRE CASI

C-14

***M.Ruggeri, *C.Maida, *F.Bruno**
* AO S.Giovanni-Addolorata Roma

Scopo: Il mieloma di tipo IgD rappresenta il 2 % di tutti i MM ma è una condizione spesso sottostimata probabilmente perchè è caratterizzato da piccole CM, spesso non visibili all'elettroforesi ma solo all'IFE, usando antisiero specifico anti IgD. Riportiamo di seguito i casi di tre pazienti con MM di tipo IgD.
Materiali e metodi: Sono stati esaminati i casi di 3 pazienti venuti alla nostra osservazione fra l'aprile 2005 e maggio 2006; per ogni paziente è stata effettuata elettroforesi sierica, IFE utilizzando antisieri standard (anti IgG, IgA, IgM, κ, λ) e antisieri anti IgD, IgE, catene leggere libere κ e λ. Sono state dosate inoltre nel siero IgG, IgA, IgM, κ , λ e IgD. È stata eseguita elettroforesi ed immunofissazione su urine delle 24 ore e dosate: proteine totali, catene leggere totali, alfa1, IgG e albumina. La diagnosi è stata confermata mediante biopsia midollare.
Risultati: Paziente 1: Uomo di 43 anni; l'elettroforesi non evidenziava CM all'ispezione visiva. I dosaggi delle Ig erano normali. L'IFE standard evidenziava una tenue banda nella corsia delle λ; l'IFE con antisieri anti IgD, IgE e catene leggere λ libere e legate evidenziava una CM di tipo IgD λ . Le IgD dosate risultavano essere 180 mg/dl. Nelle urine si evidenziava solo un'alterazione delle catene leggere λ totali (40mg/l) e l'IFE urinaria confermava catene leggere libere monoclonali di tipo λ. La risposta finale è stata IgD monoclinale di tipo λ nel siero e λ libere nelle urine.
Paziente 2: Donna di 77 anni; l'elettroforesi evidenziava all'ispezione visiva una CM in beta. IgG e IgA erano normali, le IgM ridotte. L'IFE standard evidenziava una tenue doppia banda nella corsia delle λ. L'IFE con antisieri anti IgD, IgE, λ libere e totali ha evidenziato una CM di tipo IgD λ e catene leggere libere monoclonali di tipo λ. Le IgD risultavano essere 800 mg/dl. Lo studio delle urine evidenziava catene leggere λ (36mg/l) e l'IFE urinaria confermava catene leggere libere monoclonali di tipo λ. La risposta finale è stata IgD monoclonali di tipo λ e λ free nel siero, λ libere nelle urine.
Paziente 3: Donna di 70 anni; l'elettroforesi evidenziava una piccola CM all'ispezione visiva in gamma. IgG e IgA erano normali, le IgM ridotte. L'IFE standard evidenziava una tenue banda nella corsia delle κ. E' stata eseguita IFE con antisieri anti IgD, IgE, catene leggere libere e legate κ che ha evidenziato una CM di tipo IgD κ; le IgD erano 107 mg/dl. Non e' stato possibile studiare le urine. La risposta finale è stata IgD monoclonali di tipo κ.
Conclusioni: I tre casi riportati evidenziano l'importanza dell'uso degli antisieri anti IgD nella diagnostica di laboratorio del MM che purtroppo è spesso sottovalutato con conseguente sottostima della reale incidenza dei mielomi IgD ed errore di diagnosi (mielomi IgD diagnosticati come micromolecolari!).

CASO DI COLERA DA IMPORTAZIONE (PUNJAB, INDIA), ISOLATO A MANERBIO (BS) NEL MESE DI LUGLIO 2006

C-15

M. Pedroni, A. Bonomini, B. Milanesi
Laboratorio di Patologia Clinica, Presidio di Manerbio, BS, Azienda Ospedaliera Desenzano del Garda, Direttore: Prof. Bruno Milanesi

Introduzione. Riscontro di Vibrio cholerae O1 sierotipo Inaba produttore di enterotossina colerica, in paziente ricoverato presso il reparto di Nefrologia/Dialisi del Presidio Ospedaliero di Manerbio (BS), Azienda Ospedaliera di Desenzano del Garda
Descrizione del caso. Paziente di 63 anni Indiano, arrivato il giorno 4 LUGLIO 2006 in aereo dal Punjab, si presenta la sera stessa, presso il Pronto Soccorso dell'Ospedale di Manerbio con sintomatologia intestinale acuta. Il paziente rifiuta il ricovero, ma viene invitato a ripresentarsi il giorno successivo. Visto il perdurare della sintomatologia, associata ad un peggioramento delle condizioni generali, la mattina seguente viene ricoverato nel Reparto di Medicina. Il giorno 6 Luglio il paziente viene trasferito in Dialisi in seguito al peggiorare della funzionalità renale dovuta alla forte disidratazione (valore della Creatinina è passato da 2,0 mg/dl a 9,4 mg/dl). Dalla coprocoltura eseguita il giorno 6 Luglio, viene isolato, il giorno successivo un sospetto Vibrio, confermato dalle prove biochimiche come Vibrio colerae (sabato 8 luglio). Con diagnosi di Vibrio colerae il paziente è immediatamente trasferito agli Infettivi del Civile. La Direzione Medica di Presidio ed il Servizio Igiene dell'ASL vengono allertati per le opportune misure di profilassi degli operatori e dei contatti, per gli accertamenti epidemiologici e le opportune segnalazioni alle Autorità competenti. La settimana successiva il ceppo, inviato all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) a Roma per conferma sierologica e per valutare la produzione di enterotossina colerica, è stato confermato come Vibrio cholerae O1 sierotipo Inaba produttore di enterotossina colerica.
Conclusioni. Il Laboratorio di Patologia Clinica dell'Ospedale di Manerbio, si è dimostrato in grado di ricercare tutti i patogeni intestinali sia "locali" che di importazione (migrazione e turismo), infatti oltre agli isolamenti più frequenti di Salmonelle e Campylobacter, oltre 150 casi nel 2005, sono stati isolati negli ultimi anni: Shigelle, Yersinie, E. coli O157, Salmonelle typhi e paratyphi (tutti confermati dall'ISS).
Alla nostra casistica mancava il Vibrio colerae, in quanto i casi di importazione sono estremamente rari (alcune decine nel 2004) nei paesi occidentali, nessuno nel 2006 in Italia, 1 caso a Rimini nel 2005, quelli autoctoni inesistenti. Il costante aggiornamento di tutto il personale, le procedure di qualità applicate scrupolosamente, l'attenzione e l'impegno, hanno permesso l'isolamento di un germe decisamente inu suale in Italia, anche se nel 2004 nel mondo, sono stati segnalati all'OMS centomila casi provenienti da 56 paesi (95% in Africa), con 2345 decessi.

LA SORVEGLIANZA DELLE RESISTENZE BATTERICHE NELLE RSA: UN PONTE TRA RISK MANAGEMENT E QUALITÀ DELLE CURE DEI PAZIENTI

C-16

M. Schinella, P. Gualdi, L. Collini, G. Mariotti*, M. Boni **
Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia, *Direzione Medica, ** U.O. Geriatria. APSS Ospedale di Rovereto, Trento

Introduzione: il tema del rischio e del controllo delle infezioni legate alle cure, acquistando sempre maggiore importanza, determina un progressivo incremento del numero di campioni che devono essere valutati e processati dai laboratori di Microbiologia. Dall'analisi dei dati relativi alle urinocolture pervenute dalle Residenze Sanitarie Assistenziali (RSA) del Distretto della Vallagarina, si è potuto evidenziare, in parte un esiguo numero di campioni inviati ma contestualmente elevate percentuali di resistenza dei batteri isolati, in alcuni casi superiori a quelle dei reparti ospedalieri.. Alla luce di questi dati si è ritenuto opportuno affrontare il problema e quindi, su segnalazione del Laboratorio e con la mediazione della Direzione Sanitaria dell'Ospedale di Rovereto e del Distretto Vallagarina, sono stati coinvolti i responsabili sanitari delle RSA, con l'obiettivo di condividere un progetto definendone le modalità di realizzazione e la verifica dei risultati, allo scopo di sviluppare quantità e qualità dei processi connessi alle analisi microbiologiche.
Materiali e Metodi: le fasi del progetto comprendevano: (a)riunione informativa con i responsabili sanitari delle RSA per esporre il progetto; (b)stesura del protocollo per raccolta e conservazione campioni biologici; (c)stesura indicazioni cliniche; (d)2a riunione con responsabili sanitari e infermieri delle RSA; (e)indagine epidemiologica semestrale; (f)identificazione di singoli pazienti portatori di BMR.
Risultati: (1)acquisizione da parte del personale delle RSA del protocollo di raccolta, conservazione ed invio de i campioni; (2)I° semestre: 187 urinocolture, 3 respiratori, 0 coprocolture, 0 emocolture, i numeri dei campioni microbiologici pervenuti in laboratorio; II° semestre: 263, 19, 21, e 56 rispettivamente, con incremento evidente, non solo delle urinocolture; (3)è stato evidenziato il "percorso microbiologico" di alcuni pazienti individuando alcune "non conformità" nelle procedure assistenziali.
Conclusione: i risultati preliminari raggiunti, con il coinvolgimento di tutte le parti interessate, hanno permesso di mettere in atto misure di prevenzione (in particolare: maggiore e migliore comunicazione tra RSA e Laboratorio, maggiore attenzione nella raccolta e invio dei campioni, importanza del lavaggio delle mani, gestione del catetere urinario, ecc.) che si stanno concretizzando in una migliore qualità della fase preanalitica, in un numero maggiore e in una migliore qualità dei campioni processati, conditio sine qua non per ridurre il rischio di infezioni da BMR nei singoli ospiti e per attuare un valido programma di sorveglianza e gestione del singolo paziente.

C-17

RIDUZIONE DEL RISCHIO CLINICO IN UN REPARTO CHIRURGICO: IL CONTRIBUTO DEL MICROBIOLOGO E DEL FARMACISTA

I. Bianco[1], C. Di Fabio[2], G. Staniscia[3], G. Menna[1], A. Bomba[1], F. Di Luca[1], A. Di Donato[1], M. Golato[1]
Patologia Clinica1 Farmacia 2Chirurgia3 Ospedale Lanciano

Scopo del lavoro: verificare l'efficacia d'intervento di microbiologica e farmacia nel miglioramento dell'appropriatezza d'impiego di antibiotici in profilassi e nel contenimento delle resistenze batteriche in un reparto di chirurgia.
Materiali e metodi: i consumi di antibatterici usati per profilassi in chirurgia nel triennio 2003-2005 sono stati correlati alla sorveglianza microbiologica di resistenze:monitoraggio di Enterobatteri per produzione di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBLs), Stafilococco meticillino-resistente (MRSA), Enterocco vancomicino-resistente(VRE) e Pseudomonas multi-resistenti. Analizzando le resistenze e i consumi del 2003,nel 2004,è stato avvia to un programma di collaborazione (microbiologia, farmacia, chirurgia) con incontri mirati col personale medico-infermieristico per aumentare l'appropriatezza d'impiego di antibiotici in profilassi sulla base di linee guida,sulla necessità e corretta esecuzione di prelievi microbiologici, sull'interpretazione di reports di consumo e resistenza.I dati di consumo,espressi in DDD/100 giorni di degenza e la spesa relativa sono stati ottenuti con software di Farmacia.Gli antibiogrammi sono stati eseguiti per Gram - con card Vitek (Biomerieux), per Gram + e ricerca ESBLs con E-test (AB-Biodisk) secondo CLSI.I dati statistici microbiologici sono stati ottenuti con software Vitek.
Risultati: nel 2003-2005 nel reparto Chirurgia (37 posti letto) si sono registrati 4.822 ricoveri per un totale di 27.110 giornate di degenza.Sulla base dei dati di sorveglianza microbiologica si è osservata una riduzione delle resistenze: ESBLs 35% (2003) 29% (2005); MRSA 67% (2003) 50% (2005);VRE 3% (2003) 1%(2005); Pseudomonas: resistenze per amikacina 8%(2003) 2%(2005); piperacillina 67 %(2003) 41%(2005); ceftazidima 50%(2003) 41%(2005);ceftriaxone 96% (2003) 87% (2005); imipenem 52%(2003) 28%(2005).Rispetto al 2003, nel 2005 il consumo complessivo di antibiotici è diminuito del 16% (da 65.3 a 55.1 DDD) e la relativa spesa farmaceutica è quasi dimezzata (-48.6%). L'analisi dei consumi dei singoli antibiotici attesta una riduzione di utilizzo di cefalosporine di II generazione (cefonicid -95%: da 9.7 a 0.5 DDD) e di III generazione(ceftriaxone – 70%:da 19,2 a 5,8 DDD; ceftazidima -60% da 4,0 a 1,6 DDD).Si osserva invece un incremento di cefalosporine di I generazione (cefazolina da 0,1 a 21 DDD); di amoxicillina-clavulanico (da 5.6 a 7.1 DDD); ampicillina/sulbactam (da 0.1 a 11.7 DDD) e di metronidazolo (da 2,2 a 7,5 DDD).
Conclusioni: la strategia adottata ha permesso di ridurre l'utilizzo improprio di farmaci in profilassi,di contenere l'insorgenza di res istenze batteriche con conseguente riduzione del rischio clinico e diminuzione della spesa farmaceutica.

C-18

LA COLLABORAZIONE TRA LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA E TERAPIA INTENSIVA NELLO STUDIO ED ERADICAZIONE DI UN CLUSTER DI ACINETOBACTER BAUMANNII

***M. Falleni, *O. Antelmo,*L. Rossi, *S. Costanzo, *T. Bartolino, *S. Casarosa, *F. Pisaturo, *I. Evangelista, **P. Malacarne, *P. Leonetti**
*Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, ** Terapia Intensiva Pronto Soccorso, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana

Scopo del lavoro. Presso il reparto di Terapia Intensiva si è verificato nel periodo novembre 2005 - febbraio 2006 un cluster di Acinetobacter baumannii. Il germe, inizialmente isolato nel liquido di drenaggio addominale di un paziente plurioperato, ha successivamente colonizzato a "macchia di leopardo" oltre il 70% dei degenti in Terapia Intensiva.
Valutate senza risultati molte ipotesi relative alla modalità di trasmissione, si è ipotizzato che la contaminazione fosse imputabile ai ventilatori polmonari, e abbiamo ritenuto di effettuare controlli di sterilità.
Materiali e metodi. Sono state allestite colture di filtri antibatterici utilizzati nei ventilatori, deponendone una porzione in brodo cuore cervello e allestendo successive subculture su terreni agarizzati in piastre di Petri. Due ventilatori sono risultati contaminati per Acinetobacter baumanni e una successiva campionatura più specifica di parti interne ha permesso di rilevare una contaminazione della cella d'ossigeno.
Risultati. Le colture effettuate su sessanta filtri hanno evidenziato contaminazioni batteriche ad opera di Staphilococcus ssp. e Pseudomonas ssp. in prevalenza. Tra i germi isolati era presente anche nei filtri di 2 ventilatori polmonari un ceppo di Acinetobacter baumanni. A seguito della sostituzione della cella d'ossigeno dei ventilatori e di un più oculato utilizzo dei filtri, il cluster è scomparso dopo circa 15 giorni.
Conclusioni. Questa esperienza di collaborazione ha permesso al clinico di seguire l'andamento delle colonizzazioni, di comprenderne la patogenesi e di verificarne la risoluzione, contenendo al minimo il danno clinico per i pazienti. Il contributo del Laboratorio di Microbiologia è stato essenziale per la risoluzione del problema. I risultati ottenuti sono il frutto di una sinergia elevata tra diverse professionalità, ove il ruolo del Laboratorio di Microbiologia assume una rilevanza assoluta.

BATTERIEMIA DA MYCOBACTERIUM NEOAURUM

C-19

G. Bertiato, M. Battistel, E. Modolo, R. Muzzolon°, R. Schiavon, C. Scarparo*, C. Zasio
U.O. Chimica Clinica e Microbiologia, °U.O. Pneumologia, Ospedale di Belluno
* U.O. Microbiologia e Virologia, Ospedale di Vicenza

Introduzione. M. neoaurum è un micobatterio ambientale, scotocromogeno, a rapida crescita. In letteratura sono stati riportati rari casi di interesse clinico: 7 da emocolture correlate all'utilizzo di catetere venoso centrale (CVC) o di droghe per via endovenosa e 1 dalle urine di un paziente portatore di catetere vescicale (CVES). Una recente segnalazione di demenza progressiva da meningoencefalite granulomatosa con riscontro di M. neoaurum, è stata poi fortemente contestata perchè considerata una contaminazione.
Caso clinico. Nella primavera del 2006 è stato ricoverato nel reparto di Geriatria dell'Ospedale di Belluno un paziente di 83 anni con febbre (38°C), tosse ed escreato purulento, non portatore di CVC o CVES, in un quadro di deterioramento cognitivo e motorio esito di ictus cerebri (1999). Sono state eseguite indagini colturali su sangue ed urine prima di iniziare una terapia empirica con ceftriaxone 2g/die e.v., che ha portato ad un rapido miglioramento delle condizioni respiratorie e generali e scomparsa della febbre in terza giornata. Una broncoscopia in decima giornata ha evidenziato un quadro compatibile con bronchite acuta. Dal broncoaspirato sono state isolate sia C. albicans che C. glabrata, mentre le indagini per micobatteri sono risultate negative. I flaconi per aerobi ed anaerobi dell'emocoltura sono stati incubati nel sistema Bactec 9230 (Becton Dickinson). In sesta giornata lo strumento ha segnalato la positività del solo flacone aerobio. Alla colorazione di Gram si è osservata la presenza di sottili bastoncini Gram variabili di aspetto corineforme, che si sono in realtà rivelati essere d ei bacilli alcool-acido resistenti alla colorazione di Ziehl-Neelsen. E' stata subito eseguita una subcultura sia nel terreno liquido del sistema Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson) che su terreno solido Ogawa Medium (Biotest). Il ceppo micobatterico è stato isolato dopo tre giorni dalla coltura in terreno liquido, mentre sul terreno solido sono cresciute tre-quattro giorni delle caratteristiche colonie color giallo-arancione molto simili a quelle di M. gordonae. L'iniziale utilizzo delle sonde molecolari (Accuprobe, Gen Probe Inc., ed INNO-LiPA Mycobacteria v2, Innogenetics) per identificare il ceppo micobatterico non ha dato alcun esito. Il ceppo è stato successivamente sottoposto alle convenzionali prove di identificazione biochimico-colturali ed all'analisi degli acidi micolici mediante HPLC, ma è stato definitivamente identificato come M. neoaurum mediante sequenziamento della regione ipervariabile del gene 16S rRNA.
Conclusioni. La batteriemia descritta non è correlata a catetere venoso centrale e dimostra la potenziale patogenicità di questa specie, raramente isolata da campioni biologici. Viene inoltre sottolineata l'importanza dell'accuratezza nell'identificazione dei micobatteri non tubercolari di importanza clinica anche mediante utilizzo delle più sofisticate tecnologie molecolari come il sequenziamento del gene 16S rRNA.

INFEZIONE CUTANEA DISSEMINATA DA MYCOBACTERIUM CHELONAE

C-20

G. Bertiato, M. Battistel, B. Benvegnù°, E. Modolo, N. Papa, C. Scarparo*, C. Zasio
U.O. Chimica Clinica e di Microbiologia, °U.O. Dermatologia, Ospedale di Belluno
* U.O. Microbiologia e Virologia, Ospedale di Vicenza

Introduzione. M. chelonae è un micobatterio ambientale implicato in diverse sindromi cliniche: patologie polmonari, infezioni cutanee post traumatiche o post chirurgiche, infezioni catetere correlate, infezioni osteoarticolari, infezioni oculari, ma anche pseudoinfezioni da endoscopi contaminati. In soggetti immunodepressi sono descritte infezioni, spesso associate a lesioni disseminate della cute e dei tessuti molli.
Caso clinico. Nella primavera del 2006, una donna di anni 76 è stata ricoverata in Dermatologia a Belluno per la comparsa, sull'arto inferiore destro, di numerosi noduli cutanei di consistenza molle, di color rosso-violaceo del diametro di 1,5-2 cm, e la presenza di alcuni elementi nodulari e lesioni ulcerative in altre sedi. La paziente, affetta da 30 anni da artrite reumatoide ed in terapia steroidea a basse dosi da circa 8 anni, non presentava problemi vascolari. L'esame istologico di biopsie delle lesioni papulo-nodulari ha evidenziato un infiltrato infiammatorio granulomatoso interessante il derma superficiale con presenza di cellule epitelioidi, frammisto a tessuto di granulazione e ad infiltrato di granulociti neutrofili, con presenza di bacilli alcool-acido resistenti. Per verificare l'ipotesi diagnostica di una micobatteriosi con sovrapposti aspetti di dermatite neutrofilica associata ad artrite reumatoide sono stati richiesti i necessari approfondimenti microbiologici. L'esame microscopico mediante colorazione di Ziehl-Neelsen e l'esame colturale sia in terreno liquido del sistema Bactec MGIT 960 (BD) che su terreno solido Ogawa Medium (Biotest) sono stati eseguiti su campioni di urina (3 di giorni successivi) e del tessuto proveniente dalle lesioni nodulari. L'esame microscopico di un campione di urina è risultato positivo per bacilli alcool-acido resistenti. Alla luce del quadro clinico, le diverse colture sono state incubate sia a 30°C che a 35°C (la temperatura ottimale di crescita di M. chelonae è di 30°C). Dopo 8 e10 giorni sono stati isolati due ceppi micobatterici, uno dalle colture liquide del materiale nodulare cutaneo incubate a 30°C ed uno dalle colture delle urine su terreno liquido incubate a 35°C. I 2 ceppi sono stati identificati come M. chelonae mediante il metodo INNO-LiPA Mycobacteria v2 (Innogenetics), tecnologia di ibridazione inversa dell'amplificato con sonde molecolari multiple.
Conclusioni. Una possibile infezione da M. chelonae deve sempre essere presa in considerazione in presenza di quadro clinico caratterizzato da lesioni cutanee nodulari eritematose in un soggetto immunodepresso, anche per cause iatrog ene, come una prolungata terapia steroidea. Per una corretta diagnosi sono indispensabili adeguate indagini colturali per micobatteri ed una rapida identificazione dell'isolato per consentire un adeguato approccio terapeutico. Il laboratorio deve essere informato sul quadro clinico e sul sospetto diagnostico per la scelta delle appropriate temperature di incubazione dei campioni.

IMPLEMENTAZIONE DEL MANUALE DEI PRELIEVI E DELLE PROCEDURE ANALITICHE RELATIVE AL SETTORE DI BATTERIOLOGIA DEL LABORATORIO ANALISI DELL'OSPEDALE CIVILE DI ALTAMURA ASL BA/3

C-21

***M. Dentamaro,*G. Dirienzo,*D. Viesti,*C. Robert,*G. Cosmo, *I. Dibenedetto, *C. Losquadro, *G. Ninivaggi, * V. Pinto, *M. Guida ,** T. Recchia**
Struttura Complessa Patologia Clinica Azienda Sanitaria Locale BA/3-Altamura**Advanced Diagnostics

Scopo del lavoro. In seguito all'apertura, presso l'Ospedale Civile di Altamura – Bari, del reparto di Rianimazione, si è ritenuto opportuno, viste le problematiche inerenti le infezioni ricorrenti nel reparto medesimo, di implementare un manuale delle procedure relative alla fase preanalitica nell'ambito delle indagini batteriologiche con conseguente ampliamento e revisione delle procedure analitiche nel settore di batteriologia del suddetto ospedale.
Materiali e metodi. Nelle indagini batteriologiche è necessario ricercare, in modo accurato, gli agenti responsabili dei processi infettivi, identificarli correttamente e effettuare un test di sensibilità agli antimicrobici efficace. Per un valido risultato diagnostico è necessario che ci si attenga a queste importanti regole: 1. la raccolta dei materiali deve avvenire prima dell'inizio dello terapia antibiotica 2.La raccolta deve essere effettuata sterilmente nella sede anatomica del processo morboso 3.Occorre evitare ogni contaminazione esogena o endogena del campione. 4.Il trasporto dei campioni in batteriologia. Lo scopo dell'approntamento di un manuale delle procedure di laboratorio in batteriologia è di standardizzare le stesse consentendo un ottenimento di risultati affidabili e sicuri. Gli esami sono suddivisi in: Colturali, Batterioscopici, Altre metodiche. Vengono riportati per ogni categoria di esame: il materiale e il suo trattamento, il tipo di terreno o reagenti da utilizzare, la metodica, gli accorgimenti, l'interpretazione del risulta to, la sua refertazione e archiviazione.
Risultati. Si prevede, pertanto, un aumento del flusso di lavoro quantificabile intorno al 70% per le emocolture, 30% per gli esami microbiologici routinari (urinocoltura e tamponi faringei), 100% per le indagini specifiche per il reparto di Rianimazione (BAL, punte di cateteri venosi ecc..) A fronte di questo aumento si prevede una ottimizzazione della fase preanalitica, stimabile intorno al 15% oltre che della fase analitica stessa. Tali dati sono chiaramente preventivi e dovranno essere valutati in uno spazio temporale di almeno sei mesi , ma sicuramente consentiranno una migliore gestione dell'outcome dei pazienti in rianimazione, in termini di: un isolamento degli agenti patogeni sicuro, accurato e tempestivo ed una efficace terapia antibiotica. A ciò si aggiunga un controllo epidemiologico attraverso l'utilizzo di sistemi esperti in microbiologia delle infezioni nosocomiali, la loro tracciabilità e l'attivazione di tutte le pratiche e procedure per la prevenzione delle stesse.
Discussione e conclusione. Grazie all'avvento delle norme ISO 15189, il laboratorio può e deve implementare il manuale della qualità; sicuramente la strada da percorrere non sarà priva di difficoltà, soprattutto riguardo la formazione del personale e la comprensione dei concetti di processo, procedura, tracciabilità, conformità etc. etc. Sappiamo che il percorso della qualità è come una spirale infinita: non ci si può più fermare.

GENOTIPIZZAZIONE DI HIV: ESPERIENZA DI 6 ANNI

C-22

A. Pirali*, D. De Francesco*, P. Zaffaroni*, G. Migliorino**
*Laboratorio Analisi,**U.O. Malattie Infettive-A.O."Ospedale di Circolo di Busto Arsizio" - Busto Arsizio (VA)

Scopo del lavoro. Nel P.O. di Busto Arsizio(U.O. Mal.Infettive) vengono seguiti 1600 pazienti con infezione da HIV, di cui 1032 in trattamento anti-retrovirale(TARV). Nel 2000, il Laboratorio Analisi ha introdotto un test genotipico per la ricerca di mutazioni insorte nel genoma di HIV a seguito della pressione farmacologica. Dopo 6 anni abbiamo voluto fare una revisione della casistica per valutare la tipologia delle richieste ed eventuali cambiamenti nelle mutazioni riscontrate.
Materiali e metodi. L'analisi di sequenza di HIV-RNA è stata eseguita con il kit Trugene HIV-1 della Bayer Diagnostic, basato sulla tecnica di Sangers, che consente di sequenziare un frammento di 1300 paia di basi del gene polimerasi. E' stato utilizzato il Qiamp viral RNA minikit per l'estrazione; l'RNA estratto, retrotrascritto e amplificato, è stato sequenziato in entrambe le direzioni (5' e 3')con 2 primers marcati con fluorocromi; la rivelazione è avvenuta con elettroforesi su gel di poliacrilamide e la refertazione attraverso "HIV drug resistance database" della Stanford University(ultimo aggiornamento 31-7-2006).
Risultati. Sono stati esaminati 860 casi dal 1-11-2000 al 31-8-2006. Di questi 152(17.7%) sono risultati wild type e il loro riscontro è aumentato da 29 casi su 212 (13.7%) nel 2001, a 33 su 81 (40.7%) nel 2006. Tra le mutazioni indotte da NRTI, l'incidenza di M41L e T215Y (TAMS) è in costante riduzione (rispettivamente 52% e 55% nel 2000 contro 33% e 31% nel 2006), mentre rimane costante la M184V (55% nel 2000 e 56% nel 2006). Tra le mutazioni indotte da NNRTI, la K103N è la più frequente (34% nel 2000 e 29% nel 2006), mentre numericamente minori sono le mutazioni indotte da PI, tra le quali la più frequente è la L90M scesa dal 27% del 2000 al 17% del 2006.
Discussione e conclusioni. L'aumento dei casi wild type, pur con una diminuzione dei tests, è dovuto ad una riduzione degli insuccessi farmacologici e ad un allargamento dell'utilizzo del test anche ai pazienti naives, sulla scorta dei dati della letteratura che hanno evidenziato una incidenza sempre maggiore di ceppi resistenti nei naives. La riduzione delle TAMS è dovuta al ridotto utilizzo di farmaci timidinici (zidovudina e stavudina) per i noti effetti collaterali che causano (sindromi lipodistrofiche), mentre la M184V(mutazione indotta dalla lamivudina) è rimasta costante nonostante l'introduzione della emtricitabina. Il decremento della mutazione L90M, selezionata principalmente da Saquinavir e Nelfinavir, è dovuta all'uso sempre meno frequente di tali farmaci in TARV e, più in generale, la ridotta incidenza di mutazioni indotte da PI sembre legata all'utilizzo sempre più diffuso della boosterizzazione con ritonavir.

2 CASI DI SIEROCONVERSIONE DA HIV

C-23

A. Pirali*, D. De Francesco*, A. Bandera, I. Beverina*****
*Laboratorio Analisi, **U.O. Malattie Infettive, ***SIMT - AO "Ospedale di Circolo di Busto Arsizio

Scopo del lavoro. Sono disponibili da circa un anno tests di quarta generazione per la sierodiagnosi di infezione da HIV che combinano la rilevazione di Ag p24 a quella di HIV-Ab. Presentiamo 2 casi di infezione acuta da HIV con caratteristiche peculiari, per la provenienza e la durata della finestra diagnostica.
Materiali e metodi. Nel mese di maggio 2006 sono giunti al Laboratorio Analisi del P.O. di Busto Arsizio, con la richiesta di ricerca di HIV-Ab, i prelievi ematici di 2 pazienti: 1) AA, maschio di anni 31, donatore di sangue proveniente dal servizio immunotrasfusionale del P.O. di Tradate, inviatoci in quanto alla NAT presentava una positività selettiva per HIV, pur essendo negativa la ricerca di HIV-Ab eseguita sulla donazione. 2) BAS, maschio di anni 28, di ritorno dalla Costa d'Avorio, degente per febbre di ndd presso l'UO di Medicina 2 del P.O. di Busto Arsizio. Entrambi i pazienti sono stati sottoposti al tempo 0, +10, +17, +25, +32, +39, +46 ai seguenti tests: *AXSYM HIV 1/2g0 - Abbott che rileva Ab anti HIV (AX), ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo - Abbott che rileva simultaneamente Ab anti HIV e Ag p24 (AR), *HIV BLOT 2.2 - Genelabs Diagnostic che rileva HIV_Ab con western blot (WB). Al tempo 0 e +39 è stata inoltre determinata la carica virale con COBAS Amplicor HIV-1 Monitor - Roche (RNA).
Risultati. I pazienti presentavano:
*T 0 – AX negativo (S/CO 0.39 e 0.59), WB negativo, AR positivo (S/CO 132.07 e 243.12), RNA > 100000 cp/mL
*T +10 – AX positivo (4.91 e 17.84), WB indeterminato (gp160 debole) AR positivo (5.24 e 55.05)
*T +17 – AX positivo (13.41 e 18.50), WB indeterminato (p24, gp 160), AR positivo (5.11 e 43.2)
*T +25 – AX positivo (17.63 e 19.25),WB positivo(p15,p24,gp120,gp160), AR positivo (13.81 e 51.73)
*T +32 – WB positivo(AA p15,p24,gp120,gp160 – BASp15,p24,gp41,p64,gp120,gp160), AR positivo (19.35 e 70.49)
*T +39 – WB positivo (tutte le bande), AR positivo (33.76 e 81.46), RNA 180000 e 57000 cp/mL
*T +46 - WB positivo (tutte le bande), AR positivo (64.68 e 88.45)
Discussione e conclusioni. L'utilizzo di un test di quarta generazione (Ag/Ab) consente di anticipare la diagnosi sierologica di almeno 10 giorni, come confermato dalla positività per RNA, mentre WB non riduce la finestra diagnostica. La positività precoce di AR è attribuibile alla rilevazione dell'Ag p24 e la diminuzione del segnale analitico di AR a T+10 e a T+17 sembra dovuta alla comparsa di Ab che complessano l'antigene. L'utilizzo routinario di tests di quarta generazione consente una diagnosi sierologica più precoce, avvicinandosi sempre più ai tempi delle indagini molecolari.

DIAGNOSI BIOCHIMICA DI FEOCROMOCITOMA: ESPERIENZA CON L'USO DELLE METANEFRINE

D-01

G. Soffiati, C. Marchetti, L. Zanuso, A. Fortunato
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia – Ospedale "San Bortolo" – Vicenza

Scopo del lavoro: il feocromocitoma è una rara forma di tumore in cui le cellule neoplastiche derivano da particolari cellule chiamate cellule cromaffini. La maggior parte dei feocromocitomi origina nella ghiandola surrenalica (midollare del surrene) dove sono localizzate per la maggior parte le cellule cromaffini. I feocromocitomi spesso inducono una produzione elevata di catecolamine e la prevalenza di questa patologia nei pazienti ipertesi è inferiore al 1%. Il Laboratorio può contribuire nella diagnostica di questa patologia con la determinazione delle catecolamine (Adrenalina e Nor-Adrenalina) e/o delle metanefrine (Metanefrina e Nor-Metanefrina). Dal 1 Gennaio 2006, in base alle più recenti indicazioni della letteratura (Lenders et al., JAMA 2002), nel nostro Laboratorio sono determinate le metanefrine, in sostituzione della misura delle catecolamine usate in precedenza, in quanto ne è stata dimostrata una maggiore sensibilità (fino al 97%). La misura dell'acido Vanilmandelico (VMA), come esame di conferma, porta la specificità della diagnosi biochimica fino al 99%. In questo lavoro vengono analizzati i risultati riscontrati nei pazienti afferiti al nostro al nostro Laboratorio nei primi mesi di impiego dei nuovi parametri.
Materiali e Metodi: le metanefrine sono state determinate in 242 soggetti, 107 uomini con età media di 47.9 anni (I.C. 95% 45.0-50.9; range 8-92) e 135 donne con età media 52.5 (I.C. 95% 49.9-55.2; range 12-90). Nei campioni in cui la concentrazione di almeno una delle due metanefrine risultava superiore all'intervallo di riferimento (63/242, 26.0%) è stata determinata la concentrazione del VMA. Sia le metanefrine che il VMA sono state misurate con metodo HPLC (Bio-Rad, Milano).
Risultati: una parte dei campioni (52/242, 21.5%) mostra un livello di Nor-Metanefrina superiore al limite di riferimento. La determinazione del VMA di tutti i campioni con Nor-Metanefrina elevata è risultata nella norma. Tra i pazienti presi in esame, solo un campione presentava entrambe le metanefrine elevate (positività non confermata dal VMA). Per quanto riguarda la sensibilità è stato possibile constatare che, nel periodo preso in considerazione, per nessun paziente è stato riportato un risultato falsamente negativo. Dal punto di vista analitico la metodologia HPLC ha dimostrato una buona precisione (CV% tra le serie < 11.3).
Conclusioni: considerando la bassa prevalenza della patologia in esame, la determinazione delle metanefrine dimostra una ottima sensibilità ed una adeguata specificità, se associata alla misura del VMA.

SERUM LEVELS OF NEOPTERIN IN BREAST CANCER PATIENTS

D-02

M.R. Metelli, F. Manzone, F. Fulceri, P. Pietrini
U.O. Laboratory of Clinical Biochemistry, Department of Experimental Pathology,
University of Pisa, Italy

Aim of the study. Neopterin, low-molecular mass substance synthesized from guanosine triphosphate (GPT) in macrophages upon stimulation by interferon-gamma, is a sensitive marker for monitoring Th1-cell immune response in humans. Increased neopterin concentrations found in various tumour diseases suggests the significant effect of immune activation on the clinical course of disease.The aim of the present study was to evaluate the usefulness of neopterin in breast cancer patients with active disease and breast cancer patients in remission.
Materials and methods. We assayed repeatedly over a two-year period including treatment-free periods serum levels of neopterin in 51 patients with breast cancer (mean ag e 61 ± 11 SD years): 18 patients were under treatment for metastases with partial or complete response, 33 patients had been disease-free for at least 36 months. Blood samples were drawn in the morning, and serum was stored immediately at -20°C. Serum concentrations of neopterin was determined quantitatively by enzyme-linked immunosorbent assay (DRG Instruments GmbH, Germany).
R*esults.* Mean neopterin levels were significantly higher in 18 patients with metastases than in the 33 disease-free patients (20,1 ± 28,6 nmol/l vs 6,9 ± 3,7 nmol/l, (mean ± SD), t test value = 6,69, $p < 0.00001$). Neopterin levels was elevated in the sera from patients with metastases and remained elevated during long-term observation of these patients.
Discussion. These findings, although preliminary, show that neopterin as elevated in metastatic breast cancer patients and suggest that levels of these marker may be a independent prognostic variable of metastatic disease and may be of he lp in monitoring disease activity in breast cancer patients.

UNA RICERCA DI QUALITÀ E APPROPRIATEZZA NELLA DETERMINAZIONE DEL PSA

D-03

A. Lorenzon, M. Ruscio, C. Li Mandri, F. Piuzzi, P. Zanetti
Laboratorio Analisi Ospedale di San Daniele del Friuli Dipartimento Diagnostico e Strumentale ASS 4 “Medio Friuli”

Scopo del lavoro: mettere a confronto i risultati del PSA totale (PSAt) e del PSA free (PSAf) ottenuti con due sistemi analitici diversi e documentare i risultati di appropriatezza conseguiti con l’introduzione di un algoritmo diagnostico nell’esecuzione del PSAf.
Materiali e metodi: sugli analizzatori Liaison (DiaSorin) e Advia Centaur (Bayer) abbiamo processato contemporaneamente 138 campioni di siero di pazienti con valori precedenti di PSAt fino a 10 ng/ml. Su entrambi i sistemi è stata eseguita la determinazione del PSAt; il PSAf è stato ottenuto mediante metodo diretto con Liaison e con calcolo indiretto, dal PSA complessato (PSAc), con Advia Centaur.
Al fine di accrescer e, inoltre, l’appropriatezza della richiesta abbiamo introdotto dall’1.1.2006 un algoritmo diagnostico che prevede l’esecuzione del PSAf e della ratio f/t solo per valori di PSAt compresi nel range 2.6-10.0 ng/ml (-/+ 10%).
Risultati: dei 138 campioni analizzati sono stati esclusi 6 out-lier per non alterare la regressione lineare. Le correlazioni tra le due metodiche CLIA (DiaSorin vs Bayer) nelle determinazioni del PSAt e del PSAf hanno dato un risultato ottimo per il PSAt (r=0.9884) e buono per il PSAf (r=0.893).
La valutazione dell’appropriatezza della richiesta è stata effettuata con un’analisi comparativa della percentuale di determinazioni di PSAf effettuate prima e dopo l’introduzione dell’algoritmo diagnostico. Nel 2005 abbiamo eseguito 11445 determinazioni di PSAt di cui il 49.3% prevedevano anche l’esecuzione del PSAf (5640). Nei primi otto mesi del 2006, l’introduzione dell’algoritmo diagnostico ha portato ad una significativa riduzi one dei PSAf determinati (23.8% dei PSAt; classe modale del PSAt 2.34-3.2 ng/ml). L’introduzione del criterio di appropriatezza ci induce ad affermare che il 52% dei PSAf eseguiti nel 2005 erano inutili (50% su PSAt troppo bassi e 2% su PSAt >11.0 ng/ml), quindi solo il restante 48% dei PSAf avrebbero fornito informazioni clinicamente rilevanti.
Discussione e Conclusioni: come è noto la sicurezza del paziente nelle determinazioni dei marcatori tumorali è garantita dal mantenimento di una stabile qualità analitica nel tempo, che consenta corrette valutazioni diagnostico/terapeutiche nel follow-up. I risultati analitici del PSAt e la determinazione del PSAf ottenuti con i due sistemi esaminati correlano ottimamente. L’introduzione dell’algoritmo diagnostico ha portato ad una significativa riduzione dei PSAf eseguiti (- 52%) migliorando l’appropriatezza e il servizio al paziente ad un minor costo.

NT-proBNP E PARAMETRI ECOGRAFICI DOPO PTCA

D-04

S. Finazzi, G. Re, E. Rossetti, M. Mariani, M. Lotzniker
Laboratorio Analisi Ospedale Civile di Legnano

Scopo del lavoro. L'angioplastica coronarica (PTCA) nell'infarto miocardico acuto (IMA) non sempre ottiene efficace riperfusione miocardica nonostante la ricanalizzazione vascolare. Il parametro ecografico "Myocardial Blush"(MB), è indicato in letteratura, se pur con diversa valenza, come un buon predittore del recupero miocardico. Nel presente studio a MB viene affiancato il parametro NT-proBNP post PTCA quale indicatore dell'effettiva compromissione miocardica residua.
Materiali e Metodi. In 78 pazienti con IMA, MB è stato valutato con score da 0 a 3 (score 0-1= assenza, 2-3= presenza di riperfusione microvascolare). NT-proBNP è stato dosato dopo PTCA a 48 h e a 7 giorni (metodo ECLIA, Modular E170, Roche) con parallela valutazione ecocardiografica della frazi one di eiezione ventricolare (FE).
Risultati. Sia a 48 h che a 7 giorni le mediane di NT-proBNP sono significativamente inferiori ($p<0.01$) nei pazienti con MB presente. Nella Tab 1 sono illustrati i rapporti tra MB, FE e terzili di NT-proBNP.
Discussione e Conclusioni. L'informazione immediata offerta da MB trova conferma con l'osservazione di NT-proBNP post PTCA; MB presente e NT-proBNP compreso nel primo terzile individuano i pazienti in cui la riperfusione microvascolare è stata ottimale con recupero massimo della funzione contrattile.

TAB.1

	Osservazione a 48 h			Osservazione a 7gg		
	1°terzile	**2°terzile**	**3°terzile**	**1°terzile**	**2°terzile**	**3°terzile**
pro NT-BNP(pg/mL)*	851	2131	7097	450	1227	5429
range	149-1399	1560-2825	3011-28592	103-717	735-1986	2064-22357
ECO 48 ore FE %*	51.73	45.00	38.94	51.86	44.29	40.37
ECO 7gg FE %	50.88	49.26	41.92	51.76	46.38	43.88
Myocardial Blush 0-1	89%	79%	59%	92%	69%	50%
Myocardial Blush 2-3	11%	21%	41%	8%	31%	50%

* Valori medi

VALUTAZIONE DELL'EFFETTO MATRICE SULLA DETERMINAZIONE DELLA TROPONINA I CON L'ANALIZZATORE AIA 360 TOSOH

D-05

E. Trabuio, S. Boscolo, F. Antico, S. Valverde, G. Gessoni
Servizio di Medicina di Laboratorio A-ULS 14 "Chioggia"

Scopo del Lavoro: La determinazione delle troponine ha rivoluzionato il concetto diagnostico di infarto miocardio acuto (IMA). La loro determinazione è indispensabile per porre la diagnosi di IMA e quindi si tratta di esami di comune esecuzione sia in routine che in urgenza. In letteratura esistono vari report documentanti l'influenza della matrice (siero o plasma) sulle determinazione delle troponine. Nel nostro Laboratorio la determinazione della Troponine I viene effettuata utilizzando gli analizzatori TOSOH 360, ci è sembrato quindi opportuno valutare l'influenza della matrice su tale determinazione.
Materiali e Metodi: Sono stati considerati 132 coppie di campioni: plasma eparinato e siero ottenuto da provette senza gel e separato secondo quanto previsto dallo NCCLS. In questi campioni è stata eseguita nella stessa seduta analitica la determinazione della Troponine I con analizzatore TOSOH AIA 360 e reattivi AIA-Pak.
Risultati: Il dosaggio della Troponina I eseguito su siero o su plasma dimostra una ottima correlazione dei risultati. Il dosaggio della Troponina I è risultato lievemente aumentato nel plasma rispetto al siero (4,481 ng/mL e 4,981 ng/mL rispettivamente), lo scarto quadratico medio era 0,151.
Discussione e Conclusioni: Nel nostro Laboratorio, usualmente, la determinazione degli indicatori di lesione miocardia viene effettuata su siero ed il valore soglia per la Troponina I è posto a 0.15 ng/mL. Tuttavia i test di Chimica Clinica vengono effettuati su plasma eparinato e quindi a volte è necessario, per ovviare a problematiche pre-analitche, eseguire tale determinazione su plasma. Abbiamo osservato una lieve e costante sovrastima della Troponina n el plasma piuttosto che nel siero. Tale differenza, peraltro non statisticamente significativa, che avrebbe portato ad una mis-classificazione del paziente in tre casi (2,2%) che risultati al di sotto del valore soglia con la determinazione su siero sarebbero risultati appena al di sopra con il dosaggio su plasma.

LA VITAMINA B12 SERICA E' UN MARKER DI LESIONI PRENEOPLASTICHE DELLO STOMACO?

D-06

B. Porcelli*, I. Ciari*, G. Cinci*, R. Pagani*, S. Petralia#, L. Terzuoli*
*Dipartimento di Medicina Interna, Scienze Endocrino-Metaboliche e Biochimica, Sezione di Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena
#Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

Scopo del Lavoro. In questo studio, abbiamo valutato se la determinazione della vitamina B12 serica possa evidenziare la presenza di lesioni gastriche e quindi possa rappresentare un test di screening che permetta la selezione e il conseguente monitoraggio di quei soggetti con un elevato rischio di neoplasia gastrica, o di conseguenze legate alle deficienza di vitamina B12, o di ulcera peptica.
Materiali e Metodi. Sono stati analizzati 109 soggetti sia esterni che ricoverati, che giungevano alla n ostra osservazione con richiesta di auto-anticorpi anti-cellule parietali gastriche (PCA). Gli auto- anticorpi anti-PCA erano determinati mediante immunofluorescenza indiretta (ImmuGlo Autoantibody Test System COMVI-III Rat liver/kidney/stomach, IMMCO DIAGNOSTICS); il dosaggio della vitamina B12 era eseguito con un metodo RIA (Kit SimulTRAC-SNB, ICN).
Risultati. Gli auto-anticorpi anti-PCA risultavano negativi in 69 soggetti (63%) e positivi in 40 (37%). I livelli di vitamina B12 risultavano normali sia nei soggetti con anticorpi anti-PCA negativi (486±217) sia in quelli con anticorpi anti-PCA positivi (475±299).
Discussione e conclusioni. I risultati ottenuti per gli auto-anticorpi anti-PCA confermano il loro ruolo, da tempo consolidato, di markers di lesioni a livello dello stomaco. Al contrario, il dosaggio della vitamina B12 serica non sembra essere utile come test di screening per selezionare quei pazienti che presentano lesioni gastriche precancerose e che dev ono essere monitorati mediante gastroscopia. Questi risultati confermano le osservazioni presenti in Letteratura, che mettono in evidenza la bassa sensibilità della vitamina B12 in varie patologie. Sulla base dei risultati da noi ottenuti, e in considerazione del fatto che nella nostra realtà il dosaggio della vitamina B12 viene eseguito con un metodo RIA, sicuramente metodo di riferimento ma con costi elevati, non riteniamo il dosaggio della vitamina B12 un test da includere nel pannello di esami utilizzati per identificare i soggetti a maggior rischio di cancro dello stomaco.

D-07

EVALUATION OF CARDIAC INVOLVEMENT FOLLOWING MINOR ABDOMINAL SURGERY

M. Daves, G. Cosio, F. Rizza, #M. Montagnana, #G.C. Guidi, #G. Lippi
Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano.
#Istituto di Chimica e Microscopia Clinica, Università degli Studi di Verona.

Aim: Aim of this investigation is to recognize a potential cardiac involvement following minor abdominal surgery.
Methods: Troponin I (cTnI), creatine kinase MB (CK-MB), myoglobin, Ischemia Modified Albumin (IMA) and Betat ype natriuretic peptide (BNP) were evaluated in 10 consecutive patients undergoing laparoscopic cholecystectomy before, 4 e 24 hours following surgery.
Results: are shown in table 1 and expressed as mean±standard deviation (SD); † $p< 0.05$ to the baseline (before surgery) specimen; ‡ $p < 0.01$ to the baseline (before surgery) specimen.
Conclusions: 3 out of 10 patients displayed increased myoglobin values 4 hours after surgery, thou gh no patients displayed increased values of CK-MB and cTnI throughout the observational period. BNP increased significantly in 90 and 100% of the patients at 4 and 24 hours post-surgery, respectively. Values exceeding the reference range were observed in two patients. IMA increased significantly at 4 and 24 hours post-surgery in the totality of patients. Results of the present investigation testify that minor abdominal surgery may be associated with a mild and transitory cardiac involvement, without biochemical signs of irreversible cardiac injury.

	Baseline	4 hours post-surgery	24 hours post-surgery
cTnI (ng/ml)	0.011±0.003	0.014±0.007	0.015±0.007
CK-MB(ng/ml)	1.81±0.817	1.42±0.49	1.74±1.03
Mioglobina	28±7.3	64.39±52.34 †	35.39±13.88 †
BNP pg/ml	17±13.76	24.26±17.14 †	34.25±26.92 †
IMA (Kunits/l)	69.7±7.76	86.1±9.10 ‡	86.3±12.81 ‡

CONFRONTO DI AMILASI PANCREATICA *VS* AMILASI TOTALE COME TEST DI SCREENING

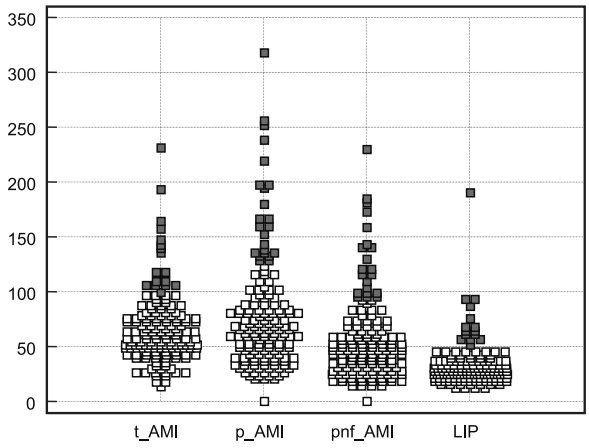
D-08

D. Giavarina, D. Urbani, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. Nella valutazione di pancreatiti acute l'amilasi pancreatica (p-AMI) è più specifica dell'amilasi totale (t-AMI), ed anche più sensibile nel monitoraggio. I metodi per la determinazione della p-AMI prevedono spesso fattori di correzione, per restituire valori di p-AMI simili a quelli dell'amilasi totale, salvo la presenza di amilasi salivare (s-AMI). Quando il test è applicato in condizioni di screening, senza indicazione clinica specifica o con indicazione generica, la maggiore specificità della p-AMI dovrebbe teoricamente garantire un numero inferiore di valori "positivi".

Pazienti e metodi. Le attività di t-AMI, p-AMI e Lipasi (LIP) sono state misurate in 160 soggetti esterni, afferiti al prelievo per motivi non legati a sintomatologia addominale o a patologia alcolica. Le determinazioni sono state eseguite su plasma con metodica BAYER su ADVIA 2400. I valori di t-AMI sono stati valutati anche contro un nuovo fattore di calibrazione, recentemente introdotto dal produttore (pnf-AMI). Il limite di riferimento per t-AMI era stato precedentemente calcolato dal laboratorio: 132 U/L. Per t-AMI, e LIP si sono utilizzati i limiti proposti dal produttore. Per tnf-AMI è stato applicato il fattore di calibrazione al limite di t-AMI.

Risultati. Sono risultati oltre il limite superiore di riferimento, 17 soggetti per t-AMI, 22 per p-AMI e pnf-AMI e 16 per lipasi (Figura)



Discussione Il test p-AMI dimostra una minore specificità rispetto a t-AMI, in popolazioni non selezionate e asintomatiche. Le maggiori specificità di p-AMI sono da ricercarsi in soggetti affetti da parotite e malattie gastrointestinali non coinvolgenti il pancreas, dove gli elevati livelli di t-AMI possono essere discriminati con p-AMI.

IL PROFILO AUTOANTICORPALE DEI PAZIENTI CON EPATITE AUTOIMMUNE

D-09

R. Tozzoli 1, G. Kodermaz 1, D. Villalta 2, N. Bizzaro 3, M. Tampoia 4, S. Platzgummer 5
1) Dipartimento dei Servizi, Laboratorio Analisi Chimico-cliniche e Microbiologia, Ospedale di Latisana (Ud)
2) Dipartimento di Patologia Clinica, Servizio di Immunologia Clinica, Ospedale di Pordenone
3) Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Tolmezzo (Ud)
4) Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale-Policlinico di Bari
5) Dipartimento di Laboratorio, Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Merano (Bz)

Scopo del lavoro. L'epatite autoimmune (EAI) è una rara affezione del fegato, caratterizzata dall'assenza di fattori etiologici classici di danno epatico (virus, alcol, farmaci, anomalie metaboliche congenite) e dalla presenza di autoanticorpi organo- e non organo-specifici. Gli autoanticorpi costituiscono im portanti marcatori per la diagnosi e la classificazione della EAI, ma la loro prevalenza risulta ampiamente variabile negli studi presenti in letteratura, per cause diverse, principalmente metodologiche. Data la recente disponibilità di metodi immunometrici per il dosaggio quantitativo autoanticorpale, lo scopo di questo studio è stata la valutazione del profilo autoanticorpale dei pazienti affetti da epatiti autoimmuni ed il confronto con pazienti affetti da altre malattie epatiche, autoimmuni e non.

Materiali e metodi. Sono stati studiati 39 pazienti affetti da EAI e 90 pazienti affetti da altre patologie epatiche (30 epatiti HCV-positive, 10 celiachie con interessamento epatico, 40 cirrosi biliari primitive, 10 steatosi), mediante la determinazione di 19 diversi tipi di autoanticorpi (LKM-1, LC1, SLA/LP, SMA, F-actina, ANA, dsDNA, ANA, ENA, ANCA), con l'impiego di vari metodi commerciali (IFI, DB, ELISA), forniti da diversi produttori (Aesku, Inova, Phadia, AlphaDi a) e di un analizzatore automatico (Triturus, Grifols Diagnostics, Pisa).

Risultati. I livelli soglia di positività sono stati definiti mediante l'impiego di curve ROC per ciascun tipo di autoanticorpo. Le sensibilità diagnostiche sono risultate più alte per gli autoanticorpi diretti contro antigeni 'sistemici' (range: 33-71%) e più basse per gli autoanticorpi diretti contro antigeni epatici (range: 7.5-23%); inoltre alcuni autoanticorpi non sono apparsi utilizzabili per la diagnosi differenziale, dato che risultano largamente presenti in pazienti affetti da malattie epatiche non autoimmuni.

Conclusioni. La caratterizzazione del repertorio autoanticorpale è uno strumento importante per la corretta diagnosi di EAI: tuttavia, a causa della bassa sensibilità degli autoanticorpi specifici e della non elevata specificità degli anticorpi 'sistemici', ulteriori studi sono necessari per identificare nuovi marcatori sensibili e specifici di malattia.

FATTORI PROGNOSTICI NELLA SINDROME CORONARICA ACUTA NON ST

D-10

D. Rubin, P. Bulian, M. Cassin*, F. Macor *, G.L. Nicolosi*, P. Cappelletti
Laboratorio di Patologia Clinica , Dipartimento di Medicina di Laboratorio, UO di cardiologia* Azienda Ospedaliera S.Maria degli Angeli Pordenone

Nella letteratura degli ultimi anni si sono accumulate le segnalazioni sul potere prognostico di variabili diverse (demografiche, funzionali, ematochimiche) nella Sindrome Coronaria Acuta e in particolare nella Sca non ST.
Scopo: valutare il potere prognostico a lungo termine (sei mesi) di variabili diverse nella Sca non ST
Materiali e metodi: sono stati studiati 595 pazienti (300 maschi e 295 femmine con età media 65 anni, range 26-100) ricoverati consecutivamente in UTIC.
All'ingresso venivano registrati i dati clinici e le variabili valutate sono state: età, sesso, presenza di copatologie, fattori di rischio: diabete, dislipidemie, fumo, ipertensione), FEVS, trombolisi, esami ematochimici: BNP, Troponina I, HsCRP, Colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, glicemia, creatinina, leucociti e piastrine. Nei pazienti con SCA il dosaggio della troponina veniva eseguito ogni quattro ore sino al picco. Un ecocardiogamma veniva eseguito entro 24 ore dall'ingresso. Sono stati considerati eventi compositi a sei mesi: morte, ricovero per scompenso cardiaco, reinfarto e angina. I predittori di eventi sono stati valutati mediante analisi univariata e multivariata mediante regressione logistica multipla.
Risultati: con l'analisi univariata per gli end point compositi sono risultati non significativi le variabili sesso, diabete, ipertensione, HsCRP. Con l'analisi multivariata sono risultati predittori indipendenti età, copatologie, FEVS, BNP e TnI picco. Introducendo i cut off determinati con curve ROC (età 70 anni) BNP (333 ng/L) FEVS (49%) TnI picco (24 ng/mL) gli OR sono risultati TnI 12.28, età 5.96, FEVS 4.52, copatologie 3.24, e BNP 2.33. Per l'end point reinfarto, in univariata gli unici predittori sono età e diabete e in multivariata solo l'età (cut-off > 75 anni). Per l'end point scompenso in univariata non appaiono significativi ipertensione, fumo, dislipidemia, TnI picco HsCRP, trombolisi e in multivariata sono significativi diabete, FEVS, creatinina e BNP. Con l'inserimento dei cut off il risultato è sovrapponibile: BNP (OR 10.56) FEVS (OR 2.70) diabete (OR 2.64) e creatinina (OR 2.42).
Discussione: nella nostra casistica TnI picco è il più potente predittore di morte (OR 12.28) ma non di reinfarto per il quale end point l'unico fattore prognostico risulta l'età. Il BNP è il più potente predittore di scompenso (OR 10.56) ad un cut off > 229 ng/L.

VALUTAZIONE MULTIPARAMETRICA DEL RISCHIO DI EVENTI A SEI MESI IN 1207 PAZIENTI RICOVERATI CONSECUTIVAMENTE IN UTIC

D-11

D. Rubin, P. Bulian, M. Cassin*, F. Macor*, G.L. Nicolosi*, P. Cappelletti
Laboratorio di Patologia Clinica , Dipartimento di Medicina di Laboratorio, UO di Cardiologia* Azienda Ospedaliera S.Maria degli Angeli Pordenone

Negli anni scorsi sono stati valutati i fattori prognostici a breve in una popolazione cardiologica non selezionata intraospedaliera rappresentativa del mondo reale degli eventi cardiologici acuti.
Scopo. Chiarire il valore prognostico dei dati demografici, ecocardiografici e biumorali in una popolazione non selezionata di pazienti ricoverati consecutivamente in UTIC in relazione a eventi compositi a sei mesi (morte, scompenso cardiaco, infarto miocardico e angina).
Materiali e metodi. Sono stati studiati 1207 pazienti (710 maschi e 497 femmine con età media 68 anni, range 26-100) ricoverati consecutivamente in UTIC. Le diagnosi principali erano: SCA senza - ST 595, SCA - ST 297, 120 aritmie, 94 scompenso e altre cause 101.
All'ingresso venivano registrati i dati clinici e le variabili valutate sono state : età, sesso, presenza di copatologie, fattori di rischio: (diabete, dislipidemia, fumo, ipertensione), FEVS, trombolisi, esami ematochimici: BNP, Troponina I, HsCRP, Colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, glicemia, creatinina, leucociti e piastrine . Nei pazienti con SCA il dosaggio della troponina veniva eseguito ogni quattro ore sino al picco. Un ecocardiogamma veniva eseguito entro 24 ore dall'ingresso. Sono stati considerati eventi compositi a sei mesi: morte, ricovero per scompenso cardiaco, reinfarto e angina. I predittori di eventi sono stati valutati mediante analisi univariata e multivariata mediante regressione logistica multipla.
Risultati. Con l'analisi univariata per gli end point compositi sono risultati predittori indipendenti: età (OR 4.95), copatologie (OR 3.13), diabete (OR 2.27), FEVS (OR 3.87), creatinina (OR 2.56), glicemia (OR 2.39), HsCRP (OR 2.39), e BNP (OR 4.95). Con l'analisi multivariata per gli end point compositi sono risultati predittori indipendenti; età (OR 4.81), copatologie (OR 3.04), diabete (OR 3.00), FEVS (OR –3.68), creatinina (OR 1.71), glicemia (OR 2.05), leucociti (OR 2.34). Sostituendo BNP con il log BNP i risultati sono sovrapponibili eccetto un aumento di OR (5.68) di logBNP e l'uscita dal modello delle creatinina. Sono stati definiti con curve ROC i cut-off per BNP (224 ng/L) HsCRP (0.39 mg/dL) FEVS (49%) leucociti (10.45 103 ug/L) L'analisi multivariata, introducendo i cut off indicati evidenzia la persistenza come fattori indipendenti età, copatologie, diabete, FEVS, glicemia e leucociti: si conferma la scomparsa di creatinina. Rientra la HsCRP.
Discussione. L'insieme dei dati statistici mostra in una popolazione cardiologica non selezionata il potere prognostico di BNP che si embrica ma non sostituisce il predittore emodinamico FEVS. Man mano che l'analisi si affina il predittore legato alla funzionalità renale (creatinina) scompare. HsCRP è un predittore indipendente solo utilizzando il cut-off da curva ROC con valore decisamente superiore ai livelli decisionali suggeriti internazionalmente.

D-12

LA CALPROTECTINA FECALE NEL MONITORAGGIO DEL RIGETTO DOPO TRAPIANTO DI INTESTINO: ESPERIENZA NEL PRIMO CASO PEDIATRICO ITALIANO

M.G. Alessio, *G. Torre, *M. Candusso, M.L. Melzi, A. Sonzogni, M. Di Gristina, T. Benedetti, A. Bertoletti, F. Noris, C. Maestroni, A. Radaelli, C. Ottomano
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Pediatria e Gastroenterologia, AO Ospedali Riuniti di Bergamo

La calprotectina è una proteina prodotta dai neutrofili e dai monociti /macrofagi, rilevabile nelle feci qualora sia presente un processo infiammatorio intestinale. La sua utilità è legata alla possibilità di diagnosi non invasiva di colite infiammatoria.
Scopo del lavoro. Abbiamo voluto verificare l'utilità del dosaggio della calprotectina fecale nel monitorare l'insorgenza di rigetto nel primo trapianto pediatrico di intestino, eseguito presso il Centro Trapianti pediatrico degli Ospedali Riuniti di Bergamo. Paziente G.S., anni 7, è stato sottoposto a trapianto di intestino per una sindrome da intestino corto, per volvolo neonatale. Il bambino è stato alimentato con nutrizione parenterale (NP) dalla nascita. Ha avuto numerose complicanze, specie di tipo settico. A 6 anni è stato messo in lista per Tx di intestino a causa dello scarso accrescimento e per le difficoltà a continuare la nutrizione parenterale, per trombosi degli accessi vascolari. Il bambino ha ricevuto l'intestino di un donatore di 2 anni ; nel corso dell'intervento e stata realizzata una ileostomia dell'intestino del donatore per consentire i controlli bioptici; contestualmente è stata iniziata terapia immunosoppressiva. In 5.a giornata si sono gradualmente introdotti alimenti per via orale, ben tollerati. Un controllo istologico mediante biopsia veniva effettuato 3 volte la settimana. In 21.a giornata l'esame istologico mostrava segni di rigetto moderato, accompagnati da sintomi quali febbre e aumento delle deiezioni ileali. Il rigetto è stato trattato con boli di steroide , con ritorno alla normalità clinica e bioptica entro 2 settimane. In 40.a giornata è stata sospesa definitivamente la NP. Attualmente il bambino sta bene e si alimenta normalmente.
Metodi. La calprotectina fecale (Calprest, Eurospital, Trieste) è stata determinata su campioni raccolti giornalmente, a partire dalla prima giornata post Tx ; i campioni sono stati congelati e successivamente testati.
Risultati: Si è utilizzato un cut-off 90 mg/kg di feci. Dopo il Tx, i livelli di calprotectina erano costantemente sotto i l cut off con un riscontro isolato di 170 mg/kg in 6.a giornata. Un'aumento persistente dei valori si è verificata nei giorni immediatamente precedenti il riscontro bioptico di rigetto (picco 380 mg/kg), con ritorno al di sotto del cut-off con il superamento del rigetto . I successivi controlli hanno mostrato la persistenza di bassi valori di calprotectina.
Conclusioni: E' stata dimostrata un'ottima correlazione tra livelli di calprotectina fecale e rigetto; pertanto la sua determinazione è stata inserita nel protocollo post-trapianto del nostro centro.

D-13

LIVELLI CIRCOLANTI DI MARKERS DI STRESS OSSIDATIVO E MOLECOLE DI ADESIONE ENDOTELIALE IN PAZIENTI CON OBESITÀ VISCERALE

M.M. Corsi*, G. Dogliotti*, F. Ermetici°, A.Malavazos°, B. Ambrosi°
*Laboratorio di Patologia Clinica, Istituto di Patologia Generale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Milano;
° U.O. di Endocrinologia, Università degli Studi di Milano, Policlinico San Donato IRCCS, Milano

Scopo del lavoro. Si pensa che lo stress ossidativo e la disfunzione endoteliale giochino un ruolo importante nella patologia cardiovascolare rischio individuato nella popolazione affetta da obesità addominale. La patologia cardiovascolare (CVD) è la principale causa di morte in nord America e numerosi studi affermano che l'aumento dei livelli plasmatici di colesterolo LDL sia indice di questa malattia. Il processo aterosclerotico è il risultato di un accumulo di colesterolo sulle pareti arteriose e la presenza di colesterolo LDL ossidato in queste regioni suggerisce che l'ossidazione di lipoproteine abbia un ruolo attivo nell'aterogenesi precoce. Le oxLDL sono implicate in molti stadi dell'aterosclerosi ad esempio modifiche dell'endotelio, infiammazioni, sintesi dei fattori di crescita e formazione d'autoanticorpi. L'attivazione dell'endotelio vascolare esprime una vasta selezione di molecole incluse le molecole d'adesione quali ICAM-1. L'obiettivo di questo studio è descrivere un'associazione tra accumulo di grasso addominale, stress ossidativi e disfunzione endoteliale nei pazienti
*Materiali e Metodi.*Un profilo fisico e metabolico è stato valutato in un gruppo di 27 donne per poterne dosare obesità e livelli plasmatici di LDL ossidate (Immundiagnostik, Bensheim, Germania), perossidi (Immundiagnostik, Bensheim, Germania) e molecole di adesione intercellulare 1 (ICAM-1) (R&D Systems, Minneapoli, MN, USA).
Risultati. I nostri risultat i dimostrano che il tessuto adiposo addominale viscerale è positivamente associato con i livelli plasmatici di oxLDL, perossidi e molecole d'adesione ICAM-1.Inoltre il tessuto adiposo viscerale è direttamente proporzionale all'aumento di ICAM-1, come anche i livelli plasmatici di oxLDL e di perossidi sono direttamente proporzionali ad ICAM-1 In conclusione possiamo dimostrare che i livelli nel plasma di oxLDL sono aumentati nei pazienti con un accumulo di tessuto adiposo viscerale.
Discussione e Conclusione. I nostri dati evidenziano come lo stress ossidativo sia associato all'attivazione endoteliale e che nell'obesità viscerale sia aumentano il rischio di patologie cardiovascolari.

ASYMMETRIC DIMETHYL-L-ARGININE (ADMA): POSSIBILE RUOLO IN PAZIENTI OBESI

D-14

M.M. Corsi *, G. Dogliotti*, F. Ermetici°, A. Malavazos°, B. Ambrosi°
*Laboratorio di Patologia Clinica, Istituto di Patologia Generale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Milano
° U.O. di Endocrinologia, Università degli Studi di Milano, Policlinico San Donato IRCCS, Milano

Scopo del lavoro. L'iperomocisteinemia è associata all'incremento del rischio di patologie aterosclerotiche e tromboembolie venose. La disfunzione endoteliale appare essere indicatore di sviluppo della lesione aterosclerotica e permette di predire eventi vascolari. NO è il più potente vasodilatatore endogeno rilasciato dall'endotelio e la diminuzione della sua biodisponibilità è responsabile dell'indebolimento a carico dell'endotelio nell'iperomocisteinemia ed in altri disordini metabolici associati a patologie vascolari. Sostanze responsabili dell'indebolimento delle funzioni endoteliali, come conseguenza della riduzione di NO, sono gli inibitori endogeni dell'NO sintetasi: l'ADMA. Uno dei possibili meccanismi responsabili della riduzione dell'attività di NOS è l'aumento degli inibitori NOS. Gli inibitori endogeni competitivi dei NOS conosciuti, L-NMMA e ADMA, possono contribuire all'indebolimento delle funzioni endoteliali nell'uomo.
Materiali e Metodi. Lo studio è stato effettuato su 24 pazienti con disordini metabolici e 12 controlli.E' stato utilizzato il kit ADMA-ELISA (Immundiagnostik, Bensheim, Germania); i valori normali di tale dosaggio sono tra 80 e 150 ng/mL (0.4-0.75 µ mol/L). La sensibilità del metodo è di 0.05 µ mol/L.
Risultati. I nostri risultati dimostrano che il tessuto adiposo addominale viscerale è positivamente associato con i livelli plasmatici di ADMA. Inoltre, da altri nostri dati, il tessuto adiposo viscerale è direttamente proporzionale all'aumento oxLDL e di perossidi.
Discussione e Conclusione. La concentrazione di ADMA è stata rilevata in patologie umane ed in disordini metabolici associati all'aterosclerosi. Per esempio il raddoppio dei valori di concentrazione di ADMA è indice di ipercolesterolemia. Un aumento specifico di ADMA associato all'indebolimento a carico dell'endotelio è stato riscontrato nell'iperomocisteinemia, cosi come un aumento plasmatico dei livelli di omocisteina. I nostri pazienti obesi hanno anche livelli elevati di omocisteina, per cui, rientrano in una popolazione a rischio di danno cardiovascolare.

IL SOFTWARE MICRODIET COME STRUMENTO EDUCATIVO NELLA VALUTAZIONE DELLE ABITUDINI ALIMENTARI

D-15

O. Paolilli,*E. Matteucci, *M. Cecchi, °M. Mariotti, F. Bani, A. Rosellini, L. Severini, E. Vallini, L. Rossi, M. Casini, *O. Giampietro
*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa,°Servizio Dietetico, Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana

Scopo del lavoro. Nell'ambito di un programma annuale di prevenzione, attuato nei pazienti diabetici di tipo 2 (T2D) con rischio cardiovascolare elevato (29 ± 12 % secondo l'UKPDS Risk Engine) è stato realizzato un intervento di educazione alimentare e di consulenza dietologica, la cui efficacia era valutata mediante 2-d 24-h dietary recall (24HDR) eseguiti a 1, 3, 6, 9 e 12 mesi.
Materiali e metodi. Abbiamo valutato il risultato iniziale ottenuto in 14 pazienti T2D (età 62 ± 5 aa, BMI 30 ± 5 kg/m2, HbA1c 7 .1 ± 1.2 %) monitorati durante i primi 9 mesi. L'apporto alimentare della singola giornata era analizzato con il software Microdiet (Sanford University). Tale software fornisce in tempo reale una quantificazione dettagliata dell'apporto calorico totale e dei singoli nutrienti, la distribuzione percentuale di energia fornita da proteine, grassi e carboidrati, il confronto fra l'apporto dei vari nutrienti ed i livelli consigliati per età e sesso (l'operatore può scegliere fra tabelle di riferimento già disponibili nel database o può inserirne di nuove).
Risultati. L'apporto calorico giornaliero medio era 1646 ± 431 kcal/d (vs le 1602 ± 181 consigliate, ns). La percentuale di energia fornita dalle proteine era 18 ± 4 % (vs 17 ± 1, ns), carboidrati 49 ± 7 % (vs 55 ± 1, $p<0.001$), lipidi totali 31 ± 8 % (vs 27 ± 1, $p<0.001$). L'assunzione giornaliera di fibre era 19 ± 8 g/d, di colesterolo 199 ± 135 mg/d, di grassi saturi 15 ± 7 g/d, di monoinsaturi 25 ± 12 g/d , di poliinsaturi 14 ± 12 g/d. Dal 1° al 9° mese, l'assunzione dietetica di acido folico aumentava ($p<0.05$). Entro i primi 3 mesi i livelli di pressione sistolica si riducevano ($p<0.05$) e restavano stabili successivamente.
Conclusioni. I risultati preliminari dello studio sottolineano i vantaggi potenziali dell'analisi del 24HDR mediante Microdiet software, ma confermano anche come sia difficile un cambiamento della abitudini alimentari per un paziente T2D anziano, in particolare per quanto riguarda la riduzione dell'apporto lipidico in favore di quello glucidico.

INDAGINE CONOSCITIVA SULLA MISURA DELLA ALBUMINA NELLE URINE NEI LABORATORI ITALIANI

D-16

C. Lo Cascio[1], M.S. Graziani[1], A.L. Caldini[2], F. Ghiara[3], M. Gambassi[2], R. Testa[4], A. Mosca[5]

1. Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche Ospedale Civile Maggiore Azienda Ospedaliera di Verona
2. Laboratorio Generale DAI Diagnostica di Laboratorio Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi Firenze
3. Laboratorio Analisi AUSL 3 Genova
4. Unità Operativa di Diabetologia Dipartimento Ricerche INRCA-IRCCS Ancona
5. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche Università degli Studi di Milano

Introduzione: la misura della albumina urinaria è un parametro cardine nel monitoraggio del paziente diabetico (1). A fronte della sua importanza clinica, la standardizzazione della misura è carente. Per approfondire il problema, il gruppo di studio intersocietario sul Diabete Mellito ha avviato una indagine conoscitiva. Scopo del presente lavoro è la presentazione delle risposte pervenute ed elaborate
Metodi: un questionario di 21 domande è stato diffuso attraverso le due Società e le organizzazioni di Verifica Esterna di Qualità. Le risposte sono state inviate via fax e raccolte in un database. Le domande riguardano gli aspetti preanalitici (campione), analitici (metodo, controllo di qualità) e post analitici (unità di misura, valori di riferimento)
Risultati: sono pervenuti 153 questionari. I dati salienti sono così riassunti. Il tipo di campione maggiormente impiegato è la Raccolta 24 ore (56%), seguito dal Campione Estemporaneo (16%), 2° minzione (14%) e Temporizzato (8%). Più della metà dei laboratori (55%) utilizza il metodo Turbidimetrico, il 39% il Nefelometrico. L'85% dei laboratori esegue il Controllo Interno di Qualità, mentre solo il 28% partecipa a Verifiche Esterne di Qualità. Esiste grande difformità nelle unità di misura. Il 37% utilizza la Concentrazione nelle 24 ore, il 32% la Concentrazione per Volume, il 22% il Rapporto con la Creatinina, l'11% l'Escrezione per Minuto. Anche all'interno di queste categorie la variabilità è notevole: si utilizzano ug, mg, dL, L, mol etc. I valori di riferimento sono in accordo con le raccomandazioni dell'American Diabetes Society solo nel 36% dei Laboratori
Discussione: dall'esame delle risposte ricevute è evidente che i comportamenti nella misura della albumina urinaria sono in linea con le raccomandazioni vigenti solo in minima parte, pur essendo queste stabilite e consolidate da qualche anno. Il non adeguamento alle raccomandazioni include: l'utilizzo prevalente della raccolta delle 24 ore, la difformità delle unità di misura impiegate, e soprattutto i valori di riferimento. E' necessaria quindi una importante opera di informazione/educazione perché solo l'omogeneizzazione dei risultati forniti consentirà comportamenti clinici adeguati nella gestione del paziente diabetico.

1. Diabetes Care 2006; 29:Suppl 1

LA BATTERIURIA NEL PAZIENTE DIABETICO AMBULATORIALE: FREQUENZA E FATTORI DI RISCHIO

D-17

F. Pisaturo,*E. Matteucci,*A. Troilo,*M. Cecchi,*O. Giampietro, E. Bianchi, P. Turini, A. Friso, C. Pacia, I. Tedesco, P. Leonetti
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1 AOUP (Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana).*Ambulatorio per le Malattie Metaboliche Clinica Medica 2 AOUP.

Scopo del lavoro. Abbiamo cercato di determinare la frequenza di batteriuria asintomatica (ASB)nei pazienti diabetici che afferiscono all'Ambulatorio per le Malattie Metaboliche del nostro ospedale. La prevalenza della ASB nel diabete mellito non è nota con certezza. Abbiamo precedentemente osservato una frequenza di ASB simile nelle donne ospedalizzate, diabetiche e non, ed un'associazione tra controllo metabolico e rischio di ASB.
Materiali e metodi. Abbiamo indagato la frequenza di batteriuria significativa (>100000 cfu/m L) in pazienti ambulatoriali con diabete mellito di tipo 1(T1D) e di tipo 2 (T2D) ed in soggetti non diabetici (controlli sani e pazienti dislipidemici ambulatoriali. Sono stati esaminati 64 T1D (37F/27M, età 49±13 aa, durata di malattia 23 ± 15 aa), 447 T2D (217F/230M, età 66±10 aa, durata di malattia 12 ± 10 aa) e 96 controlli non diabetici (39F/57M, 57 ± 12 a). Nella stessa giornata erano determinati: emocromo, glicemia a digiuno (FPG), HbA1c, clearance della creatinina, albuminuria (UAE, µg/mg creatinina). La frequenza di batteriuria significativa era maggiore nei T1D (12%, 8 su 64) che nei T2D (9,8%, 44 su 447, $p<0.05$), ma la differenza vs controlli non diabetici (5,2%) non raggiungeva la significatività statistica (0.07). I 52 diabetici con batteriuria differivano dagli altri 442 diabetici per sesso (44F/8M vs 197F/245M, $p<0.001$), per FPG (10.1 ± 3.5 vs 9.2 ± 2.9 mmol/L, $p<0.05$), per HbA1c (7.8 ± 1.1 vs 7.5 ± 1.3 %, $p<0.05$)e per UAE (mediana 7.6 vs 13.8 µg /mg, $p<0.01$). I sintomi riferiti non presentavano alcuna associazione con la presenza di batteriuria significativa.
In conclusione, la frequenza di ASB nei pazienti diabetici ambulatoriali sembrerebbe simile a quella dei soggetti non diabetici. E' confermata l'associazione tra un controllo metabolico scadente e la presenza di batteriuria significativa (causa o conseguenza?). Per tale motivo, sebbene il contributo dell'ASB alla morbilità a breve e a lungo termine resti ignota, suggeriamo di riconsiderare la raccomandazione di trattare solo le infezioni sintomatiche.

UTILITA' DEI MARCATORI BIOCHIMICI DI RIMODELLAMENTO OSSEO IN PAZIENTI CON MORBO CELIACO IN ETA' ADULTA

D-18

G. Bonetti*, F. Pagani*, F. Panzarotto, M. Panteghini*****
*Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, U.O. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Spedali Civili, Brescia; **Dipartimento di Medicina, U.S.D. di Gastoenterologia, Spedali Civili, Brescia; ***Dipartimento di Scienze Cliniche "Luigi Sacco", U.O. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Università degli Studi, Milano

Scopo del lavoro. L'alterazione del rimodellamento fisiologico del tessuto osseo si presenta con elevata frequenza nei pazienti con diagnosi di morbo celiaco in età adulta. Scopo di questo studio è stato di valutare in un gruppo di questi pazienti l'utilizzo dei marcatori biochimici di rimodellamento osseo (MBRO).
Materiali e metodi. I marcatori di osteoformazione fosfatasi alcalina ossea (BALP) e osteocalcina (OC), e di riassorbimento osseo desossipiridinolina libera urinaria (U-DPD) e telopeptide N-terminale del collagene I urinario (U-NTX-I), sono stati determinati al momento della diagnosi di celiachia e dopo un anno di dieta priva di glutine. Sono stati inclusi 139 pazienti, 37 maschi (età 20-58 anni) e 102 femmine (età 17-72 anni). Al momento della diagnosi di celiachia, 53 pazienti sono stati sottoposti a mineralometria ossea computerizzata (MOC) a livello del collo del femore. Il valore di densitometria ossea (BMD) era espresso come T score (numero di DS di cui il BMD del soggetto differisce dal picco di massa ossea di una popolazione di riferimento paragonabile per sesso).
Risultati. In base ai criteri densitometrici dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, tre pazienti venivano identificati alla MOC come osteoporotici, 26 osteopenici e 24 presentavano normale massa ossea. Tutti i pazienti osteoporotici avevano valori dei MBRO superiori al limite superiore di riferimento (LSR); nei pazienti osteopenici e senza alterazioni ossee alla MOC si evidenziavano valori elevati di BALP nel 27% e 33%, di OC nel 69% e 71%, di U-DPD nel 72% e 58%, di U-NTX-I nel 50% e 30% dei casi, rispettivamente. Nel gruppo di pazienti sottoposti a dieta priva di glutine per un anno (n=126) si evidenziavano significative ($p<0.001$) riduzioni delle concentrazioni di tutti i MBRO misurati rispetto ai valori basali. 43 (34%) pazienti dimostravano, dopo un anno di dieta, valori dei MBRO ancora superiori al LSR.
Discussione e Conclusioni. La determinazione dei MBRO al momento della diagnosi di celiachia può suggerire la presenza di un aumentato riassorbimento osseo anche in pazienti con MOC negativa. La significativa riduzione delle concentrazioni di MBRO dopo un anno di dieta aglutinata indica l'efficacia della stessa nel controllare la patologia ossea. D'altra parte la persistenza di valori elevati di MBRO dopo la dieta suggerisce la necessità di una rivalutazione al fine di un'eventuale terapia farmacologica anti-riassorbitiva.

ANTICIPAZIONE DIAGNOSTICA DELLA SEPSI

D-19

R. Baricchi°, M. Maconi°, M. Ferrini*, E. Gabbi§, W.Bottari+, A. Parisoli°, M. Brini°
°Dipartimento di Patologia Clinica, *Dipartimento di Emergenza-Urgenza, §Dipartimento Medico II°, +Dipartimento Area Critica

Scopo del lavoro. 1) Costruzione di profili di richiesta per esami di laboratorio nel sospetto clinico di sepsi inserendo nuovi test ad elevato impatto diagnostico e reinterpretando i test già in uso alla luce delle evidenze scientifiche 2) Facilitare l'interpretazione dei test di laboratorio nel sospetto clinico di sepsi usando i metodi propri della medicina basata sulle evidenze (Likelihood Ratio e Nomogramma di Fagan)
Materiali e metodi. 1) ricerca su banche dati biomediche delle migliori evidenze disponibili sull'argomento 2) costituzione di un panel multidisciplinare e multiprofessionale di esperti per la definizione di un profilo diagnostico (in vitro) dedicato e di un comportamento clinico (in acuto) standardizzato nel sospetto clinico di sepsi.
Risultati. 1) Costituzione di un panel misto di esperti (clinici e patologi) composto da 12 componenti2) Organizzazione di 4 incontri formativi rivolti ai clinici volti alla interpretazione evidence-based dei dati di laboratorio nelle unità operative più direttamente coinvolte
Discussione e conclusioni. La sepsi severa e lo shock settico sono cause importanti di morte in ospedale e nelle unità di terapia intensiva in particolare. Sebbene le nostre conoscenze sulla patogenesi della infiammazione e della sepsi siano migliorate ciò non si è tradotto fino ad ora in un beneficio clinico per i pazienti. E' possibile usare nell'approccio diagnostico della sepsi il dosaggio di biomarkers usando tests immunoenzimatici che forniscono il risultato in poche (2-3)ore. Ciò potrebbe portare ad una anticipazione diagnostica e, dopo, anche terapeutica con possibili importanti ricadute sull'outcome dei pazienti.

VALUTAZIONE DELL'APPROPRIATEZZA DELLE RICHIESTE DI DETERMINAZIONE DEGLI ACIDI BILIARI

D-20

L. Terzuoli*, R. Pagani*, C. Ulivieri#, S. Petralia#, B. Porcelli*
* Dipartimento di Medicina Interna, Scienze Endocrino-Metaboliche e Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena
#Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

Scopo del lavoro. Al fine di valutare la necessità di azioni correttive per quello che riguarda l'appropriatezza nelle richieste di determinazione degli acidi biliari, abbiamo analizzato le richieste pervenute al nostro Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche negli ultimi quattro mesi.
Materiali e Metodi. I pazienti, sia interni (suddivisi per reparto di provenienza) che esterni all'Ospedale, sono 122 femmine (età 50 ± 7,5) e 98 maschi (età 54 ± 19,7).
Risultati. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 1.
Discussione e Conclusioni. I risultati registrati sembrerebbero indicare la necessità di un miglioramento dell'appropriatezza della richiesta. E' necessario attuare un contatto più stretto e continuo con il mondo clinico, eventualmente anche con strumenti quali le linee guida, per un buona razionalizzazione delle risorse.

Tabella 1. Numero di richieste di acidi biliari suddivise per reparto e per valori normali (< 10 mmoli/l) o patologici (> 10 mmoli/l).

Provenienza	Casi totali 220		Acidi biliari < 10 mmoli/l 167 (76%)		Acidi biliari > 10 mmoli/l 55 (24%)	
	n. casi	%	n. casi	%	n. casi	%
Malattie Infettive	81	36,8	50	22,5	31	14,5
Clinica Medica	14	6,3	7	3,1	7	3,2
Dermatologia	8	3,6	8	3,4	0	0
Pediatria	3	1,3	3	1,2	0	0
Urologia	2	0,9	2	0,9	0	0
Altri reparti	34	15,4	24	10,7	10	4,6
Esterni	78	35,4	75	33,9	3	1,4

VALUTAZIONE DEL GRADO DI FERTILITA' MASCHILE NELLA POPOLAZIONE BRESCIANA AFFERENTE ALL'AZIENDA OSPEDALIERA DI DESENZANO D/G

D-21

A. Pesenti, S. Mitraglia, B. Milanesi
AOD Desenzano s/G – Laboratorio Analisi Ospedale di Manerbio

Scopo: Valutazione del grado di fertilità in pazienti in età compresa tra i 20 e 40 anni, sottoposti all'esame del liquido seminale dal 1 Gennaio 2005 al 30 Giugno 2006 (522 campioni); comparazione dei risultati ottenuti con i dati forniti dalla WHO.
Materiali: liquido seminale consegnato in laboratorio entro un'ora dalla raccolta, contenitore sterile, pipetta pasteur da 10 µl, camera di makler, indicatori di pH, indicatori di volume, vetrini precolorati per morfologia (Testsimplets –Boehringer Mannheim).
Metodo: esecuzione dello spermiogramma mediante valutazione di parametri preanalitici (durata dell'astinenza e orario di raccolta) ed analitici quali colore, aspetto, viscosità, volume, pH, tempo di fluidificazione, concentrazione nemaspermica, motilità alla prima ora, morfologia, presenza di elementi figurati (emazie, leucociti, cellule immature) e batteri. L'intera esecuzione dell'esame è a carico del Laureato responsabile. Per alcuni parametri, come la motilità complessiva e la valutazione dei diversi tipi di progressività degli spermatozoi, viene eseguita alla prima ora esatta dalla raccolta del campione un'osservazione microscopica che permette di associare al campione una diagnosi di normocinesi/ipocinesi e/o astenospermia.
Risultati: i valori medi ottenuti dall'analisi statistica per alcuni fra i parametri analizzati sono i seguenti: volume 2.88 ml, concentrazione nemaspermica 35.16 milioni/ml, mobilità alla 1° ora 42.01 %, mobilità progressiva rettilinea alla 1° ora 16.73 %, forme patologiche 62.74 %.
Discussione: la quasi totalità dei pazienti sottoposti all'esame presenta un referto con risultati patologici: questo dimostra una buona cernita della Medicina di base, evitando così disagi ai pazienti e sprechi di risorse alla Sanità. Paragonando i dati statistici ottenuti con i valori di riferimento stabiliti dal WHO si deduce che: il volume dell'eiaculato e la concentrazione nemaspermica rientrano nella norma, la mobilità alla 1° ora e la percentuale di spermatozoi mobili progressivi rettilinei sono sotto la norma, le forme patologiche risultano essere circa il doppio di quelle fisiologiche. Si conclude che la fertilità dei soggetti afferenti all'Azienda Ospedaliera di Desenzano D/G è compromessa non dalla quantità degli spermatozoi, ma dalla loro qualità: gli spermatozoi presentano spesso difetti strutturali (anomalie della testa, anomalie del segmento medio, anomalie della coda, forme amorfe) o difetti di mobilità (mobili lenti, mobili circolari o immobili).

D-22

CONFRONTO DI PSA TOTALE E F/T PSA RATIO MISURATI CON TECNOLOGIA ECLIA NELLA VALUTAZIONE DI PAZIENTI CON CANCRO (CP) ED IPERTROFIA PROSTATICA (IPB)

E. Esposito *, S.Rao*, F.Giangrasso* , S.Amato*, M.D'Anna*, A.Sabella*, E.Lino, E.Gange**, I.Menozzi***
*Laboratorio Analisi Cliniche, ** U.O. Urologia ,Ospedale Civico ,A.R.N.A.S.Civico-Ascoli-Di Cristina, Palermo.

Introduzione: Il PSA è utilizzato di routine nei pazienti con segni clinici di patologia prostatica, ma la sua scarsa specificità ne limita fortemente l'utilità , con la conseguenza di un incremento nella prescrizione di biopsie prostatiche, spesso non necessarie. E' stato dimostrato da numerosi autori come l'uso del rapporto % (Ratio) PSA libero/totale, più basso nel cancro della prostata (CP) rispetto all'ipertrofia prostatica (IPB), migliori l'accuratezza diagnostica, soprattutto per concentrazioni di PSA totale (PSAT) compresi fra 4 e 10 ng/ml.
Scopo del lavoro. Poichè metodi diversi di determinazione possono fornire risultati diversi, sono stati esaminati i risultati ottenuti per PSAT e per Ratio (PSAR) con il metodo in uso nel nostro ospedale in pazienti affetti da ACP e IPB.
Materiali e metodi:Sono stati esaminati retrospettivamente PSAT e PSAR misurati in 93 pazienti (55 = IPB e 38 =ACP) sottoposti a biopsia in DH, con PSAT > 4 ng/ml e DRE positiva. PSAT e libero sono stati misurati pre-biopsia con Modular E170 (ECLIA), (Roche, Basel, Suisse) L'analisi statistica dei dati è stata effettuata tramite Analisi ROC.
Risultati:I valori di AUC nelle curve ROC relative a tutti i pazienti (gruppo A), ai pazienti con PSAT compreso tra 4 - 20 ng/ml (gruppo B) e tra 4 e 10 ng/ml (gruppo C) sono risultati rispettivamente: PSAT= 0.737, 0.585 e 0.516; PSAR= 0.661, 0.750 e 0780. In base ai nostri dati, ad una Sensibilità del 90% per il PSA corrispondono, nei vari gruppi , i seguenti valori di Specificità: 27.2% in A (cut-off 8.1), 2.2 % in B (cut-off 4.4), 3.7% in C(cut-off 4.3); per la Ratio i valori di Specificità correlati al 90% di Sensibilità sono risultati pari a: 31% in A
(cut-off 18), 56.8% in B (cut-off 12), 65%in C (cut-off 11.5).
Discussione e conclusioni: La PSAR è più efficace della PSAT nel discriminare fra CP e IPB; un cut-off di 11.5% (per valori d PSA tra 4 e 10 ng/L) avrebbe evitato 15/32 biopsie inutili.

D-23

MONITORAGGIO DEI LIVELLI DI SIROLIMUS IN PAZIENTI CON TRAPIANTO RENALE IN TERAPIA ASSOCIATA CON CICLOSPORINA, TACROLIMUS E MICOFENOLATO

E. Esposito*, A. Barbaro*, G. Tusa*, S. Passanante*, A. Cane*, M.G. Consolo*, V. Sparacino, I. Menozzi***
* Laboratorio Analisi Cliniche, ** U.O. Nefrologia II con Trapianto Renale,Ospedale Civico,
A.R.N.A.S.Civico-Ascoli-Di Cristina, Palermo

Introduzione: Il Sirolimus è un farmaco immunosoppressore di recente introduzione che migliora la sopravvivenza del trapianto di rene; una volta raggiunto lo steady-state (7 giorni) è raccomandato il monitoraggio dei livelli di pre-dose , che possono variare anche in relazione alla contemporanea assunzione di altri farmaci.
Scopo del lavoro: Scopo del lavoro è valutare la correlazione fra dose somministrata e livello ematico del farmaco, nelle associazioni terapeutiche del Sirolimus (SRL) con Ciclosporina (Cya), FK506 (FK) o micofen olato (MMF) , e dei valori target di pre-dose che consentano di ridurre il rischio di rigetto acuto del trapianto e la comparsa di effetti tossici.
Materiali e metodi: Sono stati studiati retrospettivamente 60 pazienti sottoposti a trapianto renale divisi nei seguenti 3 gruppi : 1(n=26): SRL+ Cya; 2 (n=21):SRL + FK; 3 (n=13): SRL+MMF. L'SRL è stato misurato con tecnologia MEIA (IMX, Abbott, Chicago) ed il monitoraggio per potenziale crisi di rigetto mediante confronto di variazioni seriate di creatininemia rispetto all'RCV (sec Harris; CVi calcolato in post-trapianto renale); la creatinina è stata misurata con LX 20 Beckman Coulter. Sono stati eseguiti i seguenti test statistici: Correlazione di Pearson, Regressione di Passing-Bablock, test di Kruskall-Wallis.
Risultati:La correlazione fra dose di SRL e livelli ematici è risultata scarsa (r= 0,17) ed i livelli target nei 3 gruppi sono risultati significativamente diversi (p=0,013), più elevati n el 1° (10.68 ng/ml) e più bassi nel 2°(6,98ng/ml) ; nel 3°gruppo è risultato pari a 9.36 ng/ml. La differenza % fra dosaggi in serie di creatinina per tutti i pazienti è stata < RCV (p<0.05). Il CVa totale per SRL è risultato (per valori bassi, medi ed alti) pari a 13%,12,4% e 10%; Il CVa di riferimento, calcolato in base alla variabilità biologica, è 17.76%.
Discussione e conclusioni: Il TDM è necessario per individuare, in ciascun paziente,le concentrazioni ottimali di un farmaco somministrato nell'ambito di strategie terapeutiche spesso personalizzate. In una terapia con SRL associato ad inibitori della calcineurina, la conoscenza di valori target di pre-dose differenziati ed un monitoraggio periodico, effettuato con criteri di accuratezza ed appropriatezza, consentono di migliorare l'outcome clinico dei pazienti trapiantati.

UTILIZZO DELLO STRUMENTO AGREE NELLA VALUTAZIONE DI UNA LINEA GUIDA: NOSTRA ESPERIENZA

D-24

R. Faricelli, S. Esposito, I. Cataldo.
Laboratorio di Patologia Clinica I, Ospedale Clinicizzato SS. Annunziata, Chieti

Scopo del lavoro: lo strumento AGREE fornisce una valutazione della validità di una linea guida nell'ottenimento degli obiettivi auspicati. Nel nostro lavoro abbiamo applicato lo strumento AGREE nel valutare due linee guida proposte in un corso ECM aziendale sull'Evidence Based Medicine.La prima linea guida è quella sulle malattie autoimmuni , la seconda sulle malattie cardiovascolari.
Materiali e Metodi: lo strumento AGREE consiste di 23 criteri (item) suddivisi in 6 aree.Gli item 1-3 riguardano obiettivi e motivazione,4-7 il coinvolgimento delle parti in causa, 8-14 il rigore della elaborazione,15-18 la chiarezza e presentazione, 19-21 l'applicabilità, gli ultimi due 22-23 all'indipendenza editoriale.Si calcolano dei punteggi (score da 4 a1) per ogni singola area , sommando poi gli score dei singoli item che la compongono e standardizzando il totale come percentuale del punteggio massimo possibile per quell'area.Alla fine dello strumento di valutazione è presente un giudizio complessivo sulla linea guida che può essere "Si ,fortemente raccomandata", "Si raccomandata (con riserva)," Non raccomandata ", "Non so". Abbiamo considerato 4 gruppi di valutatori per ogni linea guida.
Risultati: I primi quattro gruppi di valutatori hanno applicato lo strumento AGREE sulla linea guida per le malattie autoimmuni per l'item 1-3 si è ottenuto il 91.6%, per il 4-7 il 54,1%, per l'8-14 il 57% , per il 15-18 il 83,3% ,per il 19-21 il 38%,per il 22-23 il 29%.Tre dei quattro gruppi valutatori hanno dato lo stesso giudizio complessivo"si,fortemente raccomandata", l'altro "si,raccomandata(con riserva)". Gli altri quattro gruppi di valutatori ha applicato AGREE alla linea guida per le malattie cardiovascolari si è ottenuto per l'item 1-3 l' l'88 %, per l' item 4-7 il 58%, per l' item 8-14 il 54 %, per l' item 15-18, 75%, per l'item 18-21 , 50%, per l' item 22-23, 50%. Tutti e due i gruppi hanno dato lo stesso giudizio complessivo.
Tre dei quattro gruppi valutatori hanno dato lo stesso giudizio complessivo"si,raccomandata(con riserva)", l'altro "si,fortemente raccomandata"
Conclusioni: Le due linee guida considerate hanno una buona percentuale su tutti gli item dell'AGREE. Da segnalare positivamente il giudizio complessivo unanime dei quattro gruppi di valutatori.La valutazione di una linea guida, da parte di diversi valutatori, dà l'indicazione dell'efficacia e dell'efficienza del procedimento e se la sua applicazione porta ad un outcome.

Bibliografia:
Lohr KN,Field MJ.A provisional instrument for assessing clinical practice guideline.In : Field MJ, Lohr KN.Guideline for clinical practice. From development to use. Washington D.C. National Academy Press, 1992.

PERFORMANCE DELLA CISTATINA C QUALE MARKER DELLA FUNZIONALITA' RENALE IN PAZIENTI CON DIABETE MELLITO DI TIPO I E DI TIPO II

E-01

N. Landi, G. Ciabatti
Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche Cisanello, Azienda Ospedale Università Pisa

Scopo del lavoro: Confrontare la cistatina C , la creatinina, e la clearance della creatinina quali marcatori di elezione della funzionalità renale, in 90 soggetti con diabete mellito di tipo 1 e diabete mellito di tipo 2
Materiali e metodi: Cistatina C: Test eseguiti su nefelometro BN II Reattivo N Latex Cystatin-C, Dade/ Behring. Creatinina sierica: saggio colorimetrico-cinetico Roche eseguito su strumento Modular. Clearence Creatinina: formula di Cockcroft-Gault. I-GFR: clearance plasmatica dello iohexolo (Omnipaque 300, Nycomed): metodica sperimentale eseguita dal Dipartimento di Diabetologia di Cisanello (Pisa).
Risultati: Abbiamo determinato la cistatina C, la creatinina, e la clearance della creatinina in 90 pazienti diabetici. Il gruppo includeva 54 pazienti con Diabete Mellito di tipo 1 e 36 soggetti con Diabete Mellito di tipo 2, con funzione renale compresa in un ampio intervallo, dalla normalità alla riduzione severa. Su ogni paziente è stato misurato il I-GFR tramite la clearance plasmatica dello iohexolo. I risultati sono stati studiati tramite test di regressione lineare tra i markers di funzione renale da noi analizzati in relazione al I-GFR. Abbiamo calcolato il reciproco della cistatina C sierica e della creatinina sierica, prima di procedere all'analisi di regressione. Tale procedura consente di linearizzare la relazione curvilinea tra filtrato glomerulare I-GFR e markers di funzione renale. I dati, calcolando il coefficiente di regressione lineare, hanno evidenziato che la regressione più stretta si è ottenuta tra I-GFR e cistatina C rispetto alla clearance della creatinina e alla creatinina sierica. Nei soggetti con normale funzione renale le correlazioni tra I-GFR e creatinina, I-GFR e clearance della creatina si perdono, mentre rimane significativa la regressione tra I-GFR e cistatina C.
Conclusioni: Nel nostro studio la concentrazione sierica della cistatina C'è uno strumento diagnostico più efficace della creatinemia e della stima della clearance della creatinina. La cistatina C si conferma un marker sierico alternativo e più accurato della creatinina per individuare precocemente, nei soggetti con diabete mellito, coloro che hanno sviluppato una iniziale riduzione della funzione renale.

GLI ACIDI BILIARI NELLA COLESTASI INTRAEPATICA IN GRAVIDANZA (IPC)

E-02

M. Morandini, F. Falcomer, P. Cappelletti
Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, AOSMA, Pordenone

Premessa: La IPC è una patologia del terzo trimestre che si presenta con prurito e malessere, con frequenze 0,1% negli USA, 1% nei paesi europei e 10% in Cile. IPC determina aumento dell'incidenza di patologie fetali: sindrome da difficoltà respiratoria, nascite premature (19-60%) con passaggio transplacentare di meconio (27%), mortalità fetale (1%-7%). Non tutti gli Autori concordano sulla correlazione tra complicanze fetali e livelli elevati di acidi biliari nel siero materno (> 40 micromoli/L): la morte intrauterina, però, avverrebbe nel 11%-20% nelle pazienti non trattate.
Scopo: Non vi sono metodiche diagnostiche strumentali unanimemente riconosciute per la sorveglianza fetale nelle donne con IPC, tranne la valutazione della maturità polmonare del feto per l'eventuale induzione del parto. Il test di laboratorio di scelta nella diagnosi e monitoraggio di IPC sarebbe il dosaggio degli acidi biliari nel siero materno. Abbiamo voluto valutare l'efficienza diagnostica e l'efficacia terapeutica del test nel trattamento delle gravide nella nostra realtà.
Materiali e Metodi: Nell'arco di 32 mesi e su un totale di 2662 parti, sono stati richiesti 366 dosaggi di acidi biliari per un totale di 130 donne. La determinazione degli acidi biliari su siero è stata eseguita con metodo enzimatico-colorimetrico sull'analizzatore di biochimica ADVIA 1650 Bayer (intervalli di riferimento 0 – 8 micromoli/L).
Risultati: Su 130 gravide con sintomatologia compatibile, in 69 è stata diagnosticata IPC. In 11 delle 69 donne in esame sono stati rilevati valori di acidi biliari superiori a 40 micromoli/L. Il trattamento delle donne con valori inferiori ai livelli decisionali è di norma effettuato con la sorveglianza ed eventuale trattamento medico, mentre nelle pazienti con valori superiori a 40 micromoli/L 7 sono state trattate con terapia medica, 4 hanno subito un parto cesareo e in 2 casi si è avuta morte intrauterina. Non siamo stati in grado di indagare sullo stato fisiologico dei nati.
Conclusioni: La percentuale di IPC nella nostra realtà (2.6%) è superiore a quella rilevata in altri paesi europei ed in altri studi italiani (1.5%). Delle donne con valori di acidi biliari superiori a 40 micromoli/L, associati ad un elevato rischio di danno fetale, 6 sono gravide attempate e 4 sono extracomunitarie. Ciò potrebbe spiegare l'aumentata incidenza. Circa il 50% ha avuto complicanze gravi (parto indotto e/o morte intrauterina), confermando anche nella nostra limitata casistica l'importanza clinica del test degli acidi biliari nella diagnosi e nel monitoraggio di IPC.

STUDIO RETROSPETTIVO DELLE ALTERAZIONI QUALITATIVE DEL PROFILO PROTEICO CON PARTICOLARE RIFERIMENTO ALLE GAMMAPATIE MONOCLONALI

E-03

S. Mingardo, A. Casarotti, A. Tinello, L. Fornasiero, F. Manoni
Medicina di laboratorio ULSS 17 Monselice PD

Scopo del lavoro. Al fine di verificare l'eventuale esistenza di indici predittivi nell'evoluzione da MGUS (gammapatia monoclonale di significato indeterminato) a mieloma sono stati selezionati pazienti nei quali è stata riscontrata la presenza di una componente monoclonale (CM) monitorando l'evoluzione della patologia nell'arco temporale di un decennio (1996-2006). Il bacino d'utenza della nostra ULSS è di 182068 abitanti. Per ciascun paziente sono stati valutati i seguenti parametri biochimici e immunologici: IgA, IgG, IgM, creatinina, calcio, VES, β2-microglobulina, proteina di Bence Jones (PBJ) e CM. Si è voluto inoltre effettuare uno studio statistico riferito al 2005, per val utare la prevalenza della gammapatia monoclonale e la sua distribuzione nelle classi immunoglobuliniche interessate.
Materiali e metodi. Lo studio ha riguardato 61 pazienti in archivio. L'elettroforesi capillare (EFC) per lo studio quali e quantitativo del profilo proteico è stata eseguita con il sistema automatico CAPILLARIS (SEBIA). L'immunofissazione (IFE) per la tipizzazione delle componenti monoclonali e per la ricerca della PBJ, è stata condotta con il sistema semiautomatico HHYDRASIS (SEBIA). I parametri biochimici sono stati determinati sull'analizzatore automatico AU2700 (OLYMPUS), la VES su TEST1 (ALIFAX).
Risultati. I dati biochimici e immunologici dei 61 pazienti osservati per 10 anni evidenziano 12 casi di evoluzione delle MGUS in mieloma (7 casi nei primi 5 anni), con 5 pazienti deceduti (al 4°, al 7° e al 10° anno). Nel 2005 sono state eseguite 38287 EFC e 1267 IFE per alterazioni qualitative del profilo proteico. Il 50.3% delle 1267 IFE ha evidenziato la presenza di CM, corrispondente a ~ 1.7% delle EFC eseguite. La distribuzione delle CM per classi evidenzia principalmente: IgG (62.9%), IgM (14.6%) IgA (10.7%).
Discussione e conclusioni. La trasformazione delle MGUS in mieloma, nel decennio di riferimento, è del 19.6% (11.4% nei primi 5 anni) in accordo con gli studi a lungo termine di Robert A. Kyle (1). Inoltre non sono stati evidenziati significativi indici predittivi di evoluzione maligna delle MGUS, ancora in accordo con Kyle. Contrariamente invece a quanto sostenuto da Kyle sulla definizione del MGUS relativamente alla quantizzazione della CM, dei 12 casi di mieloma (uno micromolecolare) diagnosticati solo in 3 si riscontravano concentrazioni di CM > 30 g/l. Nella nostra esperienza risulta necessario monitorare a lungo termine le MGUS vista la prevalenza del 19.6% dell'evoluzione in mieloma riscontrata nella nostra area.

Bibliografia. (1) Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. A l ong-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undertermined significance. N Engl J Med 2002;346:564-569

ALT ALLE AST???

E-04

L. Marchetti, S. Pastori, G. Candelieri, L. Annoni
A.O. Garbagnate Milanese

Scopo del lavoro: verificare se sia opportuno continuare a chiedere in coppia la determinazione delle Transaminasi Aspartato Amino Transferasi ed Alanina Amino Transferasi per i donatori di sangue, o se sia sufficiente richiedere la determinazione delle sole ALT ed eventualmente delle AST come Test riflesso.
Materiali e metodi: sono stati estratti i dati relativi a tre gruppi di pazienti dal 1° di gennaio 2006 al 31/07/2006 (3892 donatori di sangue/plasma; 3619 pazienti afferenti al reparto di chirurgia; 2061 pazienti afferenti al reparto di medicina).le determinazioni sono state effettuate su strumento Modular della ditta Roche con metodica IFCC con aggiunta di Piridossal-fosfato.
Risultati: di tutti i pazienti valutati sono stati evidenziati i dati superiori all'intervallo di riferimento sia che evidenziassero un valore patologico per entrambe le tra nsaminasi sia per una sola delle due. Relativamente ai donatori di sangue 132 campioni hanno evidenziato una positività per le transaminasi di cui 21 (che rappresentano lo 0.02% del totale dei donatori) un valore patologico per le AST con un valore normale per le ALT. Il valore maggiormente alterato evidenziava 131 U/L per le AST contro un valore di ALT di 35 U/L. Per i pazienti delle chirurgie si sono evidenziati valori patologici per 315 pazienti con 59 pazienti con le AST positive e le ALT nella normalità (che rappresentano lo 1.6% del totale dei pazienti). Il valore maggiormente alterato evidenziava 152 U/L per le AST contro un valore di ALT di 29 U/L. L'ultimo gruppo ha evidenziato 296 pazienti con valori alterati, di cui 67 avevano le AST positive e le ALT negative (che rappresentano lo 3.3% del totale dei pazienti) Il valore maggiormente alterato evidenziava 404 U/L per le AST contro un valore di ALT di 46 U/L.
Discussione e conclusioni: i parametri eviden ziati da un punto di vista puramente numerico sembrerebbero escludere la possibilità di disaccoppiare tali analiti in quanto entrambi utili all'inquadramento del paziente per una donazione di sangue/plasma. In realtà una analisi più accurata dei dati consente di verificare che dei 21 donatori con AST alterate 14 evidenziavano un indice emolitico tale da suggerire la ripetizione dell'analisi su un nuovo campione; dei rimanenti 7 (con valori di AST di 51, 52, 65, 65, 70, 71 e 71) due avevano svolto una attività fisica intensa il giorno precedente alla donazione (confermata da un moderato incremento anche delle CPK), una aveva un valore di 51 nell'ambito della normalità tenendo conto della variabilità analitica, e un quarto campione con un valore di 52 ha evidenziato nel corso del tempo un valore costantemente lievemente superiore all'intervallo di riferimento. Di questi 7 donatori 5hanno comunque effettuato la donazione.
Quindi ALT alle AST !!!

INTRAOPERATIVE TESTING FOR PARATHYROID HORMONE

E-05

G.V. Melzi d'Eril 1, A. Barassi 1, C. Impellizzeri 1, W. Porreca 1, M.L. Biondi 1, D. Gobatti 2, L. De Pasquale 2, A. Bastagli 2
1 Laboratorio di Analisi e 2 Unità di Chirurgia Endocrina, Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Ospedale San Paolo, Università degli Studi di Milano

Introduction. Intraoperative PTH (iPTH) testing has proven to be an accurate method to verify the removal of all pathological parathyroid tissue in primary hyperparathyroidism. Conditions such as timing and number of samples are not clearly defined, then the exact criteria that best indicate a surgical cure remain to be perfected. This paper reports the degree of accuracy of our protocol with only two iPTH tests performed in the Central Laboratory of the Hospital in patients with sporadic primary hyperpathyroidism who underwent parathyroidectomy.
Patients and methods. Sixty patien ts underwent parathyroidectomy with iPTH. Blood was collected before skin incision (t-0) and 10 min (t-10) after parathyroidectomy, respectively. The removal of the hyperfunctioning parathyroid glands was considered effective when PTH drop was > 50% from basal value and further exploration is unnecessary. When t-10 PTH did not decrease, another sample of blood was collected after the results, generally 30 min after parathyroidectomy (t-30).The samples were sent to the Central Laboratory and analysed simultaneously. The electrochemiluminescence immunoassay "ECLIA" (intact-PTH; Roche Diagnostics) performed on an Elecsys-2010 analyzer was used for PTH measurement. The reference range of the assay was 15-65 pg/mL and the total imprecision was 5.9% at a PTH concentration of 1.8 pg/mL and 4.3% at 11.7 pg/mL, respectively. The definition of operative success is eucalcemia for 6 months or longer following parathyroidectomy. *Results*. At t-10 the procedure had 1 (1.5%) false posit ive, 5 (8%) false negatives, 8 (13%) true negatives and 46 (77%) true positives. Considering the decrease at t-30 in place of that at t-10 for the patients without the PTH decrease to the cure level, the procedure had 1 (1.5%) false positive (reoperated successful after 3 months), 0 false negative, 8 (13%) true negatives and 51 (85%) true positives. The presented intraoperative criterion correctly predicted postoperative calcium levels in 59 of 60 patients with a sensitivity of 100%, a specificity of 89%, a positive predictive value of 98%, a negative predictive value of 100% and an overall accuracy of 98%.
Discussion and conclusions. In Hospitals with the Central Laboratory in close proximity to the surgical site and where multiple surgery are seldom performed consecutively in the same day with no more than 2-3 operative sessions a month, the transport time (5 min) may be acceptable and the suggested procedure with only two iPTH tests seems the most appropriate for the good quality and the low cost.

NT-PROBNP MEASUREMENTS IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION AND MAINTENANCE OF SINUS RHYTHM BEFORE AND AFTER CARDIOVERSION

E-06

G.V. Melzi d'Eril 1, W. Porreca 2, M.L. Biondi 2, C. Impellizzeri 2, S. Belletti 1, F. Tundo 1, F. Lombardi 1, A. Barassi 1, G. Merlini 3
1 Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Università di Milano, Milano; 2 Laboratorio di Analisi Ospedale San Paolo, Milano; 3Laboratorio di Biotecnologie, IRCCS S. Matteo, Dipartimento di Biochimica, Università di Pavia, Pavia.

Introduction. The 108-amino acid prohormone of the natriuretic peptide type B, synthesized primarily by the left ventricle of the heart, is cleaved during secretion into a N-terminal fragment, NT-proBNP (1-76) and physiologically active BNP (77-108). NT-proBNP has proven more amenable to clinical measurement in specimens due to its substantially longer in vivo half-life and in vitro stability compared to BNP. Stretch of atr ial myocites and altered ventricular filling pattern associated with atrial fibrillation (AF) may represent an adequate stimulus for BNP secretion.
Aim. We therefore evaluated whether recovery of sinus rhythm and normalization of atrial function could affect BNP values.
Material and methods. We measured with an electrochemiluminescent assay (Elecsys, proBNP, Roche Diagnostics) serum NT-proBNP in 30 patients (21 men, mean age 66+7.3) with preserved left ventricular ejection fraction (LVEF, 61+6%) before and after three weeks of electrical cardioversion (ECV) for persistent AF. Intra-assay (inter-assay) precision for NT-proBNP assay was 3.5% (4.1%) and 2.9% (3.7%) at concentrations of 251 and 805 pg/mL, respectively. The analytical range extended from 5 to 35000 pg/mL.
Results. ECV was successful in all the subjects. In spite of normal LVEF, NT-proBNP values before ECV were above the reference values in all but one patient. The mean NT-proBNP level was significantly higher bef ore than 3 weeks after ECV [633 (150-1715) pg/mL versus 432 (42-1357) pg/mL, P=0.001].
Discussion and conclusions. These data indicate that persistent AF and abnormal atrial dynamics are strongly associated with increased concentrations of NT-proBNP. Recovery of sinus rhythm is accompanied by rapid reduction of NT-proBNP concentrations likely to be due to the restoration of a more physiological hemodynamic function in the atria.

IL FRAMMENTO N-TERMINALE DEL PEPTIDE NATRIURETICO DI TIPO B (NT-proBNP): STABILITA' DEL DOSAGGIO IN CAMPIONI MANTENUTI 48 ORE A TEMPERATURA AMBIENTE

E-07

S. Lazzerini, P. Migliorini, C. Minneci *, C. Martelli, M. Verdelli *, A. Sarti *, G. Tulli **, L. Doni
Laboratorio Chimica Clinica – *Ambulatorio Scompenso Cardiaco - **U.O. Rianimazione e Terapia Intensiva; Nuovo Ospedale San Giovanni di Dio, Firenze

Scopo del lavoro. Lo scopo del nostro studio era quello di valutare la stabilità nel tempo di un dosaggio immunometrico per la determinazione quantitativa del frammento N-terminale del peptide natriuretico di tipo B (NT-proBNP) nel plasma umano, utilizzando il sistema Dimension della ditta Dade Behring. Gli usi più importanti dell'NT-proBNP: diagnosi di esclusione di insufficienza cardiaca in presenza di sintomi sospetti (elevato valore predittivo negativo), diagnosi differenziale tra malattie cardiache/polmonari, prognosi e stratificazione del rischio nelle sindromi coronariche acute e nell'insufficienza cardiaca, monitoraggio dell'efficacia terapeutica.
Materiali e Metodi. Abbiamo selezionato 71 pazienti con scompenso cardiaco (CHF), provenienti sia dal reparto di Rianimazione e Terapia Intensiva che dall'Ambulatorio per lo Scompenso Cardiaco del nostro ospedale; tutti i soggetti partecipanti allo studio hanno dato il loro consenso informato, firmando un apposito modulo da noi predisposto. I campioni sono stati raccolti in provette di plastica contenenti eparina di litio; per ciascun paziente sono state prelevate tre provette: una è stata centrifugata al suo arrivo in laboratorio ed il plasma è stato subito congelato a -80° C, le altre due sono state tenute a temperatura ambiente (senza centrifugazione) rispettivamente per 24 e 48 ore, seguendo poi i passaggi della prima provetta (centrifugazione e congelamento a -80° C del plasma ottenuto).
Risultati. Intervalli dei valori ottenuti (in pg/ml): Prima Provetta 75-27104, Seconda Provetta 86-25300, Terza Provetta 76-26342. Confrontando i dati relativi alla Prima Provetta ed alla Terza, in 39 campioni c'è stato un incremento del valore di NT-proBNP, mentre negli altri 32 c'è stata una diminuzione della concentrazione del frammento in esame. Percentuale media di scarto: tra la Prima Provetta e la Seconda -0,3; tra la Prima e la Terza +1,4; tra la Seconda e la Terza +1,7; le differenze fra le tre provette sono statisticamente non significative.
Discussione e conclusioni. I dati raccolti dimostrano che la concentrazione di NT-pro BNP rimane stabile per almeno 48 ore in campioni non centrifugati e lasciati a temperatura a ambiente. Questa caratteristica facilita sia la raccolta del campione che il suo trasporto fino a l laboratorio, consentendo la successiva determinazione di questo analita particolare riducendo al minimo gli errori nella fase pre-analitica.

NT-proBNP:MARKER DI FUNZIONE CARDIO-RENALE IN PAZIENTI DIALIZZATI

E-08

S. Passanante*, E. Esposito *, V. Greco*, A.Tagliavia *, G. Li Cavoli **, I. Smecca *, A. Stabile*** U. Rotolo **, I. Menozzi ***
*Laboratorio Analisi Cliniche, ** U.O. Nefrologia e Dialisi ,*** U.O. Cardiologia Ospedale Civico A.R.N.A.S.Civico-Ascoli-Di Cristina, Palermo

Introduzione:L'NT-proBNP, marcatore di integrata funzione cardio-renale con elevato valore prognostico in senso negativo per le CVD, è notevolmente incrementato nella disfunzione renale.
Scopo del lavoro: Scopo del lavoro è valutare le concentrazioni del NT-proBNP in un gruppo di pz dializzati in un periodo di osservazione di 2 anni e l'eventuale ruolo di un incremento significativo del marcatore come indicatore prognostico di comorbidità e/o di morte per malattie cardiovascolari.
Materiali e metodi: E' stato eseguito un follow-up su 47 pazienti sottoposti a dialisi, 18 dei quali sono deceduti nel corso dello studio.Il dosaggio del peptide è stato eseguito in ECL (Elecsys 2010 Roche) su campioni di sangue, in pre-dialisi, al t' 0 ed a 30gg, 90gg, 150gg ,sia per il 2003 che per il 2005.Tutti i pz sono stati monitorati mediante misure eco-CG per individuare i casi di LVH nel corso dello studio.L'analisi statistica dei dati è stata eseguita tramite test di Wilcoxon.
Risultati: L'eco-CG ha evidenziato LVH nel 72,4 % dei 47 pz; il v.m. di NT-proBNP dei 29 pz in vita è risultato aumentato nel corso del follow-up;la media di tutti i valori al 2005 (16952 pg/ml)si è discostata significativamente(p = 0,010) da quella del 2003 (7643 pg/ml).In base all'incremento dei valori di NT-proBNP si sono distinti due sottogruppi:a) 19 pz non ad immediato rischio, ovvero stabilizzati, (1 caso di cardiopatia ischemica) con valori elevati di NT-proBNP, ma senza incremento significativo(4171 pg/ml vs 4570 pg/ml ; p=0,49) ; b) 10 p z ad elevato rischio di comorbidità e/o morte (3 con cardiopatia ischemica) con un significativo incremento di NT-proBNP da 13730 pg /ml a 41208 pg/ml(p=0,0039). Nei 18 pz deceduti, (5 con cardiopatia ischemica) il v.m. di NT-proBNP è risultato >13000 pg/ml ("livello decisionale"nei dializzati).
Discussione e conclusioni: I nostri risultati confermano il valore prognostico negativo del peptide anche nei dializzati(che presentano livelli ematici del peptide elevati per l'insufficiente catabolismo),sia in presenza di un livello "decisionale"del marcatore,che per incrementi di concentrazione >150%, che includono l'elevata variabilità biologica del peptide .Riteniamo, pertanto, che l'utilizzo di NT-proBNP debba essere implementato,riconoscendo a questo marcatore,con opportuni parametri di riferimento,un ruolo strategico anche nel monitoraggio dei pz dializzati.

MONITORAGGIO DI NT-proBNP IN GRUPPI DI PAZIENTI NEI DIVERSI STADI DELLA PATOLOGIA RENALE.

E-09

S. Passanante*, E. Esposito*,V. Greco*, G. Candido*, G. Faranda*, G. Li Cavoli, C. Giammarresi **, U. Rotolo** , I. Menozzi ***
*Laboratorio Analisi Cliniche, **U.O.Nefrologia e Dialisi Ospedale Civico,A.R.N.A.S.Civico-Ascoli-Di Cristina, Palermo

Introduzione: L'NT-proBNP è uno dei due peptidi in cui viene scisso il proBNP subito dopo la produzione nel ventricolo sx. Subisce un notevole incremento nella disfunzione renale ed è correlato in modo inverso alla quota del fitrato glomerulare, influenzata dal declino della funzione renale relativo all'età, soprattutto a valori limite del valore normale(60 ml/min/1,73 m2.)
Scopo del lavoro: Lo scopo del lavoro è verificare il ruolo prognostico di NT-proBNP per malattie cardiovascolari in pazienti nelle varie fasi evolutive della malattia renale.
Materiali e metodi:Abbiamo valutato le concentrazioni del peptide in un gruppo di riferimento,composto da 187 adulti (n°131 U n°56 D, età media 42,5 a.) senza segni clinici di patologia renale e/o cardiaca, e in 2 gruppi di pz con patologia renale : 1°) =38 pz ambulatoriali(24 U ,14 D) in stadi avanzati della malattia renale (3°, 4°, 5° stadio) con CVD nel 27,7%, 37,7% e 44,0% dei casi, valutati per la correlazione tra NT-proBNP e GFR a conferma della gravità della patologia renale; 2°)= 29 pz in dialisi (15U,14D) con il 55,1% di CVD. I dosaggi per creatinina, bun, albumina ed NT-pro BNP sono stati effettuati sugli strumenti LX 20 Beckman Coulter ed Elecsys 2010 Roche. Il filtrato glomerulare è stato calcolato con metodo Cockcroft-Gault. L'analisi dei dati è stata eseguita tramite correlazione di Spearman e test di Kruskal-Wallis.
Risultati: La correlazione tra NT-proBNP e GFR è risultata significatva (rs= - 0,54, p=0,0005);nella valutazione di NT-proBNP sono stati risc ontrati i seguenti valori:V.M 48 pg/ml ,mediana 35 pg/ml (nel gruppo di riferimento), V.M 1755 pg/ml, mediana =317 pg/ml (nel 1° gruppo), V.M. 7476 pg/ml, mediana =5460 pg/ml (nel 2° gruppo).La differenza dei valori del peptide nei 3 gruppi è risultata statisticamente significativa(p< 0,0001).
Discussioni e conclusioni: I valori del peptide in crescente aumento dal 3° al 5° stadio della malattia renale, in linea con la valutazione del filtrato glomerulare condizionato dalla gravità della patologia renale, evidenziano una correlazione con la patologia cardiaca in crescente incidenza nei 3 stadi di CKD. D'altra parte, i valori piu' elevati di NT-proBNP sono stati riscontrati nel gruppo dei dializzati (in assenza di filtrato glomerulare), dove si evidenzia anche la piu'alta incidenza di CVD.

RISPOSTA DELLA PROTEINA OLIGOMERICA DELLA MATRICE CARTILAGINEA (COMP) ALLA TERAPIA CON FARMACI BIOLOGICI IN PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE : IMPATTO DELLA VARIABILITA' BIOLOGICA

E-10

V. Brescia, M. Tampoia, A. Zucano, A. Fontana
Laboratorio Patologia Clinica I Policlinico Bari

Scopo del lavoro. Determinare le specifiche della variabilità biologica della COMP (variabilità intra-(CVI) ed inter-individuale(CVG), calcolare l'Indice di Individualità (II) ed il Reference Change Value (RCV), da utilizzare per valutare le variazioni di concentrazione nel monitoraggio di pazienti affetti da Artrite Reumatoide (AR) prima e dopo trattamento.
Pazienti e metodi. 8 volontari sani (4 femmine e 4 maschi), età media 44.7 anni (range 33-55) sono stati sottoposti a prelievi ematici settimanali per 12 settimane consecutive. 21 pazienti affetti da AR, ACR classificati, 18 femmine e 3 maschi, età media 41.7 (range 18-68) sono stati valut ati prima e dopo 36 settimane di trattamento con infliximab. Il dosaggio della COMP è stato eseguito con metodica immunoenzimatica (COMP Assay, Menarini) in completa automazione (Etimax, Diasorin). Il CVI ed il CVG ,calcolati mediante test ANOVA per misure ripetute ed in accordo al metodo di Fraser, sono utilizzati per la determinazione dell'II. Il CVI ed il coefficiente di variazione analitico (CVA), calcolato sulle misure in duplicato degli stessi campioni, sono stati utilizzati per la determinazione del RCV (= 2 1/2Z(CVA 2 + CVI2) 1/2).
Risultati. Il CVA è stato del 4.3% (concentrazione media di 8.02 U/mL); il CVI ed il CVG sono stati rispettivamente del 10.4 % e del 44.2% con un II di 0.23; il RCV è stato del 31% ($p<0.05$). La riduzione percentuale dei livelli sierici di COMP dopo trattamento è risultata significativa (>31%) in 3 dei 13 pazienti ACR responder ed in nessuno degli 8 pazienti ACR non responder.
Conclusioni. I nostri dati dimostrano che la C OMP può essere utilizzata come marcatore sierico di monitoraggio (II<0.6) e che la risposta terapeutica al trattamento farmacologico e la progressione di malattia nel singolo paziente devono essere valutati come variazioni percentuali in rapporto al RCV.

VALORI DI NT-proBNP DETERMINATI CON DIMENSION RxL® NELLE DIVERSE CLASSI NYHA

E-11

C. Cocco, C. Lo Cascio, N. Zanella, M. Bertolani, M. Soldati, P. Rizzotti, *L. Zanolla
Laboratorio di analisi chimico cliniche ed ematologiche,*Divisione clinicizzata di Cardiologia. OCM, Azienda Ospedaliera di Verona.

Scopo del lavoro: In seguito alla recente introduzione del dosaggio di NT-proBNP nell'attività di routine sono stati valutati i valori ottenuti nei pazienti con scompenso cardiaco afferenti all'ambulatorio cardiologico della nostra azienda suddividendoli in base alla severità dello scompenso cardiaco classificato secondo i criteri NYHA.
Materiali e metodi. Reagente PBNP applicato su analizzatore Dimension® Rxl Max (Dade Behring).
Campioni di plasma di 131 pazienti con scompenso cardiaco in terapia medica ottimizzata.
Risultati: Sono illustrati in tabella.
Discussione e conclusioni: Come atteso si evidenzia un increment o dei valori medi al progredire dello scompenso cardiaco; si osserva inoltre una notevole dispersione dei dati e una sovrapposizione dei valori nelle varie classi. La sovrapposizione riguarda anche i valori che rientrano nell'intervallo di riferimento della popolazione sana rispetto ai valori riscontrati nelle classi I e II. Infatti una modesta percentuale (12%) di pazienti in queste due classi presenta valori inferiori al 97° percentile della popolazione di riferimento indicato in metodica e da noi verificato (125 ng/L).

	NT-proBNP ng/L			
classi NYHA	1	2	3	4
media	308	988	3031	8258
ds	216	867	3131	6986
5° percentile	35	92	796	3003
25° percentile	144	449	1274	4175
mediana	222	702	2049	5689
75° percentile	508	1340	3162	10184
95° percentile	615	2392	9845	19802
n	20	56	46	9

IL DOSAGGIO DELLE CATENE LEGGERE LIBERE K NELLA DIAGNOSTICA LIQUORALE

E-12

I. Brusca* P. Li Vigni* M. Ruggeri M. Barrale* V. Cantisano*, S.M. La Chiusa**
*Ospedale Buccheri La Ferla Servizio di Patologia Clinica **AO S.Giovanni Addolorata Roma

Introduzione. L'analisi delle proteine liquorali è largamente utilizzata nello studio delle patologie del Sistema Nervoso Centrale (SNC). La sintesi intratecale di immunoglobuline è un segno di flogosi del SNC. Attualmente il metodo ritenuto più accurato per evidenziare la produzione liquorale di immunoglobuline è la ricerca in esso di bande oligoclonali IgG (BOIgG) tramite isoelettrofocusing seguito da blot, immunofissazione con anticorpo anti-IgG Fc e rivelazione attraverso opportuni cromogeni. La metodica è abbastanza complessa, non ancora completamente standardizzata e con problemi interpretativi. Recentemente è stato descritto da Fischer e coll. un veloce ed oggettivo metodo nefelometrico per l'evidenziazione delle BOIgG che si avvale del dosaggio di catene leggere libere Kappa liquorali (1). Scopo dello studio è verificare e confermare questi risultati.
Materiali e metodi. Le catene K liquorali sono state dosate in 21 liquor su cui era già stato evidenziato la presenza di BOIgG, tramite isoelettrofocusing, e 31 liquor non patologici. I liquor erano stati conservati a -80°. Il dosaggio è stato eseguito su Nefelometro DADE Behring BNII utilizzando due diversi antisieri: l'antisero A prodotto dalla New Scientific Company (Cormano, Milano) e l'antisiero B già utilizzato da Fischer nel suo studio (The Binding Sites Ltd).
Risultati. L'analisi delle curve ROC ottenute con l'antisiero A evidenzia un'area sotto la curva AUC= 0.537 (95%C.I. 0.373-0.701), cut-off 0.9 mg/L, sensibilità = 40% e specificità = 71.88 %. Per l'antisiero B i risultati sono: AUC= 0.745 (95%CI 0.585-0.868), cut-off 2.3 mg/L, sensibilità = 58.8%, specificità= 83.3 %. *Conclusioni*. I risultati ottenuti con l'antisiero A sono carenti sia in termini di sensibilità che di specificità. Migliori i risultati dell' antisiero B, comunque distanti da quelli ottenuti da Fischer.

(1) Fischer C et al. Clin Chem 50:10 1809–1813;2004

INFLUENZA DEL TEMPO DI CENTRIFUGAZIONE SUI TEST DI CHIMICA CLINICA IN URGENZA

E-13

G. Lippi, G.L. Salvagno, M. Montagnana, G. Brocco, G.C. Guidi
Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona, Verona

Scopo del lavoro: Il tempo di centrifugazione è un aspetto cruciale della fase preanalitica, poiché contribuisce considerevolmente ad aumentare il turnaround time (TAT). Scopo del presente studio è valutare l'influenza di differenti periodi di centrifugazione su test di chimica clinica in urgenza (stat).
Materiali e metodi: Sono stati analizzati 13 parametri di chimica clinica d'urgenza su analizzatori Modular P e Elecsys 2010 (Roche) su 10 provette primarie (litio eparina con separatore) di soggetti volontari. 5 campioni di stessi soggetti volontari (n=10) sono stati centrifugati per 1, 2, 5, 10 e 15 minuti a temperatura ambiente e 1200 g.
Risultati: Differenze significative sono state evidenziate con la procedura di riferimento (15 minuti a 1200g) per ALT, calcio, glicemia, potassio urea, CK-MB (1 minuto di cen-trifugazione), ALT, glicemia, urea, CK-MB (2 minuti di centrifugazione) e glicemia (5 e 10 minuti di centrifugazione, differenza non clinicamente significativa).
Discussione: Questo studio ha dimostrato la possibilità di ridurre i tempi di centrifugazione di campioni stat per test di chimica clinica anche a 10 e 5 minuti, senza inficiare la qualità dei risultati e riducendo il TAT.

	Bias desiderabile	Tempo di centrifugazione				
		15 min	10 min	5 min	2 min	1 min
Leucociti, 10^9/l		0.03±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.02	1.06±1.12†
Eritrociti, 10^{12}/l		0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.03±0.01‡	0.06±0.02‡
Piastrine, 10^9/l		20±9	39±14‡	127±52‡	316±112‡	434±149‡
Alanina Aminotransferasi, U/L	±12%	21±7	21±7	20±7	18±8‡	15±8‡
Albumina, g/L	±1.3%	44.3±1.6	44.3±1.6	44.3±1.7	44.3±1.6	44.0±1.6
α-amilasi pancreatica, U/L	±8.0%	22.4±12.0	22.2±11.9	22.3±12.0	22.3±11.8	22.5±12.1
Bilirubina totale, µmol/L	±10%	9.0±2.8	9.0±2.8	9.0±2.8	9.0±2.8	8.8±2.8
Calcio, mmol/L	±0.8%	2.31±0.06	2.31±0.06	2.31±0.06	2.32±0.07	2.34±0.06†
Cloro, mmol/L	±0.5%	103.8±1.8	103.8±1.8	103.8±1.8	103.8±1.8	103.8±2.0
Creatinina, µmol/L	±3.4%	66±8	67±8	67±8	67±8	67±8
Glicemia, mmol/L	±2.2%	4.75±0.44	4.79±0.44†	4.83±0.43‡	4.92±0.40‡	5.00±0.38‡
Potassio, mmol/L	±1.8%	3.96±0.25	3.96±0.25	3.97±0.23	3.98±0.22	4.02±0.22†
Sodio mmol/L	±0.3%	104.3±2.1	104.3±2.1	104.3±1.9	104.3±2.0	104.3±1.9
Azotemia, mmol/L	±5.5%	4.75±0.89	4.76±0.96	4.75±0.92	4.86±0.88†	4.94±0.88‡
Creatina Kinasi MB, µg/L	±16%	3.46±1.21	3.45±1.22	3.28±1.17	3.17±1.13†	3.04±1.10†
Troponina Cardiaca T, µg/L	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

Nella tabella sono riassunti i risultati dei test di chimica clinica ed ematologici su 10 campioni di soggetti volontari, centrifugati a 1500 g per 15,10, 5, 2, 1 minuti in una centrifuga convenzionale. I risultati sono espressi come media ±deviazione standard. Le differenze fra campione (15 minuti a 1500g) sono stati valutati con il test di t-Student per dati appaiati († P <0.05, ‡ P <0.01).

SORVEGLIANZA E EPIDEMIOLOGIA DELLE INFEZIONI OSPEDALIERE (I.H.) IN TEMPO REALE: UTILIZZO DI INFORMATICA e DATA MINING

E-14

C. Garro, N. Carrara
Dip. Laboratorio Analisi ASO S. Croce & Carle - Cuneo

Scopo del lavoro è stato il fornire una adeguazione dei sistemi informatici al problema della necessità di una sorveglianza attiva dei dati microbiologici per inquadrare il problema delle I.H., sullo sfondo dell'avvio di programmi di sorveglianza regionale sulle I.H. (analisi dell'andamento dei vari ceppi emergenti, epidemiologia e risultati degli interventi mirati). Nel nostro Laboratorio Analisi era stata già sviluppata dal 2002 l'integrazione della informatizzazione dei vari segmenti funzionali del laboratorio (dati già presentati), tramite la realizzazione di un software (non commerciale) dedicato alla elaborazione dei dati e al monitoraggio(sorveglianza)delle situazioni a rischio di errori,in collegamento con le soluzioni già in opera ("Metafora"). Realizzato recentemente è il passaggio della gestione dei dati a carico totale del Sistema Informativo del Laboratorio (SIL). Il nostro SIL accumula più di 6.000.000 registrazioni annue relative alle analisi effettuate. I dati di pertinenza Microbiologica nel database base Oracle del Laboratorio, sono una piccola parte –100.000 all'anno. L'utilizzo diretto di questi dati microbiologici per ampi periodi temporali, uguali o superiori all'anno, era tecnicamente difficile, e la fruibilità a fini epidemiologici limitata.Si è ritenuto utile progettare un sistema intelligenti di estrazione dati tramite la raccolta in un database dedicato a questi (data-mining).
Metodi: nella prima fase è stata valutata la gestione dei dati già in possesso del laboratorio:tali dati erano organizzati in un database-Access-di 480.000 registrazioni per il periodo 3/1997-6/2002, strutturate semplicemente in una gerarchia di tabelle che ne garantiva l'integrità relazionale, con limiti sia tecnici che organizzativi evidenti per l'utilizzatore. Nella seconda fase sono state quindi sviluppate le funzioni necessarie: statistica/reportistica; sorveglianza automatizzata (con e-mailing)degli eventi a rischio;salvataggio in automatico delle selezioni effettuate e dei risultati prodotti; collegamento con altri dati memorizzati (REPORTISTICA in Word-.gif). L'applicativo di data-mining consente di estrarre i dati e le operazioni di sorveglianza e monitoraggio; l'applicativo gestionale è il componente principale di parametrizzazione e di lavoro per produrre qualunque forma di report. Si compone di tre menu essenziali: Codifica-Statistica-Sorveglianza. I risultati durante la validazione del sistema hanno confermato che è possibile intercettare e segnalare EVENTI SENTINELLA o possibili EVENTI EPIDEMICI.
Conclusioni: Dall'esito dell'utilizzo dell'applicativo sono emersi dati più che soddisfacenti per le diverse figure professionali e le varie strutture ed istituzioni.
Il medico del Laboratorio, ne trae un indiscutibili vantaggi in termini di tempo applicato e tempestività di risposta (praticamente immediata) ,con la capacità di rispondere a specifici, variegati ed imprevedibili quesiti clinico-epidemiologici.Il clinico ha risposte immediate ed è quindi messo in condizione di intraprendere i necessari ed opportuni provvedimenti del caso.La Direzione sanitaria è sollevata da eventuali conseguenze imputabili a difetti di comunicazione di dati necessitanti di notifiche.Il CIO è costantemente e regolarmente informato sulla quotidiana situazione Aziendale sul tema delle infezioni ospedaliere.I singoli Reparti, oltre a specifiche problematiche, sono periodicamente aggiornati tramite report di reparto confrontabili e riproducibili.

VARIABILITÀ PREANALITICA: RISULTATI DI UN QUESTIONARIO CONOSCITIVO SU 107 LABORATORI ITALIANI

E-15

M. Montagnana
Gruppo di Studio Intersocietario SIMeL-SIBioC-CISMEL sulla Variabilità Extra-Analitica del dato di Laboratorio

Scopo del lavoro. Gli errori nella fase preanalitica rappresentano la principale fonte di inattendibilità dei risultati degli esami di laboratorio. La mancanza di procedure standardizzate ed universalmente riconosciute in questa delicata fase dell'attività di laboratorio rappresenta un problema tuttora irrisolto. Per fornire un quadro attendibile sulla situazione del problema sul territorio nazionale, il Gruppo di Studio Intersocietario SIMeL-SIBioC-CISMEL sulla Variabilità extra-analitica del dato di laboratorio ha promosso una indagine conoscitiva, cui hanno aderito 107 laboratorio italiani.
Materiali e Metodi. Un questionario conoscitivo sulla gestione della fase pre-analitica, suddiviso in 5 argom enti e 17 quesiti a risposta multipla, è stato somministrato ai responsabili di 107 laboratori italiani (30% nord-ovest, 32% nord-est, 23% centro, 13% sud, 2% isole).
Risultati. L'analisi dei tempi di gestione (mediana e percentili) rivela realtà molto eterogenee: attesa del paziente per l'accettazione: 20 min (10-90 min), attesa del paziente per il prelievo: 15 min (5-90 min); trasporto della provetta in laboratorio: 45 min (5-100 min); attesa per centrifugazione della provetta: 15 min (5-60 min); analisi immediata della provetta: 15 min (5-90 min). Di tutti i laboratori intervistati, il 31% dispone di una stazione di preanalitica, l'87% invia campioni presso altre strutture senza trattamento preventivo, il 19% non ha procedure codificate per il trasporto. Per quanto riguarda le provette per gli esami di chimica clinica, il 59% usa siero con separatore, il 15% plasma senza separatore, il 14% siero senza separatore e l'11% plasma con separatore. Il tempo di c onservazione dei campioni (mediana e percentili) è altrettanto eterogeneo: emocromo 2 giorni (1-7), chimica clinica 2 giorni (1-7), coagulazione 1 giorno (0-7), immunometria 3 giorni (1-10). Le modalità di conservazione dei campioni dopo l'analisi sono: emocromo 100% tappati (45% temperatura ambiente, 55% 4°C), chimica clinica 48% tappati, 52% aperti (18% temperatura ambiente, 75% 4°C, 7% -20°C), coagulazione 65% tappati, 35% aperti (45% temperatura ambiente, 53% 4°C, 3% -20°C).
Discussione e Conclusioni. I risultati ottenuti evidenziano un quadro molto eterogeneo, indipendentemente dalla localizzazione geografica e dalla tipologia del laboratorio. La mancanza di standardizzazione nella fase pre-analitica appare tuttora una grave lacuna, che necessita interventi immediati ed efficaci per migliorare la qualità globale dell'attività di laboratorio.

CAMPIONI NON IDONEI IN LABORATORIO: RISULTATI DI UN QUESTIONARIO CONOSCITIVO SU 107 LABORATORI ITALIANI

E-16

M. Montagnana
Gruppo di Studio Intersocietario sulla Variabilità Extra-Analitica del dato di Laboratorio.

Scopo del lavoro. La mancanza di procedure standardizzate ed universalmente riconosciute per la gestione dei campioni non idonei rappresenta uno dei maggiori problemi nel raggiungimento della qualità globale in laboratorio. Per fornire un quadro attendibile sulla situazione sul territorio nazionale, il Gruppo di Studio Intersocietario SIMeL-SIBioC-CISMEL sulla Variabilità extra-analitica del dato di Laboratorio ha promosso un'indagine conoscitiva, cui hanno aderito 107 laboratori italiani.
Materiali e Metodi. Un questionario conoscitivo sulla gestione dei campioni non idonei, suddiviso in 2 argomenti e 7 quesiti a risposta multipla, è stato somministrato ai responsabili di 107 laboratori italiani (30% nord-ovest, 32% nord-est, 23% centro, 13% sud, 2% isole).
Risultati. Di tutti i laboratori intervistati, il 63% utilizza una procedura codificata per la gestione dei campioni non idonei, il 75% dispone di codici di inserimento nel LIS, il 56% ha procedure codificate per l'archiviazione. L'83% considera i campioni emolitici (in funzione di grado e tipologia degli esami richiesti) come non idoneità. Nel 69% dei casi l'emolisi è stimata soggettivamente sulla base dell'ispezione visiva, nel 29% dei casi sulla base di un sistema automatizzato. Per quanto riguarda la gestione del campione emolitico, il 54% dei laboratori processa il campione per tutte le analisi aggiungendo un commento codificato ai risultati, il 27% non processa il campione e ne richiede un secondo, il 16% non processa il campione ed è inserito un commento codificato in sostituzione dei risultati, il 2% processa il campione correggendo i risultati per il grado di emolisi, l'1% non processa il campione. I parametri considerati più influenzabili da emolisi anche modesta sono, in ordine decrescente: potassio, LDH, AST, bilirubina, coagulazione, CK, ferro, calcio, glucosio e GGT.
Discussione e Conclusioni. I risultati ottenuti evidenziano un quadro molto eterogeneo, indipendentemente dalla localizzazione geografica e dalla tipologia del laboratorio. La mancanza di consenso nella gestione dei campioni non idonei appare tuttora una grave lacuna, che necessita di standardizzazione al fine di uniformare l'operato dei differenti laboratori.

FORMAZIONE SUL CAMPO (FSC): NUOVA ESPERIENZA IN LABORATORIO

E-17

E. Toffalori, A. Briani, L. Pecoraro, P. Caciagli
Dipartimento di Medicina di Laboratorio APSS Trento, Struttura Semplice Ormoni e Marcatori Tumorali, Pergine Valsugana

Scopo del lavoro. Svolgere una attività di miglioramento programmata nel laboratorio con l'acquisizione di crediti formativi da parte di tutto il personale attivamente coinvolto e difficilmente ottenibili se non con allontanamento del personale dalla sede lavorativa e con una spesa sia del personale stesso che dell'azienda.
Materiali e Metodi. In relazione all'adeguamento alle norme ISO15189 ed alla recente riorganizzazione operativa del Laboratorio che raccoglie campioni per dosaggi ormonali e marcatori tumorali da tutta la regione Trentino Alto Adige, si era rilevata la necessità di una revisione della fase preanalitica del campione. Con la supervisione di un tecnico del Dipartimento di Laboratorio specificatamente formato dall'azienda, è stato predisposto il progetto di FSC "Miglioramento continuo della Qualità: revisione delle procedure preanalitiche secondo i requisiti delle norme ISO 15189"gestito ed accreditato in collaborazione con il Servizio Formazione dell'APSS di Trento. Il progetto è stato così definito: Premessa delle necessità del Laboratorio, Gruppo di Lavoro, Responsabile di progetto, Obiettivi generali ed educativi, Contenuti, Soggetti partecipanti, Metodologia didattica, Programma attività e Verifiche di apprendimento.
Risultati. Secondo il programma previsto si sono percorse le seguenti tappe. Riunione con il personale per diffondere programma e materiale di preparazione, per definire i ruoli e la distribuzione dei compiti da realizzare. Dopo 2 mesi di attività, riunione in itinere per revisione, discussione e condivisione dei documenti prodotti, per aggiustamenti di percorso e per pianificazione di ulteriori attività di completamento. Terminati tutti i documenti (I.O. criteri di non accettabilità; I.O. prelievo, conservazione ed invio campioni per analiti instabili; I.O. conservazione del campione biologico dopo esecuzione degli analiti; revisione Tabella con elenco analisi ormoni e marcatori tumorali con specificate modalità di prelievo, conservazione e trasporto; Modulo Registrazioni Reclami e Non Conformità), è stata indetta una riunione plenaria con personale Coordinatore Infermieristico delle diverse realtà territoriali e con tutti i Capotecnici del Dipartimento per comunicare le corrette modalità operative e diffondere i documenti prodotti. Riunione conclusiva per compilazione questionario di gradimento, stesura del verbale conclusivo e raccolta documentazione di verifica dell'attività di FSC.
Conclusione. La FSC si è rilevata per tutti gli operatori molto soddisfacente, molto efficace per il reale miglioramento dell'attività quotidiana, per il coinvolgimento di tutto il personale stimolato anche dall'acquisizione dei crediti (ECM 14) e per l'esperienza di lavoro di gruppo.

IL PERCORSO DALLA CERTIFICAZIONE FINO ALLA QUALITÀ TOTALE: UN'OPPORTUNITA' IN MEDICINA DI LABORATORIO PER LA GESTIONE DEL RISCHIO CLINICO

E-18

M. Golato, I. Bianco, L. Di Cintio, F. Indino, C. Di Sciascio, G. Ciancaglini, D. Marino
Patologia Clinica O. C. Lanciano

Obiettivo: orientare il percorso certificativo Iso 9001:2000,verso la gestione del rischio clinico come valore aggiunto per il paziente.
Materiali e metodi: l'approccio al rischio ha reso necessario combinare competenze e percorsi formativi specifici di tipo clinico,tecnologico e gestionale. Incontri interni di valutazione,verifica e analisi delle non conformità (n. c. hanno permesso di focalizzare errori in tutte le fasi del processo. Il percorso attuato ha consentito di individuare aree di maggior criticità con necessità d'interventi prioritari in fase preanalitica ed altre a minor rischio nelle successive fasi suscettibili di miglioramento. L'intervento è stato effettuato in più stadi: 1) verifica del rispetto dei protocolli diagnostici già concordati con i clinici; 2) incontri con il personale sanitario sulle problematiche dei vari campioni e con i medici dei Reparti e di Medicina generale su quelle diagnostiche; 3) aumenti di griglie in accettazione; 4) riesame di griglie di validazione dei risultati ed aderenza alle istruzioni operative (i. o.); 5) individuazione di reparti e utenti cui dare vie preferenziali; 6) miglioramento della fase post-analitica con consulenze, documentate,tra medici di laboratorio e medici richiedenti per la gestione di esami patologici; 7) produzione di nuove i. o. 8) applicazione del D. lgs 196/2003. Dopo gli interventi l'andamento del rischio è stato valutato nel 2005 rispetto al 1° anno di implementazione del sistema qualità, attraverso: riesame delle n. c,valutazioni delle diagnosi e misura del Tat.
Risultati: incremento diagnostico per riduzione del 40% delle n. c in fase preanalitica,incontri ripetuti con i clinici,richieste più mirate. In particolare:aumento del 9% di diagnosi di sepsi, 40% di anaerobi; riduzione di 7% di ESBLs e 17% Mrsa in chirurgia; incremento del 10% di diagnosi differenziale (d. d. di piastrinopenie; del 7% di d. d. di mielodisplasie in fase iniziale; del 5% di d. d. delle microcitemie; del 12% di patologie autoimmuni. In allergologia, invece, l'introduzione di schede anamnestiche,ha rilevato il 65% di richieste improprie, in particolare in età pediatrica,con necessità di interventi mirati. In area di urgenza il miglior risultato individuato è stato l'aderenza ai protocolli dell'80% e riduzione del tat del 50%. per le vie preferenziali.
Conclusioni: la gestione e il contenimento del rischio,in un processo continuo di qualità,crea nuove opportunità con aumento di efficacia diagnostica attraverso una revisione dinamica dei processi. Nella valutazione di rischio clinico è necessario ripensare al laboratorio come produttore di valori economici in quanto garantisce,in rispo sta al quesito,diagnosi tempestive, correttezza terapeutica ed evidenzia specifiche aree critiche su cui intervenire.

CONTROLLO DI QUALITÀ ON LINE IN UNA RETE DI LABORATORI

E-19

E. Toffalori, C. Lorenz, E. Saurini*, P. Caciagli
Dipartimento di Medicina di Laboratorio APSS Trento - Ospedale Santa Chiara - *Ospedale di Cles

Scopo del lavoro. Implementare la nuova gestione del CQ in relazione alla certificazione ISO 15189 e strettamente integrata con il nuovo LIS unico Dianoema del Dipartimento di Medicina di Laboratorio dell'APSS di Trento (9 laboratori in rete).
Materiali e metodi. Nel 2006 è stato adottato il sistema DNQCS della Dianoema. Il CQ è gestito come un paziente, il LIS genera automaticamente ogni giorno le richieste di esami per un paziente "Controllo di Qualità", il campione di CQ viene caricato sul carosello portacampioni. La parametrazione dei profili di controllo è liberamente gestita dall'operatore come n. livelli, analiti, range di accettabilità e regole statistiche di gestione. Eseguiti i test del paziente "Controllo di Qualità", i dati passano al LIS attraverso il programma QCS Real-Time, anche se un solo valore è oltre i livelli di accettabilità, il programma allerta l'operatore con un allarme sonoro e con l'apertura di una finestra di dialogo. L'operatore è costretto ad accertarsi di cosa è fuori range, il sistema registra automaticamente l'identità dell'operatore e richiede la descrizione dell'azione correttiva eseguita. I dati del QC sono on line e visibili anche in sede di convalida dei dati dei pazienti. L'elaborazione statistica dei QC è on line ed off-line sotto forma di carte di Lewey-Jennings, report numerici, istogrammi e grafici riassuntivi su qualsiasi intervallo di tempo, con possibilità di confrontare graficamente anche periodi diversi.
Risultati. Tutti i QC vengono validati e registrati nel LIS e non più o non solo, a livello del data-base dell'analizzatore. Nella nostra realtà, dove tutti i laboratori sono in rete, da una qualsiasi post azione di lavoro ed in qualsiasi laboratorio del dipartimento, l'operatore può vedere e gestire i QC di ogni analizzatore di competenza e validare gli esami anche da sedi diverse da quella di esecuzione del campione. Molto utile per individuare derive anche minime dell'analizzatore è la funzione intermacchina, che consente di confrontare graficamente con istogrammi di distribuzione i dati di periodi diversi. Tutte le statistiche possono essere applicate anche ai dati dei pazienti, migliorando il monitoraggio dell'outcome del laboratorio.
Discussione e conclusione. Il sistema è innovativo e ha ampi miglioramenti rispetto a quanto eravamo abituati: unificazione del QC oltre lo strumento, uguale ed on line in tutto il Dipartimento, elevata possibilità di personalizzazione del processo, automatica e tempestiva segnalazione di errori con supporto on-line nella validazione, tracciabilità completa, ampia possibilità di valutazione dei dati a posteriori. La funzione i ntermacchina sarà ampliata per avere anche il confronto di dati di analizzatori diversi e renderne più facile l'allineamento.

STRUMENTI DI RISK MANAGEMENT: LA TECNICA FMEA

E-20

M. Ruggeri
AO S.Giovanni-Addolorata - Roma

Scopo: Il rischio indica la relazione tra la possibilità che si verifichi uno specifico accadimento e la gravità delle sue possibili conseguenze.Abbiamo applicato la FAILURE MODE and EFFECTS (CRITICALITY) ANALISYS (FMEA) per valutare il rischio nella fase preanalitica, considerando l'Accettazione Manuale dove l'errore è frequente
Materiali e metodi: E' stata applicata sperimentalmente la tecnica proattiva FMEA:strumento che valuta i processi a rischio, per poi scomporre, individuare e valutare i potenziali rischi creando una mappa E' stato costituito un team di lavoro, scelto il processo da analizzare e descritto in sottoprocessi,individuati i potenziali rischi per la sicurezza del paziente, identificandone le possibili conseguenze e facendo una stima delle criticità individuate secondo i criteri di Gravità, Probabilità e Rilevabilità (severità). Ad ogni inconveniente individuato è stato attribuito un valore numerico basato sul consenso del team:1-10 per G e P, e 10-1 per R. Valutati gli inconvenienti secondo i tre criteri, si calcola l'INDICE DI PRIORITA' DI RISCHIO IPR=GxPxR (Tab. 1)
Conclusioni: determinare l'IPR vuol dire individuare dove i miglioramenti del processo sono necessari; gli IPR più alti avranno una precedenza, perché possono provocare gravi conseguenze, hanno una maggiore probabilità che accadono e scarsa possilità che possano essere individuati dalle misure di controllo dell'organizzazione.

Attività	Errore	Effetto Danno per il paziente	Gravità Riferita al danno 1-10	Probabilità Riferita all'errore 1-10	Rilevabilià Riferita all'errore 10-1	IPR = GxPxR
Inserimento anagrafica	Dati errati	Modesto/ morte	10	4	8	**320**
Tipologia esami	Scambio Test LDH/HDL	minimo	1	3	5	15
Stampa Etichette	Etichetta senza campione	minimo	1	4	1	4
Abbinamento Paziente/ campione	Richiesta senza campione	Irrilevante	2	8	1	16
	Accoppiamento Pz./camp. errato	Grave	10	2	10	**200**

ANALISI DI APPROPRIATEZZA DELLE RICHIESTE DI ESAMI DI LABORATORIO URGENTI

F-01

F. Pirali
Laboratorio di Patologia Clinica Ospedale S. Orsola Fatebenefratelli, Brescia

Scopo del lavoro: da molti dati della letteratura e da esperienze consolidate nella attività del laboratorio diagnostico, emerge la difficoltà di ottenere sempre appropriate richieste di esami in condizioni di urgenza. Ho pertanto voluto monitorare le modalità e la completezza delle richieste di esami urgenti in un laboratorio di analisi di un Ospedale generale non dotato di un laboratorio di urgenza autonomo.
Materiali e Metodi: sono state analizzate retrospettivamente 3232 richieste di esami urgenti pervenute nei primi 3 mesi del 2006 al Laboratorio di Patologia Clinica dell'Ospedale S.Orsola Fatebenefratelli di Brescia, registrando: orario di accettazione, orario di arrivo in laboratorio, grado di urgenza (emergenza = esecuzione prioritaria in tempo reale o urgenza differibile = refertazione anticipata di circa 4 ore rispetto alla routine), reparto richiedente, diagnosi o motivo della richiesta.
Risultati: l'Ospedale S. Orsola Fatebenefratelli di Brescia è un Ospedale generale di circa 300 posti letto con reparti di Chirurgia generale e toracica, Medicina generale, Cardiologia con Unità di cura coronarica, Gastroenterologia, Geriatria, Pediatria, Ostetricia e Ginecologia, Riabilitazione neuromotoria, Riabilitazione cardiologica, Pronto Soccorso. I principali dati emersi dal lavoro effettuato sono stati i seguenti: 1) per il 23% delle richieste l'orario di compilazione e di arrivo in laboratorio dei campioni è notevolmente diverso (anche 7-8 ore). 2) tra le ore 7 e le ore 9 arriva in laboratorio insieme agli esami di routine quasi il 50% delle richieste urgenti. 3) quasi tutti i reparti, con l'esclusione del Pronto Soccorso e della Geriatria inviano il maggior numero di urgenze tra le ore 7 e le ore 9. 4) il 15% delle richieste non riporta il grado di urgenza. 5) verso le ore 8 del mattino arrivano contemporaneamente in laboratorio una media di 11 richieste con indicazione di emergenza con il rischio di priorità esecutive che possono non riflettere il reale grado di urgenza. 6) la maggior frequenza di richieste urgenti durante la notte è effettuata da Cardiologia e Pronto Soccorso. 7) il motivo di richiesta più frequente è una valutazione della coagulazione, ma il 27% delle richieste non riporta la diagnosi o il motivo della richiesta stessa.
Discussione e conclusioni: dai dati riscontrati si osserva un uso non ottimale del laboratorio di emergenza. Il trend delle urgenze è inoltre in continuo aumento. Si impone da una parte una riflessione sulla risorse assegnate e sulla loro organizzazione e dall'altra l'impostazione di un programma di informazione e formazione per i reparti volto ad un più razionale approccio al laboratorio di urgenza.

IL CLIMA ORGANIZZATIVO INTERNO E LA COMUNICAZIONE: PROGETTO FORMATIVO

F-02

E. Migali, L. Aldinucci*, A. Brogi**
Direttore Dipartimento Patologia Clinica;*Biologo Dirigente **Tecnico Coordinatore-U.O. Lab. Analisi Montevarchi
ASL 8 - Arezzo

Introduzione. Il clima organizzativo è un indicatore forte ed attendibile di come le persone percepiscono la mission organizzativa, di come lavorano e si realizzano tra di loro. Il clima organizzativo è ciò che si "respira" all'interno del luogo di lavoro, è ciò che regola gli umori, i rapporti tra le persone. Il clima influenza tutto quello che avviene nell'organizzazione, dallo svolgimento delle proprie mansioni ai rapporti con i superiori e i colleghi. Un buon clima permette all'organizzazione di raggiungere più facilmente i propri obiettivi e di ottenere migliori risultati sia in termini di efficienza che di armonia interna. In questo senso il clima di un'organizzazione è stato riconosciuto come indicatore della qualità delle relazioni interne. Ci sono diverse dimensioni che compongono il clima organizzativo: coinvolgimento, coesione, sostegno, autonomia, orientamento al compito, pressione lavorativa, chiarezza dei compiti e ruoli, confort, fluidità e disponibilità delle informazioni.
Obiettivi. Con l'intervento di formazione sul clima e la comunicazione interna ci si pone l'obiettivo di andare ad intervenire sulla percezione "contesto/emotiva" che il personale ha di un determinato ambiente di lavoro con strumenti che tengano in considerazione soprattutto le variabili legate alle persone cioè le relazioni, la comunicazione, la motivazione, il clima lavorativo, la condivisione dei valori. Gli obiettivi formativi sono:-fotografare come la struttura è percepita dall'interno;-migliorare la comunicazione interna fra i vari livelli;-migliorare la gratificazione lavorativa;-sviluppare azioni di coinvolgimento, di condivisione della cultura organizzativa;-ottenere un feedback sulle modalità evolutive con le quali progettare interventi successivi.
Metodologia. Il progetto formativo prevede un'articolazione in tre fasi: 1) analisi del clima interno (studio e interpretazione dei risultati di un questionario somministrato al personale e rilevazione dei bisogni formativi); 2) formazione (moduli in cui verranno trattati i temi della comunicazione umana, i temi relativi alle dinamiche relazionali nei gruppi di lavoro, temi relativi alla leadership ed alle dinamiche di gruppo e alla negozazione; 3) verifica e progettazione del follow-up.
Risultati. La prima fase con la somministrazione di un questionario anonimo ha coinvolto tutti gli operatori del Dipartimento. Le 27 domande sono state aggregate per capitoli: rapporti con la struttura, rapporti interpersonali, rapporti con i superiori, sviluppo professionale, gratificazione professionale, organizzazione del lavoro. L'analisi delle risposte è stata la base per la definizione sia dell a tipologia che dei contenuti del corso formativo. Al corso partecipa tutto il personale suddiviso in gruppi gerarchicamente non omogenei.

CAMPIONI NON PERVENUTI IN LABORATORIO: RISULTATI DI 1 ANNO DI REGISTRAZIONE

F-03

G. Lippi, A. Bassi, M. Montagnana, G.L. Salvagno, G.C. Guidi
Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche,
Università degli Studi di Verona, Verona.

Scopo del lavoro. Le variabili preanalitiche incidono pesantemente sull'attività di laboratorio. In particolare, i campioni non pervenuti a seguito di una regolare programmazione nel sistema informatico del laboratorio creano consistenti problemi gestionali ed organizzativi. Inoltre, la mancata produzione di risultati di laboratorio a seguito di una regolare richiesta, può influenzare negativamente il decision making e l'outcome dei pazienti.
Materiali e Metodi. Il Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche dell'Ospedale Policlinico G.B. Rossi di Verona ha un bacino d'utenza di circa 270,000 abitanti ed esegue test in routine ed urgenz a per pazienti ambulatoriali e ricoverati. A seguito della attivazione/implementazione di un sistema di gestione qualità secondo lo standard ISO 9001:2000 conseguita nel 2002, il personale del Laboratorio esegue una rilevazione sistematica (quantitativa e qualitativa) delle non conformità. Accanto ad altre non conformità, è stata programmata una valutazione statistica del numero di campioni non pervenuti in laboratorio, ma regolarmente programmati. I dati presentati si riferiscono al periodo di un anno di rilevazione, compreso dall'ottobre 2004 al novembre 2005.
Risultati. Nel periodo d'osservazione, il sistema informatico del Laboratorio ha ricevuto programmazione per 423075 provette primarie di sangue (71922 da pazienti esterni, 17%) nei cinque principali settori analitici del laboratorio (130806 per esami di chimica clinica, 113699 per esami ematologici, 61301 per esami di coagulazione, 59403 per elettroforesi e dosaggio delle proteine specifiche, 57866 per a ltre determinazioni immunometriche). Il numero totale di non conformità registrate è pari a 14249 (3.4%), distribuite tra 13968 per pazienti ricoverati (4.0%) e 281 per pazienti ambulatoriali (0.4%). Il numero di campioni non pervenuti sul totale è pari 11095 (2.6%), 11077 (3.2%) per pazienti ricoverati e 18 (0.03%) per pazienti ambulatoriali. Nell'ambito di tutte le non conformità registrate, i campioni non pervenuti incidono per il 78% (1° causa), con prevalenza significativamente diversa tra campioni di pazienti ricoverati (1° causa: 79%) o ambulatoriali (4° causa: 6.4%, $p<0.0001$).
Discussione. I risultati di questo studio indicano chiaramente che i campioni non pervenuti rappresentano la prima fonte di non conformità preanalitica in Laboratorio, soprattutto per campioni di pazienti ricoverati. I dati confermano che il mancato intervento per limitare la prevalenza di questo problema può compromettere seriamente l'organizzazione e l'efficienza del Laboratorio.

LA CENTRALIZZAZIONE DEL DOSAGGIO DELL'HbA1c

F-04

M. Daves, G. Cosio, E. Peer, A. Raffagnini, M. Floreani, F. Rizza
Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano

Scopo del lavoro: nel territorio di competenza dell'Azienda Sanitaria di Bolzano sono 6.180 i diabetici accertati .Fino al 2004 il Servizio di Diabetologia (CAD) del reparto di Medicina interna dell'Ospedale di Bolzano eseguiva sia gli esami ematochimici per il controllo metabolico della patologia, glicemia, urine, HbA1c, fruttosamina, creatinina serica e urinaria, albuminuria spot, rapporto A/C, microalbuminuria (raccolta 12h), proteinuria (raccolta 24h), colesterolo Tot +HDL, trigliceridi, che le visite mediche diabetologiche; il centro si avvaleva per i prelievi di personale infermieristico e per i dosaggi di due tecnici partime al 50%. Nel 2005 la Direzione Sanitaria ha deciso la centralizzazione degli esami biochimici, con la riorganizzazione delle att ività del Centro Antidiabetico (CAD) e il trasferimento dei dosaggi eseguiti dal CAD presso il nostro Laboratorio. Questo ha comportato la soluzione di problemi tecnici e organizzativi
Materiali e metodi: per la misura della HbA1c è di fondamentale importanza un alto livello di riproducibilità che permetta il monitoraggio dei pazienti.Noi avevamo a disposizione due strumenti, uno (Tosoh HLC-723G) in dotazione al laboratorio e l'altro(Menarini HA-8160) al CAD e dovevamo valutare la possibilità di utilizzarli entrambi.
Risultati: il confronto tra gli strumenti è stato eseguito su 63 pazienti con valori di HbA1c compresi tra 4,6 e 12,2%, media(m)= 6,92, deviazione standard(DS)= 1,77 con lo strumento Menarini, e tra 4,5 e 12,2 con lo strumento Thoso, m=6,93, DS=1,80. Sui 63 dosaggi eseguiti, 23 sono risultati sovrapponibili,23 presentavano una differenza di 0.1, 15 di 0.2,e 2 di 0,3. Abbiamo eseguito la regressione secondo Passing-Bablock, che ha fornito i seguenti risultati: Thoso = -0,1524 + 1,024Menarini e il test di Bland-Altmann che mostra una differenza percentuale della media uguale a 0 (+1,96DS= 4; -1,96DS= -4).
Discussione e conclusione: prima della centralizzazione, al CAD venivano eseguiti circa 40 prelievi al giorno, impiegando due tecnici part-time al 50% e due infermiere. Il 50% dei pazienti veniva visitato in giornata ma non ad orari prestabiliti e quindi con la necessità del paziente di fermarsi al CAD per l'attesa e i rimanenti dovevano tornare nei giorni seguenti. Con la centralizzazione degli esami, il laboratorio ha la responsabilità diretta delle attività analitiche, abbiamo ottenuto una riduzione dei costi e il personale tecnico e infermieristico viene utilizzato in maniera più efficace. Per quanto riguarda i pazienti, possono eseguire i prelievi al proprio distretto vicino casa e la visita al CAD viene stabilita dopo prenotazione telefonica ad orari prestabiliti senza inutili attese.

UNA APPLICAZIONE PRATICA DELLA CULTURA DELLA QUALITÁ NEL LABORATORIO ANALISI

F-05

F. Minetti, A. Botto, R. Scarso
Dipartimento di Patologia Clinica - Laboratorio Analisi - Ospedale San Paolo - Savona

Scopo del lavoro: Negli ultimi anni si è diffusa nel Laboratorio Analisi dell'Ospedale San Paolo di Savona la cultura del miglioramento dell'accoglienza dell'utente e l'implementazione del risk management nell'ottica di ridurre gli errori. Per aumentare la soddisfazione degli utenti che vi accedono e degli operatori ivi quotidianamente impegnati nelle loro mansioni si è proceduto alla realizzazione di una sala prelievi nuova.
Materiali e metodi: Questa sala prelievi, inaugurata nel corso dello scorso anno, è stata realizzata nel rispetto dei principi generali di prevenzione in materia di sicurezza e salute nei luoghi di lavoro nonché delle più recenti normative sulla privacy. Recentemente è stata dotata, anche, di una innovazione tecnologica: il BCROBO585 che lavorando su input del sistema informatico prepara, per ogni utente, una vaschetta contente le provette etichettate, le etichette aggiuntive per eventuali campioni speciali e una etichetta di controllo identificativa dell'utente riducendo così possibili errori che si possono verificare nella fase di etichettatura manuale. L'utente può verificare, in prima persona, che le provette preparate nella vaschetta siano contrassegnate con i propri dati anagrafici. La velocità di lavorazione del BCROBO riduce quasi a zero l'attesa del prelievo. Gli utenti, su input di un numeratore digitale e in base al corrispondente numero di prenotazione accedono all'accettazione amministrativa tramite uno sportello singolo che riceve un utente alla volta tutelandone così la privacy. Un secondo numeratore digitale parlante ne guida poi l'accesso ai vari box per il prelievo. La sala prelievi è stata arredata in modo da creare singoli "miniambulatori" dove ogni utente incontra un prelevatore. Oltre al comfort di tale soluzione è evidente come, di nuovo, venga tutelata la privacy. Il prelievo viene eseguito da personale medico ed infermieristico nel rispetto delle linee guida di NCCLS
Risultati: Come indicatore del miglioramento abbiamo valutato il numero di non conformità legate all'errore di etichettatura: prima dell'innovazione erano in media 12 al mese; si sono ridotte a 5. Abbiamo ottenuto una riduzione di oltre 50%. La qualità del servizio è migliorata con contemporanea ottimizzazione delle risorse umane disponibili: da 2 persone di supporto alla sala prelievi si è passati ad 1. E' aumentata la visibilità della tecnologia presente nel Laboratorio Analisi.
Discussione e conclusione: Quanto fatto, pur buono, è solo l'inizio: occorre impegnarsi per correggere i disservizi a volte presenti, per vigilare sul regolare svolgimento delle attività implementate, per raccogliere i suggerimenti e le critiche altrui in modo da continuare a garantire la qualità della sicurezza del servizio e del prodotto offerto all'utente.

F-06

LA CLASSIFICAZIONE DEI RIFIUTI LIQUIDI PRODOTTI DALLA DIAGNOSTICA STRUMENTALE DEI LABORATORI DI PATOLOGIA CLINICA

G. Bodini, P. Catina, E. Bernardi, B. Milanesi
Azienda Ospedaliera Desenzano del Garda, Desenzano del Garda (BS)

Scopo: Lo scopo del seguente lavoro è la classificazione dei rifiuti liquidi prodotti dagli analizzatori automatici dei laboratori di patologia clinica dei presidi ospedalieri, Desenzano, Manerbio, Gavardo, dell'A.O.D. e l'individuazione della loro pericolosità, tenuto conto che la sicurezza dell'operatore passa anche attraverso una corretta gestione dei rifiuti prodotti.
La Direttiva 9 aprile 2002 del Ministero dell'Ambiente, il Dpr 254 del 15 luglio 2003 e il Decreto Legislativo 152 del 3 aprile 2006 hanno sostanzialmente modificato il sistema di classificazione dei rifiuti pericolosi. Il nuovo criterio della concentrazione limite riportato nella decisione 2001/118/CE, introduce un nuovo concetto di pericolosità del rifiuto, basato sulla verifica del superamento di determinate concentrazioni delle sostanze pericolose.
Materiali e metodi: Considerato che per queste categorie di rifiuti liquidi viene ritenuto prevalente il rischio chimico rispetto al rischio infettivo, si è proceduto alla nuova classificazione dei rifiuti liquidi prodotti nei laboratori dell'Azienda Ospedaliera di Desenzano del Garda secondo il seguente metodo: per ogni strumento si è rilevato la tipologia di analisi eseguita, il materiale d'analisi e la quantità, i reagenti per il tipo di analisi la quantità e la loro classificazione riportata sulle schede di sicurezza e l'etichettatura, l'acqua di lavaggio e la quantità, eventuali additivi all'acqua di lavaggio la quantità e la classificazione, la quantità di rifiuto liquido totale scaricato facendo riferimento ad un dato costante, una determinazione, n determinazioni, giorno/settimana. I dati raccolti sono stati elaborati e c alcolata la percentuale di sostanza pericolosa presente nel rifiuto liquido finale. La comparazione con i limiti indicati dalla normativa ha permesso di codificare il rifiuto liquido non pericoloso o pericoloso con la relativa classe di pericolosità, individuati con un codice CER e un simbolo H.
Risultati: tutti rifiuti liquidi, con un'unica eccezione, prodotti dagli analizzatori automatici dei laboratori di patologia clinica dell'A.O.D. sono risultati rifiuti speciali non pericolosi.
Conclusioni: La scheda riepilogativa permette l'immediata visualizzazione del tipo di rifiuto, con la conseguente applicazione del sistema gestionale predisposto in azienda a tutto vantaggio della sicurezza e dei costi necessari allo smaltimento.

F-07

L'ESAME DELLA FRAZIONE CORPUSCOLATA DELLE URINE CON STRUMENTAZIONE AUTOMATIZZATA: NUOVE PROSPETTIVE PER L'ANALISI MORFOLOGICA

A. Caleffi, M. Mercadanti, C. Monica
Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Laboratorio Analisi Ematochimiche, Azienda Ospedaliero-Universitaria - Parma.

Scopo del Lavoro: La strumentazione automatizzata per la lettura degli elementi corpuscolati delle urine ha modificato le procedure per la morfologia cellulare. Si può parlare di piccola rivoluzione se si considera che molte variabili del processo preanalitico ed analitico sono state eliminate e che la conoscenza della performance strumentale aumenta la qualità del referto.
Materiali e metodi: Dal 2000 utilizziamo la strumentazione automatizzata (per il chimico-fisico Atlas-Bayer, per la morfologia il citofluorimetro UF100 Sysmex-Dasit). Oggi si analizzano circa 650 campioni di urina nativa al giorno provenienti da Reparti (tra cui Rianimazione, Nefrologia, Centro Dialisi, Centro Trapianti Renali) e Ambulatoriali esterni. I risultati negativi e congruenti vengono automaticamente resi disponibili per il referto; per quelli incongruenti si esaminano i grafici, si interpretano o si osservano i campioni in microscopia a contrasto di fase.
Risultati: A circa sei anni di distanza possiamo dire di avere ottenuto una refertazione immediata per i campioni negativi e congruenti, una maggiore attenzione diagnostica per i campioni patologici con rilevazione di segnalazioni specifiche e approfondimenti morfologici (compreso l'utilizzo di colorazioni) per elementi cellulari atipici, cellule in trasformazione, cellule tubulari renali, cellule non delle vie urinarie (casi di estrofia vescicale), elementi macrofagici.
Discussione e conclusioni: L'analisi degli elementi corpuscolati dell' urina eseguita con strumentazione automatizzata non deve eliminare lo studio microscopico con colorazioni spe cifiche e l'approfondimento citologico su campioni selezionati. E' da considerare la possibilità di rilevare la trasformazione (para)neoplastica delle cellule delle vie urinarie aprendo un orizzonte nuovo sull'utilizzo diagnostico, prognostico, di monitoraggio e di screening delle urine in popolazioni a rischio. Pensiamo infine che la linea di sviluppo futura, da segnalare anche alle Ditte in commercio, sia quella di aumentare la specificità delle segnalazioni sugli elementi atipici e non consueti e contemporaneamente rendere più standardizzata, corretta e biologicamente sicura la raccolta dell'urina con la produzione di un sistema chiuso (unico contenitore sterile idoneo sia per esame microbiologico che per citochimico con aspirazione da vacutainer) al pari di quanto avvenuto nell'evoluzione degli strumenti di ematologia.

Bibliografia: G.Bruschetta, S.Grosso, R.DeRosa, A.Camporese. "Analisi di un percorso per la razionalizzazione della fase preanalitica e analitica delle urocolture". RiMeL: 2006; 2.

LA GESTIONE DEI RECLAMI TRAMITE SISTEMI INFORMATICI

F-08

S. Platzgummer
Laboratorio Analisi, Ospedale di Merano (BZ)

Introduzione: Nel punto 4.8 dello standard ISO 15189 viene trattata la gestione del reclamo indicando che il laboratorio deve avere una politica e procedure per la risoluzione di reclami. Viene specificato che si deve mantenere registrazione dei reclami, delle investigazioni e delle azioni correttive intraprese.
Scopo del lavoro: La Commissione Qualità e Accreditamento (SIMEL), si è posta come obbiettivo lo studio dell'adattabilità di programmi informatici della gestione della qualità e di confrontare questi programmi fra di loro.
Materiali e metodi: Sono stati valutati due programmi informatici: il programma ISOLAB della ditta TESI ed il programma Archidoc della ditta SIAV per la gestione informatica del reclamo.
Risultati: Tutti i due programmi nella fase di inserimento del reclamo propongono delle cartelle (folder) di inserimento. Sia il programma ISOLAB, che anche il programma Archidoc, permettono di spedire il reclamo inserito ed eventuali misure correttive intraprese tramite stampa, fax o e-mail agli interessati. I programmi permettono una ricerca facile dei reclami inseriti con la possibilità di estrarre dei dati statistici per periodi ed altri dati variabili (p.es. reparti, ecc.) definiti.
Discussione e conclusione: Tutti i due programmi permettono una gestione della qualità della documentazione del laboratorio. Il vantaggio del programma ISOLAB è che è stato creato appositamente per la gestione del sistema qualità nel laboratorio analisi e prevede inoltre la gestione degli eventi di qualità (visite ispettive ecc.), la gestione del personale (organigramma, addestramento ed altro) e la gestione di apparecchiature (manutenzione, taratura, calibrazione) ed altro. Il programma Archidoc gestisce flussi operativi predefiniti, che permettono una gestione rapida, standardizzata dei reclami e tramite applicazione web tutti i dipendenti dell'ospedale possono inserire il reclamo. Il mittente riceve, dopo la conferma dell'inserimento, una notifica elettronica che il reclamo è stato preso in carico dal laboratorio. Il destinatario riceve un e-mail con la notifica che in Archidoc è stato inserito un reclamo. Il destinatario decide secondo la gravità del reclamo, come e in che modo rispondere. Il programma emette una e-mail o una lettera al richiedente in modo automatico. La lettera e la e-mail non devono essere scritte nei programmi dedicati (word, o outlook). La compilazione del campo note nella cartella annotazioni inserisce il testo della lettera o della e-mail in documento già predisposto. Uno dei punti critici nella gestione dei reclami ed in generale di tutti i lavori che necessitano l'utilizzo di sistemi informatici con programmi non direttamente collegati alla refertazione, è che tutti i collaboratori devono essere addestrati e soprattutto motivati ad utilizzare questi sistemi di gestione della qualità.

IL TECNICO DI LABORATORIO COME REALTA' DI UNA SOCIETA' SCIENTIFICA

F-09

L. Penzo*, O. Antelmo°, D. Bennati°, L. Rossi^
*Lab. Analisi, Ospedale Civile, Chioggia; °Dip. Medicina Interna, ^Lab. Analisi 1, Az. Osp. Univ. Pisana

L'importanza di una Società Scientifica per una professione "emergente e in forte rinnovamento" come quella del tecnico nei laboratori di Patologia Clinica non si discute. SIMeL, da statuto, "promuove il progresso della disciplina e l'accrescimento culturale degli associati, previa attenta verifica di qualità, organizzando corsi, convegni e congressi..". Il professionista Sanitario sta assumendo i connotati dell'*Information worker*, una figura che attraverso l'informatizzazione ed altri dispositivi di comunicazione digitale, utilizza e produce informazioni in qualsiasi luogo e momento, opera in una programmazione mirata al raggiungimento di risultati e legata ad un processo organizzativo dinamico che tende a differenziare ed integrare risorse umane e tecnologiche. L'evoluzione della Medicina di laboratorio ha spronato il tecnico a confrontarsi con una forte evoluzione scolastica universitaria, un'albo professionale fresco di costituzione ma ancora lontano da una funzionalità effettiva, la specializzazione, le responsabilità. Le tecnologie stanno imprimendo una grande spinta al cambiamento, attraverso dinamiche che coinvolgono tutti i settori del laboratorio, gli operatori lavorano sempre di meno "per conto proprio" e sempre di più insieme ad altri membri di team, che si autogovernano e rispondono collettivamente dei risultati conseguiti, con una forte integrazione di competenze e dati che necessitano di essere realizzati, verificati e controllati insieme. Nella crescita qualitativa e quantitativa della Medicina di Laboratorio l'aspetto più innovativo degli ultimi tempi sono le "competenze comunicative" assolutamente necessarie per esprimersi efficacemente all'interno della disciplina, con gli utenti e con la più ampia comunità scientifica, comprendenti: la capacità di usare i moderni metodi di comunicazione; di presentare risultati in modo scritto ed orale; di comunicare i risultati e le necessità della disciplina allo scopo di raggiungere la massima appropriatezza, efficienza ed efficacia, nella diagnostica e nella ricerca; la comprensione dei benefici dell'informazione avanzata; la promozione di audit del proprio operato; la consapevolezza dell'utilità del lavoro di equipe. La partecipazione di SIMeL STLB ad EPBS (**European Association for Professions in Biomedical Science),** permette la partecipazione alla piattaforma di discussione sulle applicazioni della Direttiva Comunitaria n. 2005/36/CE del 07.09.2005, relativa al riconoscimento del titolo professionale, acquisito nel Paese di origine, a livello europeo e a tutti i lavori riguardanti la professione del Tecnico di Laboratorio. L'obiettivo è far crescere sia l'Individuo, come professionalità, che la Società, come entità, all'interno del mondo dei Laboratori di Patologia Clinica.

F-10

RILEVAZIONE E VALUTAZIONE DELLA CUSTOMER SATISFACTION: ESPERIENZA DEL DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO A.O. DESENZANO DEL GARDA

E. Bernardi, M. Vigano, L. Tirreno, D. Dalè, F. Bontempi, T. Bettini, G. Cocchi, B. Milanesi
Laboratori Patologia Clinica-A.O. Desenzano (BS)-P.O: Desenzano, Manerbio, Gavardo.
Direttore: Prof. B.Milanesi

Scopo: al tema della customer satisfaction il Dipartimento di Medicina di Laboratorio dell'A.O.Desenzano (U. O. di Lab. Patologia Clinica, Servizio Trasfusionale, Anatomia Patologica) ha dedicato particolare importanza realizzando nel 2005 in collaborazione con l'Ufficio Qualità, un'indagine di soddisfazione Cliente interno (Reparti di degenza). Obiettivo è stato la verifica della qualità del servizio offerto, la valutazione di alcuni aspetti delle performance, indicazioni per un miglioramento dell' efficacia-efficienza nei 3 Presidi Ospedalieri (Desenzano, Gavardo, Manerbio-Leno).
Materiali e metodi: l'indagine è stata progettata-attuata con i criteri:1-Formulazione di 2 questionari anonimi per ogni U.O. del Dipartimento da sottoporre al Personale Medico e ai Caposala di ogni Reparto con individuazione delle aree da sottoporre ad indagine nell'ambito della qualità del Servizio (risposta da 1 a 4), soddisfazione (risposta da 1 a 10), immagine (risposta da 1 a 4), spazio per suggerimenti/commenti; 2-Distribuzione dei questionari e comunicazione della Direzione del Dipartimento circa il motivo dell'iniziativa; 3- raccolta e analisi (calcolo della media delle risposte a ciascuna domanda per Unità Operativa).
Risultati: il questionario è stato compilato e reso dal 44% del Personale Medico (42% Desenzano, 51% Gavardo, 43% Manerbio-Leno) e dal 81% dei Caposala (84,6% Desenzano-Lonato, 100% Gavardo, 69% Manerbio-Leno).Il Personale Medico ha espresso un giudizio di soddisfazione complessivamente positivo relativamente al rispetto dei tempi dichiarati di esecuzione/refertazione delle prestazioni, efficienza dell'organizzazione ed attenzione all'esigenza di miglioramento. Margini di miglioramento sono da registrare relativamente a: comunicazione e formazione (S. Trasfusionale e Lab. Patologia Clinica Manerbio-Leno), struttura organizzativa intesa come definizione di ruoli e responsabilità (Lab. Patologia Clinica Manerbio-Leno), collocazione del Servizio (Anatomia Pat.e S. Trasfusionale Manerbio-Leno).I Caposala hanno espresso minor soddisfazione generalizzata relativamente al S. Trasfusionale Manerbio-Leno. Migliorabile l'aspetto della cortesia del Personale infermieristico amministrativo ausiliario e l'attenzione all'opinione del Personale infermieristico (Lab. Patologia Clinica Gavardo).
Conclusioni: questa analisi ha messo in luce aspetti dei Servizi non sempre evidenziabili attraverso altri strumenti di monitoraggio e misurazione; ha portato a conoscenza i vertici del Dipartimento e dell'Azienda, di informazioni utili ad orientare interventi correttivi prioritari nell'ottica del miglioramento e dell'attenzione verso i propri utilizzatori.

F-11

ADOZIONE DI UN SISTEMA DI MISURAZIONE DELLE PERFORMANCE : LA BALANCED SCORECARD

M. Viganò, G. Cocchi, E. Bernardi, P. Pedroni, G.C. Montresor, D. Dalè, M. Tani, L. Tirreno, B. Milanesi
Laboratori Patologia Clinica-A.O. Desenzano (BS)- P. O: Desenzano, Manerbio, Gavardo. Direttore:Prof. Bruno Milanesi

Scopo: la Balanced Scorecard (scheda di valutazione bilanciata), rappresenta uno strumento per l'analisi, il monitoraggio e la gestione strategica delle Organizzazioni. Proposta negli anni '90 da R. Kaplan e D. Norton, considera 4 prospettive (economico-finanziaria, paziente-cliente, processi interni, sviluppo-formazione) formanti un unico quadro di riferimento che aiuta a tradurre la strategia in obiettivi ed azioni.
Materiali e metodi: nei 3 Laboratori di Patologia Clinica dell'A.O di Desenzano del Garda coinvolti nell'utilizzo di questo strumento gestionale a partire da Maggio 2006, sono stati definiti per ogni prospettiva gli obiettivi specifici, gli indicatori da misurare, i metodi di misurazione, i risultati attesi (target) e i responsabili della loro rilevazione e gestione. Nella "prospettiva economico-finanziaria" abbiamo individuato 5 indicatori (grado di leva operativa, ricavi per unità di personale 2006/2005, prestazioni per unità di personale 2006 /2005, costo medio test, N° esami per accettazione per punto prelievi). Nella "prospettiva paziente-cliente" abbiamo individuato 3 indicatori (N° utenti 2006 / 2005, % questionari regionali restituiti dopo somministrazione, N° reclami). Nella "prospettiva processi interni" abbiamo individuato 9 indicatori (tempo di permanenza al punto prelievi, N° referti non pronti oltre il tempo stabilito, N° controlli di qualità inter –intralab non in range, N° accettazioni errate, N° segnalazioni relative a accettazioni / risposte / campioni non pervenuti nel trasferimento tra Presidi, % errori esami inseriti, N° referti non pronti nel giorno stabilito, % richieste esecuzioni esami fuori profilo). Nella "prospettiva sviluppo-formazione" abbiamo individuato 5 indicatori (N° riunioni periodiche DSS/DSC, N° riunioni periodiche personale laureato, N° riunioni periodiche personale, % corsi aggiornamento non pertinenti al Laboratorio, predisposizione " regole di settore " per settore di attività).
Risultati: l'implementazione di questo sistema multiprospettiva così articolato, ha sostituito nel nostro Servizio gli indicatori di efficacia – efficienza per la valutazione del processo adottati a partire dal 2001 nell'ambito del Sistema di gestione per la qualità (norma UNI EN ISO 9001:2000).
Conclusioni: I feed-back che deriveranno dalle misure rilevate, permetteranno alla Direzione del laboratorio di valutare i risultati della gestione raggiunti, di modificare le strategie, di distribuire in maniera diversa risorse, di rivedere i tempi di sviluppo delle azioni.

IL CONTROLLO CENTRALIZZATO DEGLI STRUMENTI DI EMOGASANALISI: L'ESPERIENZA DELL'AZIENDA G. SALVINI

F-12

S. Pastori, L. Marchetti, G. Candelieri, L. Annoni
A.O. G. Salvini, Garbagnate Milanese

Scopo del lavoro: creare un modello organizzativo che interessa 3 dei 4 presidi ospedalieri dell'Azienda Salvini in grado di assicurare 24/24 ore l'esecuzione delle emogasanalisi con personale non dedicato, riducendo le attività di gestione, mantenendo livelli di qualità analitica alti, dando massima garanzia di sicurezza agli operatori e mantenendo il processo analitico sotto controllo da parte del laboratorio analisi.
Materiali e metodi: L'azienda G. Salvini, dispone di 8 emogasanalizzatori: un emogas RL855 (Laboratorio Analisi), due modelli RL1265 (Laboratorio e Fisiopatologia Respiratoria), un modello RP 400 (neonatologia) e 4 RP405 distribuiti su 2 P.O. del territori, monitorizzati in tempo reale dal laboratorio Analisi del P.O. di Garbagnate. Gli strumenti sono stati connessi a un server sottoposto quotidianamente a procedure di back-up (CED), ed una workstation in Laboratorio, che ne detiene il controllo (Supervisor). Il CQ strumentale è monitorato in tempo reale dal software gestionale Rapidcomm della ditta Bayer. L'AQC (Controllo di Qualità Automatico) utilizzata per i modelli RP400/405 ed RL 1265, identificata automaticamente con un serial number per la tracciabilità dei dati, consente l'attribuzione dei risultati ad un unico lotto identico per tutte le categorie di strumenti, rendendo possibile monitorare tutti gli strumenti con parametri confrontabili anche se di serie diverse. Inoltre la cartuccia AQC è in grado di monitorare tutto il percorso fluidico già a partire dal punto di ingresso del campione biologico, rendendola assimilabile ad un controllo tradizionale.
Risultati: abbiamo raccolto i dati provenienti da tutti gli strumenti nell'arco di 6 mesi ed li abbiamo confrontati per verificare la coincidenza tra i risultati ottenuti dagli strumenti dotati di AQC e il modello RL855 con CQ tradizionale (in fiale). Abbiamo avuto modo così di confrontare strumenti con tecnologia tradizionale, e strumenti di nuova generazione. I dati ottenuti mostrano risultati sovrapponibili per gli strumenti con AQC, (pH: CV tra 0 e 0.1; pCO2: CV tra 1.3 e 3.4; pO2: CV tra 0.8 e 3.5). Per lo strumento della serie 850, di tipo tradizionale i dati ottenuti mostrano molta più variabilità (pH: CV tra 0 e 0.1; pCO2: CV tra 1.5 e 4.4; pO2: CV tra 3.7 e 33.1).
Discussione e conclusioni: La presenza di un controllo di qualità totalmente automatico rende ragione della maggiore stabilità dei risultati nei confronti del QC tradizionale su fiale. Abbiamo verificato come quest'ultimo risenta notevolmente dell'intervento dell'operatore soprattutto nelle situazioni ad alto tunover di personale. Un altro elemento importante che rileviamo è legato alla tecnologia degli strumenti: il Sistema a cartuccia garantisce performance superiori a qualsiasi sistema tradizionale in quanto sfrutta l'analisi dell'AQC in completo automatismo nel pieno rispetto delle norme previste per la validazione del dato analitico. Il dato del paziente viene erogato da un sistema che si autocalibra ed autocontrolla e il dato di AQC non è influenzato dall'operatore. Il Sistema tradizionale invece può fornire dati di QC alterati più spesso correlati alla qualità e frequenza degli interventi di manutenzione

IL CODICE DELLA PRIVACY E IMPLEMENTAZIONE NEL SERVIZIO DI PATOLOGIA CLINICA

F-13

I. Bianco, I. Corti, L. Tosti, F. Indino, A. Di Donato, M. Golato
Patologia Clinica O.C. Lanciano

Obiettivi: implementare le norme del D.lgs 196/2003 "Codice della Privacy " in Patologia Clinica.
Metodi: nel Servizio, certificato ISO 9001:2000, i dati sensibili sono trattati con strumenti elettronici e in parte cartacei.Nel gennaio '05 è stato istituito un gruppo di lavoro per l'analisi del D.lgs, per le modifiche di adesione, per valutare i rischi, per individuare ruoli e responsabilità. Per attuare tale D.lgs è stata necessaria la formazione e sensibilizzazione di tutto il personale.
Risultati e conclusioni: il percorso, raccolto nel documento programmatico sulla sicurezza (DPS) con misure organizzative fisiche e logiche, è stato distinto in diverse fasi:1) Informativa per l'utenza nel"Manuale dell'Utente" con avvisi affissi nella struttura e sulle ricevute d'accettazione sulle modalità di trattamento di dati sensibili e di consenso informato con annotazione nella maschera d'accettazione.2) Accettazione degli utenti da display con ordine numerico.3) Esecuzione di prelievi in 6 box, dei quali uno per le urgenze ed uno per i tamponi, garantendo sempre la riservatezza.4) Incontri di formazione con il personale per il rispetto del segreto professionale, della privacy e dell'osservanza di comportamenti etici per evitare informazioni ad estranei sulla salute dei pazienti.5) Istruzioni per la custodia dello strumento elettronico con gestione di dati informatici e di documenti cartacei, utilizzabili solo nei settori di lavoro dove vengono custoditi in armadi chiusi a chiave.6) Password per ogni incaricato, cambiata ogni 3 mesi, per accesso al LIS con profili di autorizzazione diversi e ai computer di gestione degli strumenti.7) Richiesta di sottoscrizione al segreto professionale per i tecnici delle ditte del LIS e dei diagnostici .Sono stati inoltre adottati l'accesso ristretto ai locali di Accettazione e Laboratorio, chiusura dei locali del server e dei supporti di salvataggio, procedure giornaliere di copie di sicurezza su supporto informatico, misure minime, per le dotazioni in uso, per un "disaster recovery".I risultati di esami esterni, devono essere riconsegnati in busta chiusa solo al paziente tramite ricevuta o delega sottoscritta.Le risposte per Strutture afferenti al Servizio sono inserite in cassette nominative, in Accettazione, con chiavi in dotazione al personale preposto per il ritiro. I risultati non vengono mai comunicati al telefono, salvo per urgenze terapeutiche e diagnostiche tramite un medico del Servizio al medico prescrittore, con registrazione della chiamata. La comunicazione di una cattiva diagnosi o spiegazioni sugli esami sono effettuati da un medico del Servizio, in uno studio per gli esterni e al medico richiedente per gli interni.E'stato inoltre inviato alla Direzione ASL il DPS con le misure prese per ottemperare al D.lgs e la richiesta per integrazioni che necessitano di interventi aziendali.

TOPOGRAFIA DEGLI ERRORI PREANALITICI: IL RUOLO DEL SISTEMA QUALITÀ NELLA GESTIONE DELLE NON CONFORMITÀ

F-14

E. Longhi , L. Mauro, M. Zabeo, M. Barberis
Dipartimento di Patologia Multimedica, Milano

Scopo: Caratterizzare e constestualizzare gli errori pre-analitici di laboratorio attraverso il modello UNI EN ISO 9001:2000, ottimizzare i processi preanalitici volti a garantire un'efficace gestione clinica ed un migliore outcome dei pazienti.
Metodologia: Dopo una fase propedeutica di raccolta dati per creare e codificare una legenda delle non conformità (NC) e rendere più efficiente la rilevazione degli errori preanalitici, nell'anno 2005 per mezzo del modello UNI EN ISO 9001:2000, si è proceduto a: 1) caratterizzare sistematicamente le NC ; 2) pesarle,come totale, in funzione del numero di esami prodotti determinandone l'indice di NC e confrontando il risultato ottenuto con il limite massimo di accettabilità precedentemente definito 3) stratificare le NC per tipologia e per provenienza mediante analisi di Pareto. 4) attivare le opportune azioni correttive in funzione dei risultati registrati
Risultati: A fronte della legenda di NC definita, sono state rilevate 2566 NC nella fase preanalitica su un totale di 1.489.405 test di laboratorio erogati, pari ad un indice di NC dello 0.17% nettamente inferiore al limite massimo di accettabilità di 1,5% stabilito precedentemente dalla direzione di laboratorio. Il 78% delle NC provenivano dalle sedi del Gruppo MultiMedica, il rimanente 22% dalle strutture esterne al Gruppo afferenti al laboratorio. Le tipologie di NC più significative secondo l'analisi di Pareto sono state nell'ordine: temperatura rilevata non idonea alla conservazione dei campioni durante il trasporto (39,2% del totale fase preanalitica); provette con barcode non leggibile, assente o mal posizionato (14,7%); rapporto sangue ad ditivo inadeguato (12,5%); campioni non conformi a prescritte modalità di raccolta o contenitore non idoneo (5,9%); campioni non conservati a temperatura esigente (4,6%); campione non pervenuto (2,6%); bolla di consegna: non corrispondenza tra reale e dichiarato o bolla non inviata (2,4%). Le sedi che, in valore assoluto, hanno fatto registrare un maggior numero di NC sono state: S.S.G (37,7% del totale fase preanalitica); SM (24,7%); VB (11,8%).
Conclusione: L'attenta analisi e la stratificazione delle informazioni ottenute dall'analisi di Pareto ha consentito di: rilevare le tipologie di NC maggiormente ricorrenti, identificare le sedi che originano il maggior numero di NC e ricavare il dettaglio della tipologia di NC nelle tre sedi più frequentemente coinvolte. I dati ottenuti hanno inoltre consentito di individuare le cause delle specifiche NC ed introdurre opportune azioni correttive necessarie alla loro risoluzione. Inoltre sono stati organizzati incontri formativi e di sensibilizzazione del personale sulle tipologie più frequenti di NC e sul loro impatto analitico sul dato di laboratorio.

VALUTAZIONE DELL'ANDAMENTO DELLA RICHIESTA DEI TEST DI LABORATORIO ATTRAVERSO IL NUMERO DI TEST PER CASO TRATTATO

F-15

P. Rizzotti, M.S. Graziani, D. Abba*, V. Perilli*
Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, OCM; *Servizio Controllo di Gestione, Azienda Ospedaliera di Verona

Scopo del lavoro. La medicina di laboratorio è sempre più interessata, anche per implementare specifici programmi di miglioramento, alle modalità di richiesta degli esami. Dall'analisi della letteratura risulta non facile valutare l'impatto dei programmi di miglioramento siano essi rivolti all'approfondimento delle motivazioni cliniche delle richieste piuttosto che al rinnovo delle modalità delle richieste stesse. All'interno dell'Ospedale Civile Maggiore di Verona in collaborazione con il Servizio Controllo di gestione è stato condotto un approfondimento di tale aspetto valutando l'andamento del numero di test per caso trattato dopo un intervento volto alla ridiscussione con i clinici del pannello dei test di ingresso e di alcuni profili diagnostici.
Materiali e metodi. Nel corso del 2004 e 2005 si sono svolti incontri di approfondimento con 21 reparti di cura per ridiscutere il profilo di ingresso e per specifici protocolli nell'ambito della diagnostica tiroidea e degli indicatori di neoplasia. Attraverso il sistema informativo del Lab. è stato monitorato l'andamento della richiesta dei test e il Servizio Controllo di Gestione ha fornito il numero di casi trattati per singola unità clinica. È stato di conseguenza ricavato l'indicatore numero di test per caso trattato.
Risultati. E' stato valutato tale indicatore di tutti i 41 reparti clinici dell'Ospedale Civile Maggiore dell'Azienda Ospedaliera di Verona nel 2004 e nel 2005.
Il numero ha dimostrato dimensioni molto variabili: nel 2004 si va dai 354 test del Centro Trapianti Rena li agli 11.5 test della Clinica Oculistica.
Il numero medio mostra maggiore omogeneità analizzando aree di attività affini: medicina generale (45.6) area internistica specialistica (49.2) area chirurgica specialistica (25.2). L'area delle cure intensive mostra una grande variabilità da 40.6 della T. Intensiva Pediatrica a 354 del Centro Trapianti Renali. Anche l'area chirurgica generale mostra una certa variabilità (da 22.4 a 65.9). Nel 2005, in stretta relazione con l'intervento sull'appropriatezza precedentemente citato, 30 reparti clinici su 41 hanno dimostrato una diminuzione dell'indicatore che oscilla dal 1.3% al 35.6%. Per tali reparti complessivamente si è assistito ad una diminuzione dei test del 13.9%.
Discussione e conclusioni. L'andamento del numero degli esami nel tempo non è un buon indicatore per valutare l'impatto delle iniziative per il miglioramento dell'appropriatezza perché non relato al variare dei casi trattati. L'indicatore numero di esami per caso trattato fornisce una fotografia più realistica dell'andamento. Nel prossimo futuro si ipotizza di relare tale dato ad indicatori di complessità e/o di gravità di malattia.

GESTIONE DEL RISCHIO NEI LABORATORI DI PATOLOGIA CLINICA: APPROCCIO ALLA SCELTA DEI DISPOSITIVI MEDICI DI SICUREZZA

F-16

C. Ferri(*), O.P. Soldati(**), L. Dalfini(**), G.C. Montresor(***), B.Milanesi(***)
(*)Servizio Prevenzione Sicurezza; (**)Direzione Sanitaria ; (***)Laboratori Patologia Clinica Aziendali - Azienda Ospedaliera Desenzano (AOD)

Scopo:nel contesto di un più ampio progetto teso a migliorare salute e sicurezza degli operatori, l'AOD ha previsto l'adozione di misure di riduzione del rischio nel contesto di un sistema integrato per la gestione della sicurezza.L'applicazione di azioni preventive-correttive, pur prevedendo preliminari valutazioni e sperimentazioni trovano resistenza nell'applicazione in quanto generano inevitabili cambiamenti.Nei Lab. di Patologia Clinica il percorso di orientamento-formazione intrapreso ha determinato l'adozione di strategie di prevenzione e misure di miglioramento tecnico, organizzativo, procedurale con obiettivo primario volto a ridurre il rischio occupazionale.
Scopo principale è stato ridurre i fattori di rischio aumentando la consapevolezza degli operatori sugli aspetti della sicurezza quale elemento integrato al processo lavorativo.
Materiali e Metodi:l'organizzazione del lavoro, fortemente dinamica (3 Presidi Ospedalieri e numerosi punti prelievo esterni), ha richiesto forte integrazione di sistema, mantenendo talvolta differenziati metodi, tecnologie,strumentazioni.La resistenza al cambiamento ha visto coinvolti i Responsabili dei Servizi (Lab.Patologia Clinica, Anatomia Pat.,Trasfusionale) e pertanto portava alla costituzione di un GdL Dipartimentale,alla nomina di un referente per la sicurezza.Questo costituisce l'anello di congiunzione tra le esigenze interne (problematiche,esigenze,rilievi,bisogni formativi,etc) e sollecitazioni esterne (audit,rilievi effettuati,gare per l'acquisizione di materiali,strumentazioni,prodotti etc) che raccoglie-elabora,congiuntamente ai Ser. Prevenzione-Protezione e Medico Competente,le proposte e misure di miglioramento previste.
Risultati:processo avviato nel 2002 ha portato alla valutazione dei fattori di rischio biologico/chimico presenti con definizione di:programma di intervento;piano formativo;
elaborazione procedure per sicurezza operatori di Lab.;gestione infortuni a rischio biologico; scelta/uso corretto DPI.
Discussione e conclusioni:dall'analisi dei dati aziendali sugli infortuni a rischio biologico e nello specifico quelli riferiti ai Lab. di Patologia Clinica, risulta necessario valutare un approccio sistemico di selezione dei dispositivi medici di sicurezza. L'Azienda Ospedaliera intende quindi sperimentare, prima di una loro applicazione diffusa, tali dispositivi con la prerogativa di prevenire punture e tagli accidentali e,conseguentemente,infortuni a rischio biologico;dai risultati ottenuti,in particolare nelle misure di prevenzione attuate,l'AO intende sollecitare gli altri dipartimenti medico/chirurgici al fine di attivare lo stesso percorso di miglioramento.

DAL REPARTO AL LABORATORIO: TRASPORTO DEI CAMPIONI-ESPERIENZE A CONFRONTO

F-17

R. Irde, M. Angius, G. Nespolo, F. Murgia, C. Mannuzzu
Medicina di Laboratorio – Osp.S.Martino Oristano

Numerosi autori, ponendo in relazione il risultato delle determinazioni di laboratorio con il migliore output per il paziente, hanno evidenziato la necessità che, oltre a precisione, accuratezza ed efficacia, il tempo della risposta debba essere il più breve possibile. In questa ottica nei reparti di degenza è necessario, oltre che elaborare in maniera appropriata la richiesta degli esami e raccogliere il campione, inviarlo in laboratorio in tempi brevi al fine di non determinare alterazioni dei parametri in esame con una lunga fase pre-analitica.
Scopo del lavoro: Abbiamo concentrato la nostra attenzione sul problema della modalità e dei tempi di invio dei campioni per valutare l'impatto di un sistema di trasporto automatizzato.
Materiali e Metodi: E' stato utilizzato un sistema di tubi pneumatici (PPN) associato alla caratteristica di poter regolare le velocità di accelerazione e di decelerazione. Tale sistema consiste in una tubatura in PVC a perfetta tenuta nella quale l'aria viene immessa da una turbina comandata da un microprocessore. La regolazione delle velocità di viaggio del bossolo avviene con la costante tracciabilità di questo grazie ad sistema di Chips elettronici disseminati nel percorso e nel coperchio dello stesso. Un sistema a video consente di vedere in tempo reale il viaggio dei campioni. Per valutare se lo scuotimento del campione potesse determinare una emolisi abbiamo provveduto sperimentalmente a "stressare"il viaggio di una serie di campioni (fra cui alcuni con carenza di G6PDH), sottoponendoli al dosaggio semi-quantitativo della Hb nel plasma prima e dopo 10 percorsi di andata e ritorno dalla stazione più lontana dal Laboratorio.
Risultati: Dopo 28289 transiti (gennaio-settembre) con una media giornaliera di 151 transiti (durata media 1'09") non abbiamo avuto alcuna rottura di provette, non abbiamo mai evidenziato emolisi massive legate al transito ed abbiamo guadagnato 1 ora sul tempo medio di accettazione delle richieste.
Precedentemente all'uso del sistema l'accettazione della prima richiesta cominciava alle ore 9, alle ore 9,21 avveniva l'inserimento della richiesta n°20 ed alle ore 9,50 l'inserimento della n° 50; dopo l'introduzione della PPN l'inserimento è iniziato in media alle 7,59 la 20^ richiesta è inserita alle 8,25 e la 50^ alle 9,02.
Su 10 campioni testati per la quantità di Hb è stata evidenziata lieve emolisi solo in 2: erano i campioni prelevati senza rispettare l'esatta capacità delle provette (riempimento parziale).
Conclusioni: Si ritiene di poter affermare di aver ottenuto una diminuzione dei tempi di trasporto in concordanza con la letteratura di riferimento che ha consentito di diminuire i tempi di risposta al reparto senza alterazioni del campione legate al trasporto.

IL TECNICO SANITARIO DI LABORATORIO BIOMEDICO (TSLB) TRA FORMAZIONE UNIVERSITARIA DI BASE, SPECIALISTICA E FORMAZIONE CONTINUA NEL LAVORO

F-18

L. Rossi, ^O. Antelmo, ^D. Bennati, *L. Penzo
Lab. Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, ^Dip. Med. Interna, Az. Osp. Univ. Pisana; *Lab. Analisi, Osp. Civile, Chioggia

Scopo del lavoro: Oggi il TSLB esce dall'università dopo tre anni di Laurea di I livello con l'idea di avere una professionalità sufficiente ad entrare nel mondo dei laboratori. Dal momento della laurea il percorso si orienta verso la formazione specialistica o, più frequentemente, verso il mondo del lavoro. L'evoluzione della Medicina di Laboratorio impone un continuo ed approfondito aggiornamento di tutte le varie specialità, dalla chimica alla microbiologia, senza dimenticare la tecnologia informatica. In questo percorso è indispensabile che il professionista sia seguito nella sua crescita culturale dall'apporto scientifico delle Società, in grado di dare tutta la professionalità possibile, consentire lo scambio di esperienze e ricerche, il confronto dei dati e del lavoro.
Metodi: Attraverso i portali scientifici presenti su Internet di SIMeL, SIBioC, AMCLI vengono analizzate le possibilità di formazione, di consultazione e visione che il Tecnico può avere per migliorare la sua preparazione nella Medicina di Laboratorio. La creazione, all'interno dei siti ufficiali, di Forum dedicati alla discussione tra neolaureati, anche in discipline diverse, e professionisti già strutturati, siano essi tecnici, biologi, medici o chimici laureati, può sviluppare un "ponte" professionale che migliori il percorso della formazione continua.
Risultati: In SIMeL sono presenti 17 gruppi di studio, in SIBioC 28, in AMCLI 11, 56 possibili opportunità che il TSLB può sfruttare per confrontarsi, contribuire, imparare a crescere nella formazione e nel lavoro. L'aggiornamento continuo produce "necessità" che nel tempo creerebbero "necessità di ritorno", che potrebbero essere fatte proprie dall'Università, per migliorare, incrementare ed attualizzare il percorso di studio e di preparazione.
Conclusioni: Il professionista TSLB ha oggi una preparazione universitaria che, se integrata dalla formazione continua attraverso le Società Scientifiche, gli permette di confrontarsi con tutte le specificità della diagnostica della Medicina di Laboratorio in un contesto ampio di area di lavoro. La recente pubblicazione di alcune tesi di laurea di studenti universitari del corso in Tecniche di Laboratorio Biomedico sulla Rivista ufficiale SIMeL ha sicuramente dato maggiore visibilità ai tecnici che si affacciano per la prima volta nel mondo del lavoro. Promuovere e continuare la formazione dei TSLB, finalizzare le competenze della rilevazione dei bisogni formativi, della preparazione dei contenuti e della scelta del la metodologia formativa, è essenziale per la formazione all'interno delle equipe multidisciplinari ed interprofessionali dei Laboratori moderni.

VALUTAZIONE E GESTIONE DEL RISCHIO NEL LABORATORIO DELL'ASL 10 DI PINEROLO (TO)

F-19

M.R. Cavallo*, D. Curcuruto*, D. Fortunato*, M. Lasina*, R. Mosso°, E. Richetta*, S. Rigo*
*SC.Laboratorio Analisi ASL10 di Pinerolo ° auditor esterno

Scopo del lavoro. Presentare le attività svolte per la riorganizzazione del Laboratorio Analisi della ASL10 di Pinerolo progettate e realizzate integrando tecniche di implementazione di Sistema Qualità e Risk-Management
Metodi e materiali. La riorganizzazione è stata progettata come intervento di VRQ con il metodo PDCA e realizzata con la partecipazione attiva di tutti gli operatori del laboratorio. L'organizzazione, intesa come insieme di processi è stata analizzata con il metodo FMECA e ridisegnata e valutata secondo le indicazioni UNI EN ISO 9001:00 ed EFQM.
Risultati. L'analisi organizzativa e l'analisi FMECA hanno permesso di:
- identificare e descrivere i processi principali di produzione e di supporto individuando i probabili failure mode con i possibili effetti e calcolare, con valutazioni di gravità, frequenza e rilevabilità, l'indice di priorità di rischio (IPR)di ogni attività;
- individuare e realizzare le azioni di miglioramento e di prevenzione da attuare

Sono state rilevate 56 macroattività e 75 possibili rischi-failure modes (modalità di errore), di questi ultimi 8 risultano di IPR quasi nullo, 54 si collocano nella fascia di IPR basso, 9 nella fascia con IPR moderato e 4 nella fascia di IPR medio alto.
Si sono individuati dei IPR medio alto nei seguenti possibili rischi-failure modes:
- Possibile errore di gestione scorte magazzino (valore IPR 360)
- Possibile errore di gestione apparecchiature (valore IPR 432)
- Possibile errore di gestione del campionamento/prelievo (valore IPR 432)
- Possibile errore di identificazione accettazione paziente (valore IPR 560)

Questi definiscono il livello più critico del processo e, quindi, sono stati considerati priorità su cui agire e di conseguenza rispetto a questi possibili rischi-failure modes sono state identificate le possibili cause ed attivate 4 azioni correttive.
Discussione e conclusioni. A conclusione è possibile affermare che la riorganizzazione di un laboratorio, che si ponga come obiettivi l'efficienza e l'efficacia, ma soprattutto la sicurezza e la qualità, non può prescindere da una costante attività di monitoraggio dei processi e dei possibili errori
Le azioni progettate e già realizzate con risultati positivi ci consentono infine di affermare che i pur discussi standard di buona organizzazione (ISO 9000, EFQM) abbinati a costanti azioni di analisi e controllo dei rischi forniscono a tutti gli operatori, competenze tali da permettere ad una organizzazione la sua continua revisione sia in ottica di miglioramento che di risk-management.

F-20

PROGETTO ORGANIZZATIVO DI POCT SULLA BASE DELL'ESPERIENZA VISSUTA NEI CENTRI OLIMPICI DI MEDICINA DI LABORATORIO

***M.R. Cavallo, §G. Cibinel, §B. Chiapusso, *M. Lasina, R. Mosso, §M. Pastorelli, *E. Richetta**
*SC.Laboratorio Analisi §Dipartimento emergenza ASL10 di Pinerolo ° auditor esterno

Scopo del lavoro. Il progetto descritto è la risposta individuata nell'ASL10 di Pinerolo al problema di disporre in tempo reale, tramite POCT, di dati di laboratorio per la stabilizzazione ed il monitoraggio in emergenza di pazienti critici in strutture di Pronto Soccorso e Rianimazione.
Metodi e materiali. L'ideazione del progetto è scaturita per contenere l'impatto sui TAT provocato dal crescente n° di richieste di prestazioni urgenti non contenibili in routine veloci a scapito di effettive emergenze e per migliorare la qualità del dato nei POCT. Il bisogno è stato discusso in Laboratorio e con i colleghi della Rianimazione e Medicina e Chirurgia d'urgenza ed insieme si è condiviso che la soluzione era la revisione congiunta dell'organizzazione dei POCT. Il progetto è stato condotto seguendo le fasi classiche di una progettazione organizzativa con il metodo PDCA e sulla base degli ottimi risultati dell'esperienza gestionale ed operativa vissuta nel policlinico di Sestriere durante i giochi olimpici e paralimpici.
Gli incontri previsti in progettazione per la realizzazione delle attività pianificate si sono svolti utilizzando a seconda delle necessità la tecnica del focus group o quella della discussione visualizzata (metaplan).
Risultati. I risultati tangibili della realizzazione sono:
-riduzione dei fermi macchina;
-introduzione del CQI e dati più sicuri per il paziente ed i clinici;
-miglioramento delle relazioni tra il personale dei diversi servizi;
-pianificazione condivisa di un incremento di test nei POCT.
Discussione e conclusioni. L'analisi del problema e dell'esperienza vissuta ha permesso di condividere la necessità di un coordinamento, gestionale-operativo, dei POCT da parte dei professionisti di laboratorio. Si è infatti convenuto che solo con questo presupposto, è possibile garantire l'uso corretto delle apparecchiature ed ottenere risultati di qualità anche da parte di personale senza specifiche competenze in medicina di laboratorio. Il coordinamento dei POCT garantisce la qualità del dato attraverso la formazione degli utilizzatori, la supervisione delle modalità operative (utilizzo-manutenzione strumenti; esecuzione test) e la gestione dei dati del CQI. Si è convenuto inoltre di pianificare incontri mensili di riesame delle attività e dei risultati per valutare insieme la qualità delle prestazioni fornite ed eventualmente attivare azioni correttive. In questo modo è stato possibile superare le resistenze ad un incremento di test nei POCT al fine di poter avere dati immediatamente fruibili nei casi di emergenza.

F-21

PERCORSI DIAGNOSTICI DI LABORATORIO NELLA DIAGNOSI E FOLLOW UP DI PATOLOGIE EMATOLOGICHE

R. Longo (1), L. Albertazzi (1), B. Casolari (1), B. Gamberi (2), F. Franchi (1), S. Asioli (2), M. Brini (1)
(1) Dipartimento Patologia Clinica, A.O. Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia; (2) Dipartimento Onco-Ematologico, A.O. Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia

Scopo del Lavoro: Al fine di facilitare e migliorare il percorso di laboratorio nella diagnosi e nel follow up nella Leucemia Linfatica Cronica (LLC), nella Leucemia Acuta Linfoide (LAL) e nella Leucemia Acuta Mieloide (LAM), il Laboratorio Analisi Chimico Clinico, in accordo con le UU.OO. Anatomia Patologica, Ematologia e Laboratorio di Genetica, ha realizzato, secondo le più moderne evidenze scientifiche, delle linee guida chiare nate dall'esigenza del laboratorio di processare campioni provenienti da richieste appropriate e corredati delle informazioni adeguate e necessarie alla refertazione e alla consulenza specialistica.
Materiali e Metodi: É stata realizzata, dalle UU.OO. coinvolte, una scheda d'accompagnamento del campione per patologia, contenente le informazioni esaustive sul tipo di campione e le osservazioni sul prelievo, il reparto di provenienza, l'anagrafica del paziente, i dati anamnestici, le notizie cliniche salienti e il sospetto diagnostico, oltre a caselle per richiedere l'esame morfologico, immunofenotipo e biologia molecolare su sangue periferico e midollare secondo i protocolli concordati.
Risultati: Dalla concertazione delle UU.OO ne sono derivati tre pannelli che contengono le indicazioni chiare e univoche, secondo le ultime evidenze cliniche, sugli esami da eseguire su campioni di sangue periferico e di sangue midollare alla diagnosi e nelle diverse fasi del follow up nelle LLC, LAL e LAM. Tali protocolli, corredati dalle schede di accompagnamento dei campioni, saranno a breve pubblicati sul sito IntraNet aziendale, affinché siano diffusi e a disposizione di tutte le UU.OO. dell'Azienda.
Discussione e Conclusioni: La realizzazione e la diffusione di linee guida consente al laboratorio di raggiungere l'appropriatezza delle richieste in base alla patologia, allo stadio di malattia e alla fascia di età del paziente, ottenendo così la razionalizzazione delle risorse e il miglioramento della risposta.

CENTRALIZZAZIONE DEI MAGAZZINI DEL POCT. UN SUCCESSO DI SQUADRA

F-22

V. Perlangeli , M. Casati*, S. Pittalis*, M.G. Regina*, L. Aliprandi, M. Giussani**, R. Iacobelli***, A. Lucchini**, N. Mandelli***, M. Pirovano****, W. Rositani**, L. Schifano**, M. Pizzi*****, D. Cerri*****
*Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, **Dipartimento Emergenza ad Alta Specializzazione, ***Dipartimento Materno Infantile, ****Terapia Intensiva Cardiologia, *****Farmacia. A.O. San Gerardo, Monza.

Scopo del lavoro. E' in atto presso l'Azienda Ospedaliera San Gerardo di Monza l'accreditamento all'eccellenza da parte dell'agenzia americana Joint Commission International Accreditation Standards for Hospital (JCI). Il Laboratorio Analisi sta adeguando il sistema di gestione della qualità agli standard dei servizi di laboratorio richiesti da JCI anche alle attività di Point of Care Testing (POCT) delle terapie intensive (7 Unità Operative). In questo ambito, si è deciso congiuntamente, reparti e laboratorio, di accentrare in Laboratorio Analisi la gestione dei magazzini reagenti per le attività di POCT, al fine di ottimizzare le scorte e semplificare i sistemi di controllo.
Materiali e metodi. A partire dal Luglio 2005 tutte le scorte di reagenti relativi ad attività di POCT, prima gestite dal singolo reparto, sono state accentrate in Laboratorio Analisi che attualmente gestisce direttamente gli ordini con la Farmacia, ottimizza le scorte dei reparti e gestisce eventuali non conformità relative alla qualità dei reagenti. A ogni reparto è stata assegnata una scorta essenziale di reagenti e settimanalmente i caposala, responsabili di reparto del POCT, definiscono il fabbisogno minimo di reagenti compilando un modulo di richiesta al Laboratorio.
Risultati.
a) I reagenti per l'esecuzione dei test di POC dei reparti di terapia intensiva sono attualmente monitorati dal laboratorio che ne valuta costantemente la disponibilità e la qualità (secondo lo standard AOP 5.6 di JCI);
b) Il personale delle terapie intensive è attualmente sgravato dal controllo della qualità dei reagenti e della loro disponibilità;
c) L'ottimizzazione delle scorte ha prodotto una riduzione degli acquisti del 49% (pari a 105.000 Euro /anno di risparmio), rispetto al periodo precedente all'implementazione della centralizzazione (Luglio 2005 - Giugno 2006 vs Luglio 2004 - Giugno 2005).
Discussione e Conclusioni. La centralizzazione dei magazzini di POCT delle terapie intensive ha permesso una drastica riduzione delle scorte ed elevati risparmi. L'ottima compliance ottenuta da parte del personale delle terapie intensive coinvolto nel processo, rappresenta un buon punto di partenza per estendere la centralizzazione dei magazzini anche alle attività di POCT delle Unità Operative dell'intera Azienda Ospedaliera.

MEDICINA DI LABORATORIO E SICUREZZA DEL PAZIENTE NELLA VALUTAZIONE DELLO STATO IMMUNE

F-23

A. Antico, F. Siviero, I. Bountis, G. Scuccato, M. Pandin, P. Sartore, L. Bacelle
Dipartimento di Patologia Clinica, P.O. di Cittadella U.L.S.S. 15 Alta Padovana – Regione Veneto

Scopo del lavoro: predisporre un sistema integrato di gestione del rischio nel settore di immunologia clinica1.
Materiali e Metodi: abbiamo individuato 4 fasi principali nel processo di gestione del rischio
I^ FASE : ANALISI DEL RISCHIO
- Analisi dei processi: 1) scelta delle strumentazioni (tecnologie mirate alla efficienza) 2) definizione di protocolli diagnostici (Appropriatezza richiesta, Ottimizzazione sequenza test, Pianificazione del rischio, Gestione informazioni al clinico) 3) revisione dei processi operativi (certificazione) 4) formazione continua degli operatori (E.C.M.)
- Identificazione situazioni pericolose: 1) analisi singole attività (istruzioni operative) 2) identificazione situazioni fonte di errori (registrazione non conformità) 3) identificazione modi di errore (analisi non conformità)
- Stima del Rischio: 1) Sensibilità, Specificità, Variabilità analitica 2) Significatività della variabilità intraindividuale (RCV) 3) Plausibilità clinica
II^ FASE: VALUTAZIONE DEL RISCHIO
- Livello di Rischio: 1)nessun rischio (protezione immunologica) 2) alto(recettività all'infezione/ infezione in atto / presenza di autoanticorpi a titolo significativo) 3) probabile (presenza di anticorpi della fase acuta rilevati da 2 metodi validati) 4) basso (riscontro di anticorpi IgM non confermata da metodo alternativo validato/ IgG avidità alta/ presenza di autoanticorpi a titolo < 1:160) 5)inatteso (presenza di un marcatore anticorpale patognomonico non richiesto e occasionalmente riscontrato)
III^ FASE: CONTROLLO DEL RISCHIO
1) Implementazione di misure per ridurre il Rischio (interfaccia con il clinico, referto interpretativo, governo clinico del rischio, archivio storico) 2) Valutazione del Rischio Residuo (monitoraggio clinico e sierologico)
IV^ FASE: INFORMAZIONI POST-EROGAZIONE SERVIZIO
1) Analisi Dati (indicatori: Situazione epidemiologica costante, Statistica Sinistri aziendali, studi di outcome)
2) Revisione del Processo di Gestione del Rischio (miglioramento appropriatezza clinica ed organizzativa)
Risultati e conclusioni: l'efficacia clinica del sistema integrato è emersa da uno studio di outcome che ha elaborato dati ottenuti dal monitoraggio di 3750 gravide, 200 pazienti affetti da MAIS o MAOS e 250 soggetti con malattie infettive acute, raccolti in 18 mesi. Nella diagnostica autoanticorpale e infettivologica l'attenta gestione delle diverse fasi del processo ha permesso di ben classificare il rischio rispettivamente nel 87.3% e nel 95.7% dei casi documentati, orientando clinicamente il curante, anche in caso di rischio inatteso e confermando l 'efficacia del modello per il risk management in laboratorio.

(1)D.M. 5/03/2003, Ministero della Salute :"Risk management in sanità"

STANDARDIZZAZIONE DELLA VALIDAZIONE TECNICA COME STRUMENTO DI GESTIONE DEGLI ERRORI: SVILUPPO DI UN SISTEMA DI MISURA E VERIFICA

F-24

D. Giavarina, A. Bedin, L. Bedin, A. Bevilacqua, S. Consolaro, M.T. Comberlato, G. Cunico, C. Dalla Valle, F. Fabbi, B. Faresin, L. Forner, F. Fortuna, S. Indico, U. Pizzolato, E. Pozzo, G. Rossettini, G. Secco, M. Stocchero, D. Urbani, L. Urbani, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. La validazione tecnica è un elemento strutturale per la garanzia della sicurezza dei risultati emessi dal laboratorio. La riduzione della varianza tra comportamenti di diversi operatori è uno strumento per la riduzione degli errori. Scopo di questo lavoro è la verifica dei criteri di validazione tecnica dei singoli e la creazione di uno strumento per la misura della varianza tra i comportamenti, al fine della costruzione di un cruscotto per il monitoraggio continuo.
Pazienti e metodi. Sono stati considerati 26 quadri consecutivi di profili paziente di chimica clinica ed immunochimica non autovalidati dal *middleware* (CentraLink, Bayer, Terrytown, NY, USA) collegato al sistema di analisi ad automazione totale. 17 tecnici hanno espresso, mediante un questionario anonimo, la loro azione rispetto a ciascun quadro, indicando tra 5 possibili azioni: A)Validazione e rilascio dei risultati; B) Ripetizione della corsa (*Rerun*); C) Rifiuto del risultato, con verifica delle condizioni analitiche (reagenti, calibrazione, strumento) e ripetizione dell'analisi dopo risoluzione del problema analitico; D) Rilascio del risultato con un commento codificato; E) Annullamento dei risultati o della richiesta. Le risposte sono state confrontate con un riferimento derivante dalla documentazione della qualità e come percentuale di concordanza tra i singoli.
Risultati. La concordanza complessiva con lo standard è stata del 68% (range validatore 58%-85%). La concordanza complessiva tra i validatori è stata del 76% (range quadro 53%-100%). La concordanza per le singole azioni è risultata: A: 77%; B: 68%; C: 56%; D: Non applicabile; E: 97%. Due quadri hanno mostrato una buona concordanza tra gli operatori (rispettivamente 76% e 65%) ma una non concordanza con lo standard.
Discussione. Il sistema ha rilevato una buona concordanza tra gli operatori. Esso ha inoltre permesso di rilevare alcuni comportamenti non conformi allo standard ma condivisi. Nel particolare, erano le informazioni relativamente alla provenienza del campione a determinare un comportamento diverso nella validazione. Il sistema inoltre permette di evidenziare quali quadri di validazione presentano maggiori criticità (quadro al 53%) e quali non necessitino di interventi di formazione aggiuntiva (quadro 100%). Il riesame con il gruppo permette ai singoli, in maniera anonima, di rivedere i propri comportamenti, discutere del processi e uniformare le azioni. Ridurre la varianza nei processi di laboratorio è uno degli strumenti per contrastare le possibilità di errore. La componente umana rappresenta una risorsa imprescindibile per affrontare eventi complessi e inaspettati; la possibilità di monitorare le azioni routinarie può aiutare al miglioramento delle performances e alla riduzione degli errori.

LA SICUREZZA E LA SALUTE SONO AFFARI DI TUTTI: IL DOCUMENTO DI VALUTAZIONE DEI RISCHI (DVR) DEL LABORATORIO DI ROVERETO.

F-25

M. Schinella, G. Murer*, E. Giordani, D. Armotti, S. Schmid
Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia, *Servizio di Protezione Aziendale, Nucleo Operativo di Prevenzione e Protezione Aziendale -Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari della provincia di Trento-Ospedale di Rovereto

Introduzione: il D.L. 626/94, e ss.mm. obbliga qualsiasi struttura (in tutte le sue istanze, dal datore di lavoro al lavoratore) ad operare per il miglioramento della sicurezza e della salute nei luoghi di lavoro. L'Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari (APSS) della Provincia Autonoma di Trento a questo proposito si è dotata di 2 strutture (N. O. di Prevenzione e Protezione Aziendale, NOPP, e N.O. Medico Competente, NOMC) aventi il compito specifico di supportare i datori di lavoro aziendali per l'attuazione dei dettati del suddetto decreto legislativo.
Materiali e Metodi: la base del sistema di gestione della sicurezza è il Documento di Valutazione dei Rischi (DVR), costituito da 7 capitoli che partono dalla descrizione dell'unità operativa (UO) e, attraverso la descrizione e l'analisi delle attività (secondo il metodo delle Congruenze Organizzative, MOC), permettono l'individuazione dei pericoli e la valutazione dei rischi, da cui derivano le misure di prevenzione e protezione adottate e quelle da adottare secondo un programma per il miglioramento dei livelli di sicurezza. La fase propedeutica alla compilazione del DVR, che ha coinvolto tutto il personale della UO, è consistita nell'analisi dei processi lavorativi di ogni settore attraverso il MOC, definendo la tipologia dei DPI, dei presidi medici utilizzati e delle procedure corrette per l'utilizzo delle sostanze pericolose. È stata inoltre effettuata una descrizione della UO, sia per quanto riguarda i locali, che per l'attrezzatura impiegata.
Risultati:dal 2002 hanno fatto seguito numerosi aggiornamenti del DVR (uno all'anno), ciascuno dei quali è stato trasmesso al NOPP per la verifica e la successiva approvazione da parte del Direttore Generale. Ogni anno il DVR viene analizzato e discusso da parte di tutto il personale della UO in uno specifico momento di formazione. Il percorso ha portato nel corso degli anni ad individuare ed analizzare un numero di 82 attività lavorative e ad una drastica riduzione dei rischi, con ricadute positive sulla salute, sicurezza e benessere degli operatori.
Conclusione: Il NOPP e il NOMC da oltre 5 anni effettuano 2 visite ispettive annue dell'UO per verificare, in presenza delle altre figure identificate dal DL 626/94 (dirigente, preposti e RLS), le condizioni di sicurezza e salute dei lavoratori. Oggi, la seconda delle visite annuali si è trasformata da visita agli ambienti di lavoro in verifica dello stato di aggiornamento del DVR, a conferma del fatto che il documento rappresenta la realtà operativa specifica del laboratorio di Rovereto.

RILEVAZIONE DEGLI ERRORI DI IDENTIFICAZIONE DEL CAMPIONE NEL POCT

F-26

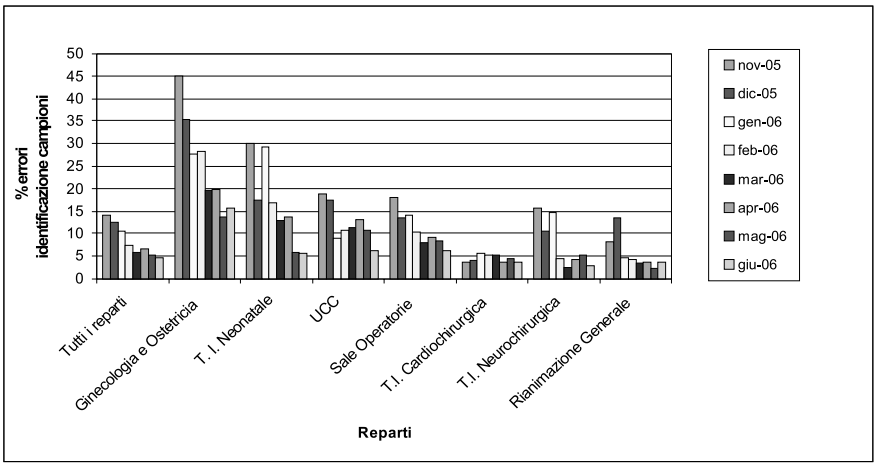
V. Perlangeli, M. Casati, S. Pittalis, F. Basta, G. Bestetti, C. Delfini, M. Di Palma, I. D'Onofrio, L. Fossati, C. Galliani, A. Mauro, N. Novati, L. Paleari, R. Scarano
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, A.O. San Gerardo, Monza

Scopo del lavoro. Gli errori di identificazione nel laboratorio possono essere responsabili di eventi avversi sul paziente, tanto che la JCAHO pone nell'identificazione accurata dei campioni, un obiettivo cardine della sicurezza del paziente. Non sono noti in Italia lavori che rilevino gli errori di identificazione dei campioni nel POCT.

Materiali e metodi. Nel periodo Novembre 2005–Giugno 2006 sono stati rilevati i campioni non identificati correttamente, mediante software AstrolabPOC (Roche Diagnostics) che collega via rete gli emogasanalizzatori delle terapie intensive al LIS. E' stato conteggiato il numero di campioni sconosciuti e inviati report mensili ai responsabili POCT di reparto.

Risultati. La percentuale totale di errori negli 8 mesi è stata pari al 7.8%. Tuttavia, la percentuale di errori è progressivamente scesa da 14.1% al 4.6%.

Discussione e Conclusioni. I dati ottenuti indicano come priorità la sensibilizzazione del personale dei reparti a seguire corrette procedure di identificazione. L'implementazione di sistemi wireless e del braccialetto di identificazione del paziente con annesso barcode dovrebbero contribuire a minimizzare il rischio di errore.



Percentuale di errori di identificazione dei campioni del POCT (Nov 2005 – Giu 2006)

DOSAGGIO DI LEVETIRACETAM NEL SIERO CON HPLC-UV

G-01

G. Lobreglio, D. Fiorentino, P. Verardo, W. Rausa, I. Vizzino, D. Turco
U.O. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera "Card. G. Panico", Tricase, Lecce

Background e scopo del lavoro. L'(S)-(-)- α -ethhyl-2-oxo-1-pyrrolidine acetamide (Levetiracetam)è un nuovo farmaco antiepilettico con un profilo farmacocinetico lineare, biodisponibilità vicino al 100%, insignificante metabolismo epatico ed eliminazione del 90% della dose assunta per via renale. Il monitoraggio della concentrazione sierica del farmaco è raccomandato per ottimizzarne l'effetto terapeutico, specialmente nei pazienti con alterazione della funzione renale, e negli anziani e bambini, per allungamento o accorciamento della half-life del farmaco. Per far fronte a questa necessità abbiamo individuato un metodo rapido per il dosaggio di levetiracetam nel siero dei pazienti con HPLC-UV.

Materiali e metodi. Il levetiracetam puro è stato gentilmente fornito da UCB Pharma (Belgio); i sieri dei pazienti, i controlli e i calibratori sono stati trattati con $HClO_4$ 0,33 M per la precipitazione delle proteine; la fase acquosa è stata iniettata in colonna analitica di silice C-18 a fase inversa ed eluita con fase mobile costituita da acetonitrile/50 mM tampone fosfato (15/85 vol/vol, pH 5,6); la velocità di flusso è stata di 0,3 mL/min, la temperatura della colonna di 25°C, la lettura UV a 220 nm.

Risultati e discussione. Alle condizioni cromatografiche indicate la separazione di un picco di levetiracetam appuntito e simmetrico è stato ottenuto a 12,78 minuti; nonostante la semplice preparazione del campione non si sono evidenziate interferenze da sostanze endogene o da altri farmaci antiepilettici (carbamazepina, lamotrigina, phenobarbital, fenitoina, acido valproico, benzodiazepine). L'imprecisione tra giorni è stata di 3.7% e di 1,9% per le rispettive concentrazioni di lamotrig ina di 12,5 e 25 µg/mL. I livelli di levetiracetam nel siero di 12 pazienti in trattamento analizzati rientravano nei livelli terapeutici previsti (5,95 - 25 µg/mL).

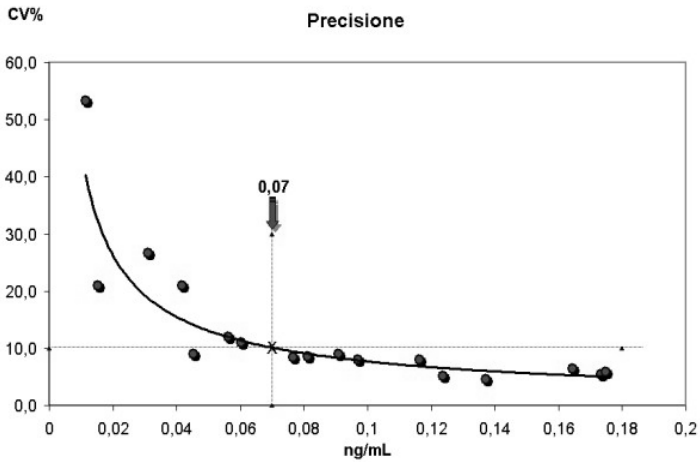
Conclusioni. Il metodo descritto è rapido e semplice in quanto non richiede lunghe procedure di preparazione del campione: non presenta interferenze con sostanze endogene o altri farmaci anti-epilettici co-somministrati. Risulta adeguato, pertanto, al monitoraggio terapeutico di levetiracetam nei pazienti in terapia antiepilettica poli-farmacologica.

G-02

PROFILO DI PRECISIONE DEL NUOVO METODO PER LA DETERMINAZIONE DELLA TROPONINA I SU SISTEMA ADVIA CENTAUR

A. Fortunato, G. Secco, S. Consolaro, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia – Ospedale "San Bortolo" – Vicenza

Scopo del lavoro: le determinazioni di troponina I cardiaca (TnI) sono di aiuto nella diagnosi dell'infarto miocardio acuto (IMA) e nella stratificazione del rischio di pazienti con sindromi coronariche acute. In seguito alla disponibilità di nuovi reagenti per la determinazione della TnI con migliori caratteristiche di precisione analitica, e quindi di sensibilità, applicabili sulla strumentazione ADVIA Centaur è stato valutato il profilo di precisione, al fine di verificare le prestazioni di tale metodo per le concentrazioni di analita riscontrati a livello del 99° percentile della popolazione presunta sana, come raccomandato da ESC/ACC.



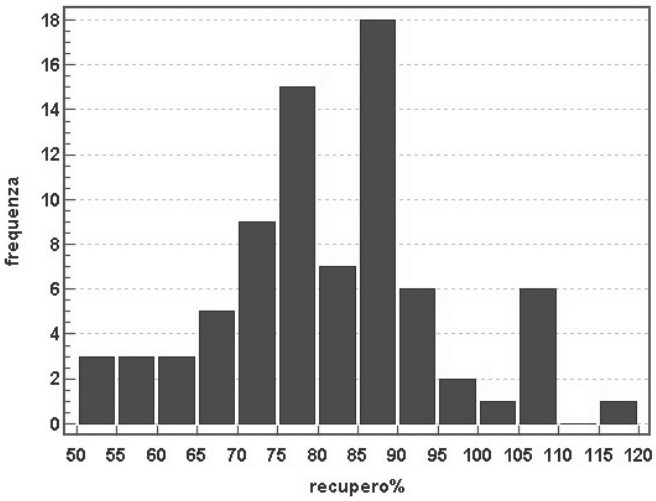
Materiali e Metodi: in 19 campioni di plasma (Li-Eparina) è stata determinata la TnI, con i reagenti cTnI-ultra (Bayer, Milano), eseguendo 10 replicati nella stessa seduta analitica. La concentrazione media dei campioni è risultata tra 0.011 ng/mL e 0.175 ng/mL. Il valore di TnI corrispondente al 99°le, determinata analizzando 247 campioni di soggetti presunti sani, è risultata di 0.07 ng/mL.
Risultati: i CV ottenuti sono compresi tra 4.6 e 53.3%
Conclusioni: la precisione del 10% corrisponde alla concentrazione di 0.07 ng/mL, che è quella del 99°le, e quindi il metodo risulta adeguato per la diagnostica dell'IMA.

G-03

VERIFICA DELLA SENSIBILITÀ DEL SISTEMA ADVIA CENTAUR ALLA MACROPROLATTINA

A. Fortunato, G. Secco, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia – Ospedale "San Bortolo" – Vicenza

Scopo del lavoro: la Prolattina (PRL) può essere presente sotto varie isoforme, la maggioranza delle quali è rappresentata isoforme ad alto PM (macroPRL). L'accumulo di queste isoforme, delle quali non è stata dimostrata una attività biologica, nel sangue comporta un aumento delle concentrazioni di PRL misurata, anche se la sensibilità verso queste molecole dipende dal sistema immunometrico impiegato. In questo studio abbiamo voluto verificare l'interferenza alle forme di macroPRL con il metodo in uso per la determinazione della PRL.



Materiali e Metodi: con il sistema ADVIA Centaur (Bayer, MI) 80 campioni di plasma, che alla prima determinazione hanno dato valori di PRL superiori all'intervallo di riferimento, sono stati analizzati dopo precipitazione con PEG e conseguente valutazione del recupero secondo il metodo descritto da R. John.
Risultati: il valore medio del recupero sui campioni analizzati è stato di 81.6% (min 50.9, max 116.7).
Conclusioni: per il gruppo di campioni considerato in nessun caso il recupero è stato inferiore al 40%. Solo in 6 casi su 80 (7.5%) era compreso tra il 40 ed il 60%. Si conferma la bassa sensibilità del metodo in esame alla interferenza da macroPRL e quindi, nella routine, può essere tralasciata la verifica del recupero dopo precipitazione con PEG.

OSMOLALITÀ PLASMATICA MISURATA VS CALCOLATA IN PAZIENTI UREMICI DURANTE DIALISI

G-04

D. Bennati 1, L. Rossi 2, L. Olivieri 2, O. Antelmo 2, C. Donadio 1
1Dip. Medicina Interna-Nefrologia, Università di Pisa, 2U.O. Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche 1, Az. Osp. Univ. Pisana

La misura dell'osmolalità plasmatica è importante per valutare il bilancio idroelettrolitico nei nefropatici e potrebbe essere utilizzata per verificare l'adeguatezza del trattamento emodialitico. Lo scopo dello studio è valutare la differenza tra osmolalità misurata (OM) e calcolata (OC) in pazienti uremici durante la seduta dialitica. Questo ci permette di avere un ampio spettro di valori di osmolalità su cui effettuare il confronto, in modo da testare l'accuratezza del valore di OC.
Materiali e metodi: abbiamo studiato 11 pazienti emodializzati cronici. Ciascuno è stato sottoposto a 6 prelievi ematici: all'inizio d ella seduta, alla fine di questa e a 4 tempi intermedi, di due differenti sedute di dialisi. Come controllo sono stati utilizzati 55 sieri di pazienti non uremici e non diabetici. Le OM sono state ottenute con osmometro Menarini OM6030, che misura l'abbassamento del punto di congelamento; le OC sono state calcolate dopo dosaggio Bayer-Advia 1650 di sodiemia (Na+), glicemia (Glu) e azotemia (N) secondo la formula utilizzata dal sistema analitico: OC[mOsm/kg]=1,86*Na+[mEq/L]+Glu/18[mg/dl]+N/6[mg/dl]+9
Risultati: i dati ottenuti dall'applicazione della formula correlano con OM in modo statisticamente significativo in dializzati e controlli, sebbene in questi ultimi la correlazione sia significativamente più stretta (r2=0,85 vs r2=0,55). Tuttavia i valori di OM e quelli di OC differiscono in modo significativo (OM > OC) sia nei dializzati (differenza media 14,7 mOsm/Kg; p< 0,0001) che nei controlli (differenza media 8,5 mOsm/Kg; p<0,005). I dializzati mostrano differenze tra OM e OC più marcate rispetto ai controlli, soprattutto all'inizio della dialisi.
Conclusioni: la differenza tra OM e OC (osmolal gap) è legata all'accumulo nel plasma di specie molecolari disciolte, non identificabili con OC. Questo perché i metodi indiretti calcolano l'osmolalità plasmatica sulla base della concentrazione plasmatica di pochi soluti. Nei pazienti emodializzati, la presenza di un eccesso di soluti di natura diversa, particolarmente durante le prime fasi di trattamento, riduce l'accuratezza della formula di calcolo dell'osmolalità. A questo si aggiunga la non rara associazione tra nefropatie e disordini del metabolismo glucidico, con necessità di avere valori affidabili di osmolalità nel corso di una sindrome iperosmolare conseguente. In conclusione, riteniamo che OC fornisca una stima sufficientemente valida dell'osmolalità plasmatica in condizioni standard, ma che la misura in pazienti in trattamento emodialitico dovrebbe essere e seguita in maniera diretta con un osmometro in grado di misurare l'abbassamento del punto di congelamento, oppure rivalutata la formula di calcolo.

VALUTAZIONE COMPARATIVA DI DUE METODICHE PER LA RICERCA DELLE IgM ANTI-HBc

G-05

L. Penzo 1, E. Orlandini 1, R. Badiale 1, E. Trabuio 1, S. Valverde 1, F. Antico 1, C. Galli 2, G. Caltran 3, G. Gessoni 1
1) Servizio Di Medicina di Laboratorio A-ULS 14 Chioggia, 2) Abbott Diagnostici Roma, 3) Medical System Genova.

Scopo del Lavoro: La ricerca degli anticorpi Anti-HBc di classe IgM è fondamentale nella diagnostica della infezione acuta da HBV. Da anni tuttavia si sono succedute segnalazioni della utilità del dosaggio delle IgM Anti-HBc a "basso titolo" nel monitoraggio delle infezioni croniche, in quanto la loro presenza si accompagnerebbe a fasi di immunoeliminazione. Nel presente studio abbiamo comparato due diversi metodi per la ricerca delle IgM Anti-HBc.
Materiali e Metodi: Abbiamo considerato 84 campioni di siero ottenuti da 11 pazienti con epatite cronica attiva (ECA) da HBV. Gli anticorpi Anti-HBc di classe IgM sono stati dosati utilizzando due differenti kit commerciali: Anti-HBc IgM Medical System (MS) su analizzatore Immulite 2000 e Anti-HBc IgM Abbott (AA) su analizzatore Architect. Il test MS esprime il risultato in UI/mL ed ha una sensibilità pari a 2 UI/mL ed una linearità sino a 1000 UI/mL. Il cut-off, nei soggetti con epatite acuta da HBV è pari a 10 UI/mL, da 2 a 10 UI/mL si considerano presenti IgM anti-HBc a basso titolo. Il test AA ha, nel caso di infezione acuta, un rapporto tra segnale del campione e valore soglia (S/CO) pari a 1.
Risultati: Utilizzando il test AA tutti i campioni presentavano una ratio compresa tra 0,05 e 0,90; utilizzando il test MS 49 campioni presentavano una concentrazione di IgM Anti-HBc <2 UI/mL, 27 tra 2,1 e 9,9 UI/mL e 7 >10 UI/mL. Impiegando come riferimento il test MS con un cutoff a 2 UI/mL, il valore S/CO per il test AA in grado di fornire i risultati più accurati, valutato mediante curva ROC, è risultato pari a 0,25: a tale soglia infatti il test Architect presentava il miglior bilanciamento tra sensibilità e specificità relative, pari entrambe al 94%, con un valore predittivo positivo del 91% ed un valore predittivo negativo del 96%. In queste condizioni la concordanza qualitativa (positivo-negativo) tra i due metodi era soddisfacente (IBC=0,92). Con entrambi i test delle fluttuazioni dei livelli di IgM erano rilevabili durante il follow-up (13-33 mesi) in 7 pazienti su 10.
Discussione e Conclusioni: La recente commercializzazione, da parte della MS, di un test quantitativo in grado di evidenziare le IgM Anti-HBc con elevata sensibilità e linearità permetterà un miglioramento dello studio della cinetica anticorpale nelle infezioni croniche da HBV. Noi abbiamo ritenuto di confrontare questo test con un test classico per la ricerca delle IgM Anti-HBc prodotto dalla ditta AA. Nella nostra esperienza il cut-off per lo studio delle IgM a "basso titolo" si situa ad una ratio di 0,2 , in queste condizioni sperimentali la correlazione tra i due metodi è assai buona in quanto la incidenza di ben classificati è 0,92.

G-06

CONFRONTO TRA DUE METODI PER LA DETERMINAZIONE DELLA FRUTTOSAMINA SERICA

S. Scala, P. Dal Checco, M. Tait, M. Daves, E. Peer, F. Rizza
Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano

Scopo: il dosaggio della fruttosamina, una proteina glicosilata, è utilizzato per il monitoraggio del diabete mellito. Abbiamo voluto confrontare due metodi analitici che utilizzano principi di reazione differenti.
Materiali e metodi: i due metodi di dosaggio confrontati nel nostro lavoro, sono un sistema enzimatico automatico "GlyPRO®" (Alifax) e un test cinetico colorimetrico con blu di nitrotetrazolio (Olympus). Il primo si basa sulla capacità della proteinasi K di scindere le proteine glicate, con liberazione di substrato per la chetoamino ossidasi e formazione di amino acidi, glucosone e perossido d'idrogeno; un cromogeno e la perossidasi determinano infine lo sviluppo di colore. Il second o si basa sulla capacità del glucosio legato alle proteine con legame chetoaminico di ridurre il blu di nitrotetrazolio in ambiente alcalino con formazione di colore. Il confronto è stato eseguito su 30 campioni di siero ricavati dalla routine. I dosaggi sono stati eseguiti con l'analizzatore Olympus AU2700.
Risultati: metodo Olympus: valori compresi tra un minimo di 201 micromol/L e un massimo di 515 micromol/L, mediana 256,5, media (m) =276.9 e deviazione standard (DS) 73.88; metodo GlyPRO®: valori compresi tra 133 e 430, mediana 186.5, m=220.4 e DS=79.8. La regressione secondo Passing-Bablock ha fornito i seguenti risultati: Olympus = 125.579 + 0.684 GlyPRO. Il Plot secondo Bland-Altman evidenzia una differenza percentuale media del 25%, con i due metodi in esame che presentano differenze di concentrazioni misurate ampiamente disperse in un ambito compreso tra -11% e +61% (.± 1 DS).
Discussione e conclusioni: dai dati ottenuti risulta che per il dosaggio della fruttosamina i due metodi non sono sufficientemente correlabili, i risultati appaiono metodo-dipendente. Per monitorizzare al meglio la malattia diabetica mediante la determinazione della fruttosamina è necessaria una buona riproducibilità nel tempo dei valori misurati, obbiettivo che può non essere raggiunto utilizzando metodi di dosaggio differenti.

G-07

STUDIO COMPARATIVO DI ACCURATEZZA ANALITICA TRA L'ANALIZZATORE EMATOLOGICO DI LABORATORIO CELL – DYN 3200 E L'ANALIZZATORE IN POCT MEDONIC CA 620

F. Cucchiaro, M. Forgiarini, F. Benedetto Tiz, A. Venchiarutti, N. Bizzaro
Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Gemona del Friuli

Scopo dello studio. L'inserimento di un POCT presso l'Area di Emergenza dell'Ospedale di Gemona ha reso necessaria una valutazione dell'accuratezza analitica del nuovo strumento ematologico presente in POCT (Medonic CA 620, Menarini, Firenze) e del grado di correlazione con lo strumento di diagnostica ematologica utilizzato in Laboratorio (Cell – Dyn 3200, Abbott, Roma).
Metodi.Sono stati esaminati complessivamente 100 campioni di sangue raccolti in EDTA-K2. Sono stati presi in considerazione 11 parametri: RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, WBC, granulociti, linfociti, monociti e p iastrine. I campioni sono stati selezionati in modo da avere per ognuno degli 11 parametri un numero significativo di valori normali, di valori patologici bassi e di valori patologici alti. I test sono stati effettuati in condizioni standard, durante la normale attività diagnostica d'urgenza. Poiché lo strumento Cell Dyn 3200 fornisce una formula leucocitaria a 5 popolazioni (neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili e basofili) e lo strumento Medonic una formula a 3 popolazioni (granulociti, linfociti e mid-cells), per poter comparare i dati ottenuti si è sommato il numero di neutrofili, eosinofili e basofili ottenuti con il Cell-Dyn 3200 e lo si è comparato con la voce granulociti ottenuta dal Medonic; allo stesso modo, si è comparato il numero dei monociti ottenuti con il Cell-Dyn 3200 con le mid–cells ottenute con il Medonic. Quest'ultima comparazione non è esattamente sovrapponibile dal momento che nella popolazione delle mid-cells possono essere variam ente inclusi sia grandi linfociti che granulociti ipo o non segmentati. L'analisi statistica è stata effettuata mediante il test a due code di Spearman per dati appaiati.
Risultati. Tutti i parametri ematologici più importanti hanno dimostrato un elevato indice di correlazione che è risultato superiore al 99% per RBC, Hb, Ht, MCV, WBC e granulociti. Il conteggio dei monociti, pur evidenziando una correlazione significativa, per i motivi sopracitati ha ottenuto un indice di correlazione discreto (0.50) e non ottimo come gli altri parametri. In soli tre casi non è stato possibile ottenere i dati relativi alla formula leucocitaria con lo strumento Medonic: in 2 casi di leucemia linfatica cronica per eccesso di WBC e in 1 caso per la presenza di un elevato numero di granulociti immaturi (band cells) documentato al microscopio.
Conclusioni. Lo strumento ematologico Medonic CA 620 di recente produzione e concepito per l'esecuzione di esami in POCT, associa all a semplicità d'uso e alla scarsa manutenzione, una ottima comparabilità con la strumentazione già in uso presso il nostro laboratorio.

STRATEGIA DIAGNOSTICA NELL' EMBOLIA POLMONARE: UNA PROPOSTA BASATA SULLA COMBINAZIONE D-DIMERO-PROBABILITA' CLINICA PRE-TEST

G-08

F. Antonelli*, L. Masotti, L. Villani*, G. Landini****
*U.O. Laboratorio Analisi chimico Clinico e Microbiologiche Ospedale di Cecina (Li);
**U.O. Medicina Interna Ospedale di Cecina (Li); Azienda Sanitaria USL 6 Livorno

Scopo. L'embolia polmonare rappresenta una patologia frequente ma spesso non diagnosticata, soprattutto in pazienti anziani. Negli ultimi anni sono state proposte interessanti strategie diagnostiche; in particolare la diffusione di test più affidabili per la determinazione del D-Dimero ha permesso di valorizzare al meglio scores per la valutazione della probabilità clinica pre-test (PTP).
Materiali e metodi. In collaborazione con i colleghi del Reparto di Medicina Interna, il Laboratorio dopo un'appropriata sperimentazione suffragata da recente letteratura in merito, ha deciso di utilizzare per la determinazione del D-Dimero la metodologia Bio Merieux applicata al sistema VIDAS (D-Dimer Exclusion) un test ad alto potere predittivo negativo (un valore inferiore al cut off permette la quasi assoluta certezza dell'assenza di malattia tromboembolica venosa nei soggetti con bassa-intermedia PTP).
Risultati Per la valutazione di questo test in accordo ai clinici sono stati selezionati casi come da protocollo permettendo di ottenere dati laboratorio in completo accordo a quanto segnalato in letteratura con lo stesso metodo; pertanto dopo questa verifica si è ritenuto opportuno proporre nel nostro Presidio Ospedaliero l'attuazione dei protocolli di seguito elencati.

Strategie diagnostiche nell'EP
• Anamnesi, valutazione obiettiva ed esami di primo livello (ECG, EGA, RX Torace) di sospetto
• Probabilità clinica pre-test
• Esami strumentali di conferma
Probabilità clinica pre-test proposta
Score di Wells e/o • Score di Ginevra
Conclusioni
La diagnosi di EP. rimane ancora oggi una sfida nella pratica clinica. L'utilizzo appropriato di metodiche diagnostiche affidabili e protocolli di probabilità clinica pre test appropriati, può ridurre il numero di falsi negativi e positivi e contenere i costi. L'obiettivo futuro sarà quello di verificare l'affidabilità clinica della nostra proposta.

CON L'ELETTROFORESI CAPILLARE ZONALE SI OSSERVA UN MAGGIOR NUMERO DI CAMPIONI CON FUSIONE β-γ RISPETTO ALL'ELETTROFORESI SU GEL D'AGAROSIO

G-09

L. Cinquanta, A. D'Andria
Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona, Salerno

Scopo del lavoro. L'applicazione della elettroforesi capillare zonale(CZE)all'analisi di routine delle sieroproteine ha richiesto lo sviluppo di particolari tamponi e di un complesso programma informatico per generare un quadro di picchi analogo a quello prodotto dal tracciato densitometrico dell'elettroforesi su gel d'agarosio (AGE) ad alta risoluzione. Nonostante sia accettato, in generale, che i risultati ottenuti sono comparabili, in definite situazioni persistono alcune differenze nell'interpretazione soggettiva dei profili generati dai due metodi. In particolare, dopo aver rilevato in via preliminare un aumento dei casi di fusione β-γ con CZE , abbiamo voluto verificare se il loro rinvenimento fosse da mettere in relazione ad un incremento policlonale di IgA e di IgM e valutare la ricaduta, per quel che riguarda l'informazione diagnostica, dell'osservazione acquisita.
Materiali e Metodi. Sono stati analizzati con entrambe le tecniche elettroforetiche 15 campioni di siero, 10 con concentrazioni moderatamente aumentate di IgA e 5 di IgM, rispetto agli intervalli di riferimento del nostro laboratorio. La CZE è stata eseguita con il sistema dedicato Capillarys Sebia ed i relativi reagenti di supporto, mentre per la AGE è stato utilizzato il sistema semi-automatico Hydrasys Sebia ed il kit Hydragel 15 HR cod.4122. Il profilo generato da ciascun metodo è stato valutato in modo indipendente e comparato.
Risultati. In 11 campioni dei 15 esaminati la CZE ha rilevato la presenza di fusione β-γ, mentre con l'AGE in soli 3 casi θ stata rinvenuta fusione β-γ.
Discussione e Conclusioni. La presenza di f usione β-γ θ solitamente dovuta ad un aumento policlonale della concentrazione di IgA o di IgM, che hanno una mobilità elettroforetica più anodica rispetto alle IgG. E' particolarmente difficile rilevare piccole quantità di componenti monoclonali (CM) che migrano nelle regioni² a causa della presenza delle proteine β1 (transferrina) e β2 (C3). Di conseguenza, quando è presente un aumento della regione β totale, che non si spiega con l'osservazione di un ponte β-γ associato con un aumento policlonale delle IgA o delle IgM, si effettua un'immunofissazione. La fusione β-γ fornisce una chiara indicazione di policlonalità e riduce quindi la necessità di eseguire la immunofissazione in questa situazione. Con la CZE è più agevole l'osservazione del ponte ²-γ e l'immunofissazione rimane indicata solo per i casi in cui si osserva un aumento delle IgA o delle IgG in assenza di fusione β-γ.

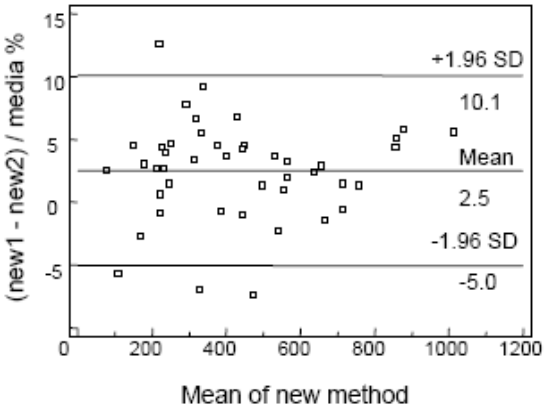
Bibliografia essenziale
- Jolliff CR, et al. Compariso n of serum protein electrophoresis by agarose gel and capillary zone electrophoresis in a clinical setting. Electrophoresis. 1997 Sep;18(10):1781-4.

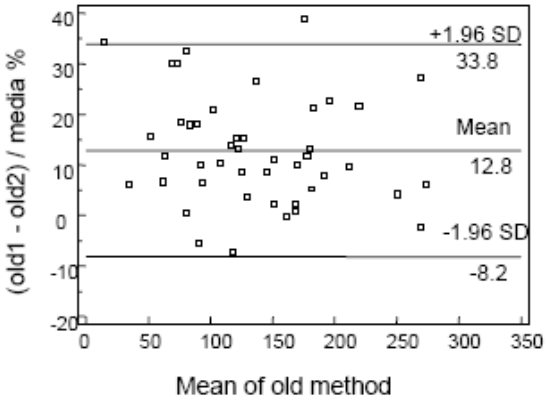
G-10

MAGGIORE PRECISIONE DELLA METODICA "ENHANCED" ADVIA CENTAUR PER CORTISOLO URINARIO

S. Meneghelli, R.M. Dorizzi, M. Filippini, M. Rocca, P. Rizzotti
Laboratorio Analisi, OCM, AO Verona

Scopo del lavoro. L'Azienda Bayer ha comunicato che dal 1 agosto 2006 sarà disponibile una nuova formulazione del metodo cortisolo che ha "migliorato il CV%". Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare l'informazione per quanto riguarda la determinazione del cortisolo urinario.
Materiali e Metodi. La concentrazione di cortisolo è stata misurata in doppio in 45 campioni di urine provenienti dalla routine impiegando l'analizzatore Advia Centaur (Bayer Diagnostics) e sia i reagenti forniti da Bayer fino al 31 luglio 2006 (OLD) sia quelli forniti dopo il 1 agosto 2006 (NEW). La confrontabilità è stata valutata utilizzando gli standard EP-9 A ed EP 21-A (CLSI, Wayne, USA).
Risultati. Il Bland-Altman plot mostra la maggiore precisione nel metodo NEW rispetto al metodo OLD (Figura). Il metodo NEW rispetto all'OLD ha presentato le seguenti prestazioni: Regressione di Passing e Bablok; y=-0.533 + 1.0336x vs y = -4.3177 + 0.9315; coefficiente di correlazione: r= 0.9978 (IC95%: 0.9959-0.9988) vs 0.9695 (IC95%: 0.9449-0.9832).
Discussione e conclusioni. Il metodo NEW per il cortisolo urinario su ADVIA Centaur dimostra una maggiore precisione rispetto al metodo OLD; possiamo pertanto concludere che la riformulazione del metodo ne ha migliorato le prestazioni.



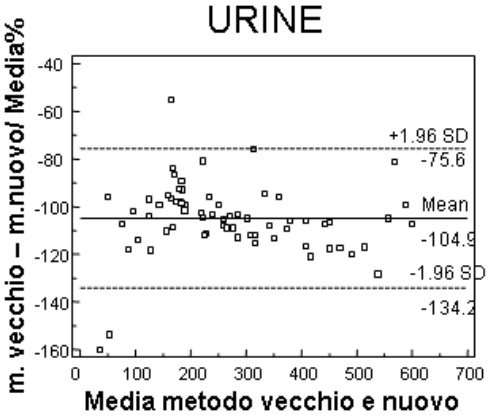


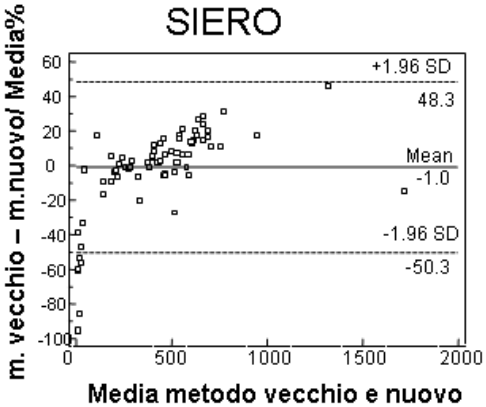
G-11

NON CONFRONTABILITA' DEI RISULTATI DELLA METODICA "ENHANCED" ADVIA CENTAUR PER CORTISOLO URINARIO CON QUELLI DELLA METODICA "NON ENHANCED"

S. Meneghelli, R.M. Dorizzi, B. Caruso, A. Ferrari, N. Melloni, P. Rizzotti
Laboratorio Analisi, OCM, AOVerona

Scopo del lavoro. Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare l'informazione per quanto riguarda la nuova formulazione della metodica per la determinazione del cortisolo su ADVIA Centaur fornita dall'Azienda Bayer (078D469-01 del 29/3/2006).
Materiali e Metodi. La concentrazione di cortisolo è stata misurata in 67 campioni di urine (U) ed 83 campioni di siero (S) provenienti dalla routine impiegando l'analizzatore Advia Centaur (Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY) e sia i reagenti forniti da Bayer fino al 31 luglio 2006 (OLD) sia quelli forniti dopo il 1 agosto 2006 (NEW).
Risultati. Il Bland-Altman plot mostra che la confrontabilità del metodo NEW rispetto al metodo OLD nei campioni di siero è molto maggiore rispetto a quelli di urine (Figura). Il metodo NEW rispetto all'OLD ha presentato le seguenti prestazioni: Regressione di Passing e Bablok; U-NEW=-43.81 + 3.563 U-OLD vs S-NEW = 36.58 + 0.822 S-OLD; coefficiente di correlazione: S:r= 0.9466 (IC95%: 0.9184-0.9652); U r= 0.9368 (IC95%: 0.8988-0.9608).
Discussione e conclusioni. Il metodo NEW per il cortisolo urinario su ADVIA Centaur dimostra un comportamento del tutto diverso a quello del siero e richiede un nuovo intervallo di riferimento.





CONFRONTO TRA PROVETTE EPARINATE CON GEL SEPARATORE PER TEST DI CHIMICA ED IMMUNOCHIMICA

G-12

D. Giavarina, D. Urbani, G. Rossettini, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

Scopo del Lavoro. Il plasma è sempre più utilizzato nei settori di chimica, specie nei servizi d'urgenza, per i vantaggi sui tempi e sulla riduzione delle problematiche da fibrina. Nelle situazioni di consolidamento tra chimica ed immunochimica, il plasma comincia ad essere proposto anche per dosaggi immunometrici. L'utilizzo contemporaneo di gel separatori introduce ulteriori vantaggi, relativi alla stabilità del campione nel tempo e alla possibilità di conservazione in tubo primario. Sono state segnalate possibili interferenze da plasma o da gel, specialmente per alcuni test immunochimici. Abbiamo valutato la confrontabilità tra due tipi di queste provette.
Materiali e metodi. 10 campioni di adulti volontari sani sono stati raccolti in due tipi di provette epariniznate, 13x 100 mm, 5 mL: BD PST™ II (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ USA) e VACUETTE® *Plasma Tubes with Gel* (Greiner Bio-One, Kremsmuenster, Austria). Sono state misurate le concentrazioni dei costituenti elencati nei risultati, su strumentazione ADVIA 2400 per i metodi chimici ed ADVIA CENTAUR per i metodi immunochimici (Bayer, Terrytown, USA).
Risultati. I bias (BD - Greiner) sono risultati (media ± SD):Ferro (µg/dL) -0,17 (±1,80); Transferrina (mg/dL) 1,75 (±7,66); Ferritina (ng/mL) 3,17 (±3,64); Acido Urico (mg/dL) 0,03 (±0,06); Vitamina B12 (pg/mL) -0,50 (±23,83); Proteine totali (mg/dL) -0,03 (±0,05); Albumina (mg/dL) 0,00 (±0,04); Urea (mg/dL) 0,92 (±1,00); Creatinina (mg/dL) 0,03 (±0,05); Glucosio (mg/dL) 2,25 (±4,79); Trigliceridi (mg/dL) -0,08 (±2,15); Colesterolo totale (mg/dL) -0,58 (±2,78); LDL-Colesterolo (mg/dL) -0,75 (±3,31); HDL-Colesterolo (mg/dL) 0,25 (±1,29); Omocisteina (µmol/dL) -0,10 (±1,45); Calcio (mg/dL) 0,08 (±0,14); Fosforo (mg/dL) 0,15 (±0,12); Magnesio (mg/dL) -0,09 (±0,30); Sodio (mmol/L) 0,83 (±0,94); Potassio (mmol/L) 0,13 (±0,20); cloro (mmol/L) 4,00 (±6,18); Bilirubina totale (mg/dL) -0,02 (±0,06); AST (U/L 37°C) 0,25 (±1,22); ALT (U/L 37°C) 1,00 (±1,04); GGT (U/L 37°C) -0,67 (±3,31); ALP (U/L 37°C) 1,00 (±3,41); LDH (U/L 37°C) 44,27 (±20,13); CK (U/L (37°C)) 0,27 (±4,27); Mioglobina (ng/mL) -0,08 (±1,62); Troponina (ng/mL) 0,00 (±0,00); Amilasi Pancreatica (U/L 37°C) 2,25 (±6,43); CA125 (U/mL) 0,08 (±0,79); CA153 (U/mL) -5,08 (±7,46); alfa Fetoproteina (ng/mL) -0,23 (±0,37); CA199 (U/mL) 3,36 (±2,58); fT3 (pg/mL) -0,01 (±0,07); fT4 (ng/dL) -0,01 (±0,05); TSH (mUI/L) -0,11 (±0,23); FSH (mUI/mL) 0,19 (±0,72); LH (mUI/mL) 0,77 (±1,23); Estradiolo (pg/mL) 2,27 (±9,40); Progesterone (ng/mL) 0,00 (±0,07);
Discussione. Le differenze tra le due provette appaiono non significative, con l'eccezione della Lattico Deidrogenasi. Da prove contro siero (dati non riportati) si ipotizza una sovrastima con provette BD. Complessivamente e integrando un precedente lavoro (Riv Med Lab 2004;3:269), le provette eparinate con gel separatore possono, in linea generale, essere utilizzate alternativamente, con alcune eccezioni che debbono essere valutate di volta in volta, rispetto ai metodi di misura utilizzati.

VALUTAZIONE TEST ASO LATEX DI SENTINEL DIAGNOSTICS IN APPLICAZIONE SU VITROS 5.1/FS (ORTHO DIAGNOSTICS) NEL SIERO E NEL PLASMA UMANI

G-13

G. Cocchi, E. Bernardi, E. Galletti, B. Milanesi
Laboratori di Patologia Clinica - A.O. Desenzano del Garda (BS) - PP.OO.: Desenzano-Lonato, Manerbio-Leno, Gavardo-Salò. Direttore: Prof. Bruno Milanesi

Scopo: lo scopo dello studio è stato quelli di valutare le prestazioni analitiche del Vitros 5.1/FS nei dosaggi immunoturbidimetrici, applicando la metodica manuale ASO Latex di Sentinel Diagnostics, sfruttando la possibilità offerta dalla strumentazione di implementare metodiche libere.La valutazione eseguita trova la sua finalità nell'ipotesi di consolidare su un'unica strumentazione sia la biochimica che i dosaggi delle proteine plasmatiche, in modo da trasferire test attualmente effettuati su Nefelometro in altro laboratorio aziendale. Questo consentirebbe di razionalizzare la gestione dei campioni e il TAT complessivo nell'ottica del miglioramento dell'intera routine, con minimizzazione della movimentazione di aliquote di sieri, del rischio d'errore, dell'impegno di personale e dei costi di gestione.
Materiali e metodi: è stato valutato il test ASO Latex di Sentinel Diagnostics in applicazione su Vitros 5.1/FS di Ortho Clinical Diagnostics. La correlazione è stata fatta vs. Nefelometro Dade-Behring BNAII. La valutazione ha comportato le seguenti prove: precisione, accuratezza, linearità, stabilità calibrazione, correlazione.
Risultati: i risultati ottenuti dimostrano un'ottima correlazione con il metodo di riferimento in nefelometria [r = 0.99; Y(BNA) = 1.04 X (Vitros) + 4,27; n = 56 (range 51-1750 UI/ml)]. Precisione Intra-serie (n = 20): (con Xmedio = 122 il CV% = 2.2 e con Xmedio = 341 il CV% = 1.26). Precisione Inter-serie (n = 2/day x 10): (con Xmedio = 115 il CV% = 2.43 e con Xmedio = 324 il CV% = 2.58). La linearità del metodo è stata accertata per diluizioni fino 1:32 con concentrazione iniziale pari a 326 UI/ml. Stabilità della calibrazione a 29 e 43 gg.: nessuna variazione significativa. Questi risultati sono uguali o migliori di quelli dichiarati dal produttore per la metodica in manuale.
Conclusioni: la valutazione eseguita ha dimostrato che il sistema Vitros 5.1/FS, pur essendo un analizzatore dedicato alla grossa routine di laboratorio, risulta di semplice utilizzo e facile apprendimento per quanto riguarda l'implementazione di test aggiuntivi, permettendo la completa personalizzazione dei metodi e garantendo un'ottima correlabilità con gli standard di riferimento. A fronte di questi risultati è possibile ipotizzare un consolidamento dei test eseguiti in nefelometria su questo strumento al fine di ridurre i costi operativi e ottimizzare l'intero processo lavorativo.

MODALITA' DI ESECUZIONE DELL'ESAME COMPLETO DELLE URINE

G-14

A. Pesenti, S. Mitraglia, B. Milanesi
AOD Desenazno s/G – Laboratorio Analisi Ospedale di Manerbio

Scopo: migliorare la performance qualitativa tenendo conto dei fattori tempo e risorse umane; valutare il rapporto costo-beneficio per l'esame chimico-fisico + sedimento dell'esame urine mediante l'adozione di un filtro per escludere i campioni negativi; valutare la possibilità di discriminare ematurie di tipo urologico da quelle di natura nefrologica.
Materiale: strumento Aution-max + striscie 10 parametri (Menarini). Citofluorimetro UF-100 (Sismex Toa, Dasit). Campioni di urina consegnati al laboratorio nell'anno 2005 (circa 55.000).
Metodo: esecuzione preliminare di esame chimico-fisico multiparametrico e lettura strumentale dell'aspetto e del colore dell'urina. Applicazione di un filtro che includesse come positivo un campione che soddisfacesse almeno una delle seguenti condizioni: aspetto velato o torbido; pH ≥ 8.0; proteine > 20 mg/ml; Hb = presente; esterasi leucocitaria = presente; nitriti = presenti. Passaggio in sequenza dei rack contenenti tutte le provette, dotate di bar-code prima sull'Aution-max e poi sull'Uf-100 (le informazioni passano direttamente dal computer gestionale dell'Aution-max -a sua volta interfacciato con l'Host- all' UF-100). Quest'ultimo analizza i campioni positivi (inclusi nel filtro attivato) sia leggendo il bar-code sia tenendo conto di N° di rack e posizione sullo stesso. I risultati dell'esame citofluorimetrico ritornano al computer dellAution-max dove vengono trasformati, attraverso una scala personalizzata, in risultati semiquantitativi (numero di elementi per campo microscopico). Nella stessa videata è possibile vedere i dati anagrafici del paziente, il risultato dell'esame chimico-fisico e il risultato della lettura del citofluorimetro. Questa visualizzazione, attraverso l'evidenziazione in rosso delle discordanze tra i due esami consente al Laureato del Settore di validare l'esame nel suo complesso o decidere di dover approfondire l'indagine con una lettura microscopica.
Risultati: è stato possibile ridurre il numero di sedimenti visti al microscopio a circa il 10% dei totali (20 sedimenti su 200 campioni routinari).
Discussione: tale modalità consente di refertare in breve tempo e di selezionare i campioni da sottoporre ad approfondita visione microscopica, per valutare la morfologia degli elementi (es. emazie dismorfiche, acantociti). Il tempo dedicato alla manipolazione del campione, alla centrifugazione e preparazione dei vetrini viene minimizzato. L'esecuzione dell'esame completo dell'urina diviene "pulita" perché completamente eseguito da strumentazioni automatiche ottenendone anche una standardizzazione. Dal punto di vista economico il costo delle macchine e dei reattivi (entrambi in service) è coperto dal rimborso a tariffario. Si recupera invece il costo manodopera (almeno 4 ore di lavoro tecnico e 2 di lavoro laureato).

CTNI LOW-END PRECISION PROFILE

G-15

E. Migali, M. Lisi, M. Magnani
Dipartimento Patologia Clinica, ASL 8 – Arezzo

Scopo del Lavoro. Lo scopo del lavoro è quello di trovare il "Limite Decisionale", che rispetti le direttive delle linee guida ESC/AAC/AHA per il metodo CTNI, nelle condizioni operative dei due laboratori dell'ASL 8 sui due strumenti attualmente presenti (Dimension-X-PAND e Dimension RXL-MAX della ditta Dade).
Materiali e Metodi. Nel rispetto del protocollo EP-5 dell'NCCLS sono state eseguite su entrambe le strumentazioni oltre alle normali manutenzioni previste dal Manuale dell'Operatore, i test di calibrazione/revisione della calibrazione, di controllo di qualità con i sieri Liquichek C.M.T.(ditta Biorad), di sensibilità analitica e di precisione nella serie e tra le serie (mattina-pomeriggio) utilizzando un pool di sieri umani preparati e dosati in laboratorio. La concentrazione dei tre pool dosati era 0,08/0,12/0,16. Il reagente utilizzato per le determinazioni è CTNI (ditta Dade).
Risultati e conclusioni. Nella tabella sono espressi i risultati dei test effettuati solo sullo strumento Dimension-X-PAND. Sono in corso di esecuzione gli stessi test sul Dimension-RXL-MAX. In base ai dati possiamo dire che nelle normali condizioni operative per lo strumento Dimension-X-PAND già alla concentrazione di 0,08 ng/mL la precisione è nei limiti proposti dal documento della ESC/AAC/AHA (≤ 10% CV), utilizzabile come Limite Decisionale.

PROVE ANALITICHE	*MEDIA*	*DS*	*CV %*
Sensibilità analitica (chemestry wash)	0,0025	0,0044	
CQI BioRad Livello 1	0,2285	0,0214	9,378
CQI BioRad Livello 2	0,7785	0,0623	8,011
Precisione nella serie (Pool 1)	0,0990	0,0096	9,7760
Precisione tra le serie-M (Pool 1)	0,0787	0,0082	10,4427
Precisione tra le serie-P (Pool 1)	0,0860	0,0095	11,1090
Precisione nella serie (Pool 2)	0,1185	0,0087	7,3840
Precisione tra le serie-M (Pool 2)	0,1175	0,0119	10,1500
Precisione tra le serie-P (Pool 2)	0,1220	0,0104	8,5460
Precisione nella serie (Pool 3)	0,1630	0,0152	9,3570
Precisione tra le serie-M (Pool 3)	0,1610	0,0119	7,4160
Precisione tra le serie-P (Pool 3)	0,1630	0,0124	7,6340

Tabella: Prove analitiche relative al test CTNI effettuate sullo strumento Dimension-X-Pand

G-16

VALUTAZIONE CMV IGM DI RECENTE INTRODUZIONE SU IMMULITE 2000 (MEDICAL SYSTEMS) E STUDIO DI CORRELAZIONE CON CMV IGM SU COBAS CORE II (ROCHE DIAGNOSTICS)

E. Bernardi, M. Pedroni, G. Cocchi, C. Ballerini, B. Milanesi
Laboratori di Patologia Clinica - A.O. Desenzano del Garda (BS) - PP.OO.: Desenzano-Lonato, Manerbio-Leno, Gavardo-Salò. Direttore: Prof. Bruno Milanesi

Scopo: la finalità ad operare per il miglioramento della Qualità globale dell'Organizzazione dei Laboratori Aziendali, minimizzando l'impegno di personale e i costi di gestione mantenendo inalterata la qualità del dato, ci ha indotti ad implementare su Immulite 2000 (prodotto da DPC, distribuito da Medical Systems), sul quale già venivano effettuati dosaggi ormonali e marcatori tumorali, le ricerche anticorpali del complesso ToRCH prima eseguite su Cobas Core II della Ditta Roche Diagnostics. La comparazione tra i due strumenti eseguita per valuta re la validità analitica dei test su Immulite 2000 ha fornito risultati sovrapponibili a quelli segnalati sulle schede tecniche dei metodi; abbiamo pertanto limitato l'esposizione ai risultati del test CMV IgM poiché di recente disponibilità.
Materiali e metodi: i campioni scelti sono stati divisi in quattro gruppi secondo protocollo DPC: 1°- 286 sieri di donne gravide scelti a caso, esaminati per CMV IgM su Immulite vs. Cobas Core. I risultati discrepanti riesaminati con Vidas (BioMérieux). 2°- 34 campioni retrospettivi con IgM positive da infezione acuta da CMV preselezionati con Cobas Core, testati con Immulite 2000; i risultati discrepanti rianalizzati con entrambi i metodi. 3°- 63 sieri retrospettivi con IgG positive, IgM negative preselezionati con Cobas Core. 4°- 20 sieri con presenza di fattore reumatoide, 20 campioni positivi per IgM di EBV e Toxo. E' stata calcolata: la concordanza tra metodi, la specificità, la sensibilità relativa, i valori predditivi positivi e negativi. I campioni positivi per fattore reumatoide ed EBV-Toxo IgM sono stati valutati separatamente in uno studio delle interferenze.
Risultati: il nuovo kit CMV IgM DPC ha rivelato vs. Cobas Core: agreement 98,7%, sensibilità relativa 87,5%, specificità relativa 100%, PPV 100%, NPV 98,6%.
Conclusione: possiamo concludere che le performance analitiche dei due Sistemi si sono dimostrate sovrapponibili, entrambe validi per lo sceening di primo livello; inoltre l'alta produttività e l'accesso continuo del Sistema Immulite 2000, ci ha permesso di: abbassare il TAT complessivo, razionalizzare la gestione campioni, migliorare l'intero processo operativo.

G-17

ALBUMINA MODIFICATA DALL'ISCHEMIA?

C. Lo Cascio, C. Cocco, N. Zanella, M. Bertolani, P. Rizzotti
Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, OCM, Verona

Scopo del lavoro. Il dosaggio dell'albumina modificata dall'ischemia (IMA) è basato sul presupposto che in seguito a ischemia l'albumina circolante subisca delle modificazioni strutturali che ne diminuiscano la capacità di legame con il cobalto. Nel test una soluzione di cloruro di cobalto viene aggiunta al campione, dopo incubazione il cobalto libero viene misurato colorimetricamente e il risultato viene refertato come IMA. Nell'ambito della possibile applicazione di un pannello di marcatori in pazienti con sindrome coronarica acuta, sono state analizzate più in dettaglio le caratteristiche tecniche del metodo.
Materiali e metodi. Kit per determinazione di IMA (IMA, inverness medical) applicato su Roche COBAS MIRA plus; sieri di 78 soggetti sani; r eagenti Dade behring per determinazione di albumina (ALB) e proteine totali (TP) su Dimension RXL®; albumina umana (Kedrion).
Risultati. I controlli interni rispettano le indicazioni della ditta come valore e variabilità e, testati, risultano contenere albumina (da 15 a 25 g/L) e proteine totali (da 22 a 37 g/L).
La distribuzione dei valori di IMA (U/mL) nei soggetti di controllo è: 5° percentile 79, mediana 91, 95° percentile 99. La determinazione di IMA in diluizioni scalari di albumina (9-66 g/L) ha dato una risposta lineare: $y = -2.27x + 155$ $R2=0.97$ e valori di IMA da 166 a 18 U/mL.
La correlazione tra IMA e albumina nei campioni è: $y = -0.25x + 64$ $R2=0.40$
Discussione e Conclusioni. I valori della nostra popolazione di riferimento non corrispondono a quelli citati dalla metodica, presentano una scarsa dispersione e nel 20% dei casi sono superiori al 95° percentile indicato (85 U/mL). La dipendenza del valore di "IMA" dalla concentrazione di albumina è evidente nelle diluizioni di albumina, e anche diluizioni scalari dei campioni portano ad un risultato simile. Nei campioni, inoltre, si osserva una correlazione tra IMA e albumina, anche se diversa dalla precedente.
Dalla descrizione del produttore del reattivo si ricava che il calibratore consiste in EDTA a concentrazioni scalari e che i controlli contengono proteine umane non meglio specificate, come in effetti da noi riscontrato.
A nostro parere, si dovrebbe almeno conoscere quanto cobalto lega l'albumina in condizioni native, conoscere la concentrazione di albumina del campione e da questo valutare se il risultato ottenuto implica una modificazione del legame dovuta ad ischemia.
In conclusione, forse per la difficoltà nel definire e isolare l'albumina modificata dall'ischemia, la corrispondenza dei risultati con la concentrazione di tale analita nel campione è quantomeno dubbia e difficilmente verificabile.

G-18

DOSAGGIO DELLA CICLOSPORINA CON METODICA "EXTENDED" VALUTAZIONE PRELIMINARE

C. Lo Cascio, M. Bertolani, C. Cocco, P. Rizzotti
Laboratorio di analisi chimico cliniche ed ematologiche, OCM Verona

Scopo del lavoro. E' stato da poco commercializzto da parte delle ditta Dade Behring, il metodo "ciclosporina extended" (CSAE) per il dosaggio senza diluizione dell'analita ciclosporina nell'intervallo 350 - 2000 ug/L. Tali valori si ttengono solitamente a 2 ore dalla somministrazione del farmaco, il momento più adatto per la valutazione della dose terapeutica appropriata. Su un contenuto numero di campioni provenienti dal lavoro quotidiano, abbiamo valutato preliminarmente tale test, la sua applicabilità e la sua correlazione con i valori forniti dal test ciclosporina attualmente in uso (CSA) che ha un intervallo di misura 25-500 ug/L e che quindi prevede la diluizione manuale del campione con valori >500ug/L.
Materiali e Metodi. Reattivi CSAE e CSA (Dade Behring) applicati su Dimension Rxl Max.
34 campioni provenienti della routine quotidiana, processati il giorno dell'invio al laboratorio, testati con entrambi i metodi.
Risultati. I controlli interni sono risultati nei valori attesi con un CV di 5,1% a 386ug/L e 5.7% a 741ug/L. La correlazione globale tra CSAE e CSA è la seguente y = 0.95x + 115 r2=0.92. Suddividendo i valori in base alla diluizione 1:2 o 1:4 del campione dosato con metodo CSA si ottengono le seguenti correlazioni: con diluizione 1:2 y = 0.99x + 56 r2=0.96 ; con diluizione 1:4 y = 0.86x + 241 r2=0.9. Dall'analisi delle differenze risulta una sovrastima media di CSAE rispetto a CSA del 9% che diventa del 17% per i campioni diluiti 1:4. Esaminando le differenze fra campioni diluiti 1:2 e 1:4 e testati con CSA si ottiene una sottostima dei valori con diluizione 1:4 rispetto a 1:2 con un bias medio di -22%.
Discussione e Conclusioni. Il 13% delle ciclosporine da noi dosate sono >500 ug/L e quindi al di fuori del range di misura del test CSA e tra queste il 3% sono superiori a 1000 ug/ e richiedono dunque una diluizione maggiore di 1:2. Nella pratica quotidiana viene usata una diluizione 1:2 o 1:4 per i campioni che si suppone possano uscire dall'intervallo di misura, e talvolta è necessario testare più volte il campione per poter rientrare nel range di linearità del metodo. In questi casi, il dosaggio mediante CSAE potrebbe presentare vantaggi in termini di rapidità di esecuzione. Dai dati preliminari analizzati CSAE presenta una maggiore precisione, mentre restano da valutare ulteriormente gli scostamenti tra i due dosaggi.

G-19

NEGATIVITA' DEGLI ANTICORPI ANTI GLIADINA (AGA) DI II GENERAZIONE IN BAMBINI ANTI ENDOMISIO (EMA) E ANTITRANSGLUTAMINASI (TTG) NEGATIVI

M.G. Alessio, *G. Torre, G. Munegato , M.d.C Baigorria Vaca, *M. Candusso, V. Carminati, §F. Negrini, M. Di Gristina, T. Benedetti, A. Bertoletti, F. Noris, C. Maestroni, A. Radaelli, C. Ottomano
UO Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, UO Pediatria e UO Gastroenterologia, AO Ospedali Riuniti di Bergamo

Sebbene EMA e TTG siano considerati i test a più sensibili e specifici per la diagnosi di malattia celiachia (MC), la determinazione degli AGA è ancora frequentemente richiesta , soprattutto nei bambini . In questi casi è di frequente riscontro una positività degli AGA (di solito IgG) pur con EMA e TTG negativi, con evidenti difficoltà diagnostiche. E' oggi disponibile un kit di II generazione per la ricerca degli AGA , che utilizza un peptide gliadinico di sintesi (PEQ) invece della molecola nativa, con miglioramento di sensibilità e specificità.. Noi abbiamo voluto confrontare la capacità del nuovo e del vecchio test AGA nell'escludere la malattia celiaca in bambini EMA e TTG negativi .
Materiali e Metodi. Abbiamo determinato gli AGA IgG ed IgA con kit di I e II generazione (INOVA, CA, USA) in 59 bambini (32 M e 27 F, range di età 11 mesi-17 anni) risultati EMA e TTG negativi e con bassa probabilità di MC.
Risultati. Con i kit di I generazione, 48/59 bambini (81,8 %) erano AGA IgG positivi ; degli 11 soggetti negativi, 10 erano > 2 anni e uno soltanto aveva meno di 2 anni; tutti e 59 erano Aga IgA negativi .
Nessuno dei 59 bambini risultava positivo alla ricerca degli AGA IgG di II generazione (p > 0.001) mentre uno solo (una femmina di 15 anni) mostrava un valore di IgA borderline (21.8 U, vn fino a 20U-zona grigia 20-30 U).
Conclusioni. I nostri dati mostrano come, allo stato attuale, gli AGA IgG risultino posi tivi in elevata percentuale in bambini EMA e TTG negativi ; tali positività scompaiono totalmente quando si utilizzi un kit di II generazione., che pertanto mostra di correlare molto bene con i test considerati come i "gold standard sierologici" per la diagnosi di MC. Nella nostra esperienza, nessuno dei 59 bambini EMA/TTG negativi risultava positivo alla ricerca degli AGA IgG con il test di II generazione. Questo risulta particolarmente utile in età pediatrica, dove una positività degli AGA in un sospetto clinico di malattia celiaca può creare difficoltà diagnostiche o determinare l'esecuzione di esami endoscopici impropri. Sebbene per ovvii motivi etici nessuno dei 59 soggetti studiati sia stato sottoposto a biopsia, l'elevata correlazione tra AGA di II generazione ed EMA/TTG rende estremamente improbabile la presenza di una malattia celiaca. Pertanto il test appare estremamente utile nello screening della MC, soprattutto nella prima infanzia.

STIMA DELL'IMPRECISIONE ANALITICA SECONDO LO STANDARD NCCLS EP15-A2

G-20

V. Brescia, M. Tampoia, A. Losito, G. D'Urso, A. Chiarella, L. D'Introno, F. Mastronicola, F. Di Serio
Laboratorio Analisi Patologia Clinica I- Policlinico Bari

Introduzione. "Quality assurance standards" raccomandano che i laboratori verifichino le performance analitiche di ogni metodo prima di fornire risultati per i pazienti.
Scopo del lavoro. Verificare, nella pratica di laboratorio, le specifiche di imprecisione fornite dalle ditte produttrici nella pratica di laboratorio.
Materiali e metodi. Sono stati valutati i dosaggi di 26 analiti, 23 eseguiti mediante metodica di chemiluminescenza (21 Centaur,Bayer;2 Liaison,Diasorin) e 3 eseguiti mediante metodica immunoenzimatica (Kriptor , Dasit). Sono stati utilizzati pool di sieri e materiali di controllo a due livelli di concentrazione e prossime a quelle utilizzate, da parte della ditta fornitrice, per la definizione della precisione del metodo. Lo standard NCCLS EP15-A2 (revisione del 25 febbraio 2005) è stato utilizzato per valutare la precisione analitica mediante il calcolo del coefficiente within-run (CV wr) e within-laboratory (CV wl), o total CV (test Anova, per misure ripetute). Attraverso il "verificatio value" è stato possibile valutare la significatività della differenza tra i dati forniti dalla ditta e quelli riscontrati in laboratorio (test Chi-quadro).
Risultati. Dei 26 analiti valutati 19 (73%) hanno presentato valori di CV% inferiori o uguali a quelli dichiarati dalla ditta produttrice; 5 (19%), hanno presentato valori superiori con differenza statisticamente non significativa. Per 2 analiti (8%) è stata necessaria la rivalutazione dei dati con un maggior numero di run.
Conclusioni. I nostri dati hanno evidenziato che le specifiche di performance analitiche, forniti dal produttore, possono essere confrontate e confermati nei laboratori di routine ed in condizioni operative non sperimentali. Il protocollo da noi utilizzato è facilmente applicabile e fornisce informazioni standardizzate e confrontabili, utili non solo nella fase di verifica dopo l'installazione di un nuovo metodo ma anche nella valutazione di situazione di inidoneità delle performance analitiche in corso di VEQ.

UTILIZZO DELL'AUTOMAZIONE NELLO STUDIO DELLA CITOLOGIA LIQUORALE

G-21

A. Cenci, E. Varani, S. Tagliavini, R. Corradini, M. Sarti, F. Ferrari, R. Gargiulo, M. Zirilli
Laboratorio Patologia Clinica, Nuovo Ospedale S. Agostino-Estense AUSL Modena

Scopo del lavoro. L'analisi del liquido cerebrospinale (LCS) riveste ancora un'importanza fondamentale nella diagnostica sia delle malattie primitive del sistema nervoso centrale (SNC), che nelle localizzazioni secondarie di molte patologie sistemiche. L'indagine liquorale, esame chimico fisico, conteggio cellule e descrizione citomorfologica, conferma il suo valore diagnostico per notizie fornite e tempi di risposta disponibili, anche nell'attuale momento di utilizzo di tecnologie avanzate, di laboratorio e strumentali. Un ulteriore contributo viene apportato dall'impiego, in questo campo, dei moderni sistemi nati per i conteggi e il riconoscimento delle cellule ematiche circolanti. Scopo del presente lavoro è la revisione del contributo di un sistema per ematologia di ultima generazione nell'esame routinario del LCS.
Materiali e Metodi. Nel periodo Gennaio/Agosto 2006, nel settore urgenze dell'Ospedale di Baggiovara, a cui afferisce anche il dipartimento di Neuroscienze, abbiamo analizzato 173 LCS. Patologie rappresentate: infettive, infiammatorie, neoplastiche, primitive o secondarie, del SNC.
Sono state utilizzate camere di conteggio tipo Nageotte e, per la verifica microscopica, colorazione panottica automatizzata (Wright) su citocentrifugato.
Coulter LH750 effettua i conteggi cellulari con tecnologia AccuCount (combinazione del principio Coulter a nuovi algoritmi software brevettati) fornendo elevate prestazioni di precisione, linearità, accuratezza. La formula leucocitaria è eseguita con tecnologia VCS, Volume, Conduttività (grandezza/densità nucleo; rapporto nucleo/citoplasma), Scatter laser (granulazioni citoplasmatiche). Dalla versione software 2B4 lo strumento è dotato di nuovo software, approvato FDA, per la lettura di Liquor, Sieri (peritoneale, pleurico e ericardio) e Sinoviale.
Risultati e Conclusioni. I conteggi cellulari sono risultati soddisfacenti per tutti i livelli testati (range: da 2 a >3.500/µL), in particolare la corrispondenza con la verifica microscopica è risultata migliore nei campioni a concentrazioni cellulari intermedie (50-200 elementi/ µL). La modica sovrastima (in media inferiore all'8%) notata in 38 campioni ad alta concentrazione, può essere imputata ad una minor precisione nella lettura microscopica rispetto a quella strumentale, quanto più i conteggi si avvicinano a concentrazioni simili a quelle dei leucociti circolanti. Per la citologia risulta notevole la possibilità di rilevazione di atteggiamenti morfologici interessanti quali la presenza di cellule apoptotiche, di macrofagi infarciti di detriti, di elementi linfoidi attivati da patologie virali e di morfologie liquorali identiche a quelle periferiche in caso di presenza di blasti leucemici.

G-22

VALUTAZIONE DEL NUOVO SISTEMA AUTOMATIZZATO PER LA DETERMINAZIONE DI IGG E IGM ANTI TOXOPLASMA VIDIA BIOMERIEUX

P. Martelli, E. Ligato, R. De Luca, R. Frido, L. Mucignat, D. Villalta
Dipartimento Medicina Laboratorio AO Pordnone

Scopi: BioMerieux ha recentemente messo a punto un sistema per la ri-cerca di IgG e IgM anti Toxoplasma su VIDIA, che associa metodo immunoenzimatico a rivelazione finale in chemiluminescenza.Il nostro lavoro ha valutato e praticabilità del sistema e affidabilità dei risultati.
Materiali e metodi : Sono stati testati con il sistema VIDIA: A)400 sieri non selezionati, da sedute analitiche consecutive ; B) 30 sieri selezionati, IgM positivi; C) 40 sieri in potenza IgM interferenti (10 IgM pos per CMV, 10 per EBV, 10 HCV pos, 10 ANA pos); D) 3 pool G ed M home made a basso, medio, alto titolo per la verifica di ripetibilità e riproducibilità. Il pool ad alto titolo è stato utilizzato per determinare la linearità del dosaggio IgG. I 430 sieri A- B erano stati testati in routine con sistema Liaison DiaSorin , le IgM positive riconfermate con sistema Vidas BioMerieux. I dati discordanti sono stati ripetuti con entrambi i metodi e Vidas.
Risultati : nel calcolo dei risultati non si è tenuto conto dei borderline (bl) comunque riportati . I risultati IgM positivi con sistema Liason e negativi con Vidas classificati come negativi , sono stati considerati tali nel calcolo della specifità .IgG : Sieri gruppo A: concordanza Liason /Vidia: 391/391 (100%) 66 pos/pos-325 neg/neg). Considerato arbitrariamente Liason come riferimento ed esclusi 9 bl , specificità e sensibilità sono del 100%. IgM : Sieri gruppo A: concordanza Liaison/Vidia , esclusi 6 bl Liaison, 393/394 (99,7%) (5 pos/pos; 1 pos Liason /neg Vidia e Vidas, 388 neg/neg). Dopo risoluzione con Vidas , specificità 100% e sensibilita' 100%. Sensibilità e specificità elevate si sono ottenute anche dai sieri selezionati: gruppo B (IgM pos) : 27/30 pos, 3 bl . Nel gruppo C (interferenti) un solo siero su 40 ha fornito segnale bl. La ripetibilità (20 ripetizioni intrassay) è stata per IgG :pool basso CV 2%; pool medio 4,6%; pool elevato 10,7%; per IgM rispettiva-vamente 3%; 2,5%, 2,6%. La riproducibilità (6 ripetizioni interassay) è stata per IgG :pool basso CV 5%; pool medio 5%; pool elevato 8,2%, per IgM 2,9%; 1,2%; 2%. La valutazione della linearità del dosaggio con il test di diluizione scalare del pool elevato ha fornito un coefficiente di correlazione fra valori attesi e valori misurati pari a 0.99, con % di recupero, per diluizioni da 1:2 a 1: 64 , tra il 75 e il 96%.
Conclusioni: Il nuovo sistema è caratterizzato da buona qualità e affidabilità dei risultati, a queste unisce elevata automazione, buona potenzialità analitica , semplicità d'uso, possibilità di controllo di tutte le operazioni, protezione da rischi biologici, capacità di risposta a quanto previste alla norma ISO 15189.

G-23

IDENTIFICAZIONE DI CASI DI ESTROFIA VESCICALE MEDIANTE ANALISI DEGLI ELEMENTI CORPUSCOLATI DELL' URINA CON STRUMENTAZIONE AUTOMATIZZATA

A. Caleffi, M. Mercadanti, C. Monica
Laboratorio Analisi Ematochimiche, Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria Parma.

Scopo del Lavoro: L'utilizzo di strumentazione automatizzata per la lettura degli elementi corpuscolati delle urine ha aumentato la specificità dell'analisi. Sono stati approfonditi alcuni aspetti morfologici su campioni di urina nei quali i citofluorimetri (UF-100 Sysmex-Dasit) segnalavano presenza di alto numero di cellule non squamose.
Materiali e metodi: Analizziamo in media 600 urine al giorno in citofluorimetria (UF-100 Sysmex-Dasit). Abbiamo osservato 56 campioni di C.L. paziente ambulatoriale e 28 campioni di B.M. degente in Nefrologia.
Risultati: I livelli soglia delle cellule epiteliali squamose (≤ 15/microlitro di urina) e delle cellule non squamose (≥ 10/ microlitro) hanno dato valori di attenzione per alcuni campioni. Dopo valutazione dei grafici, esame dei sedimenti in microscopia a contrasto di fase, colorazione dei preparati (May-Grumwald Giemsa) ed invio di immagini ad un Centro di Riferimento, si è confermata la presenza di cellule anomale ed elementi macrofagici. Abbiamo raccolto l'anamnesi dei pazienti contattando il medico di base, il microbiologo, l'urologo ed il nefrologo. I campioni provenivano da pazienti con estrofia vescicale quindi con cellule non appartenenti all'urotelio (vescica ricostruita chirurgicamente con colon).
Discussione e Conclusioni: Oggi pensiamo che il segnale di allerta per cellule anomale non debba essere il solo valore assoluto delle cellule "small" ma anche il valore relativo tra cellule squamose e non (cellule squamose/small cell). I campioni con valore assoluto delle cellule non squamose ≥ 10, se con valore relativo alto (≥ 100), evidenziano in microscopia cellule transizionali superficiali e/o profonde per infezioni o flogosi (utilizzo di cateteri, calcolosi) del tratto urinario. Se il valore relativo è basso (≤ 50 sino a 1) dobbiamo escludere la presenza di cellule anomale, elementi macrofagici, cellule non di provenienza uroteliale, cellule degenerate, cellule trasformate (?). Nei casi complessi coloriamo i preparati con Sternheimer-Malbin modificato (Hycor-Kova), li fotografiamo ed inviamo ad altro Centro. Non esiste rilevante bibliografia sui livelli decisionali per i cut off cellulari. Risulta fondamentale, per i casi di cellule anomale, l'analisi delle soglie, dei grafici, la microscopia a contrasto di fase, le motivazioni della richiesta dell'esame, l'anamnesi del paziente. Seguiamo questo nuovo modello procedurale per le cellule non consuete ed auspichiamo di potenziare gli incontri formativi con i nefrologi ed i medici di base perché possano utilizzare in modo appropriato le informazioni. Sarebbe consigliabile la creazione di un gruppo multispecialistico sui reperti anomali o atipici ed infine che il referto morfologico preveda un commento interpretativo dello specialista di Laboratorio a supporto del clinico.

SENSIBILITÀ CLINICA DEI PARAMETRI POSIZIONALI DI COULTER LH 750 NELLA MIELODISPLASIA

G-24

I. Fusco
Lab. Analisi Ospedaliero, USL 4 Prato

Scopo del lavoro. Coulter LH 750 analizza la formula leucocitaria con tecnologia VCS, analisi simultanea e multiparametrica dei leucociti allo stato nativo (Volume, Conduttività - grandezza/densità nucleo, rapporto nucleo/citoplasma, Scatter laser - granularità cellulare). La presenza di cellule patologiche viene evidenziata, oltre che da specifiche segnalazioni, anche dalla variazione dei 24 Parametri Posizionali (PP), che esprimono Media (M) e Deviazione Standard (SD) dei leucociti per Volume (V), Conduttività (C) e Scatter (S). Studi clinici hanno dimostrato che su LH750, la loro variazione corrisponde ad anormalità morfologiche ed è ripetibile nella stessa patologia. Scopo del lavoro è stato di valutare le variazioni di tali parametri nella mielodisplasia.
Materiali e metodi. Sono stati analizzati 231 campioni di sangue periferico, prelevato in EDTA, di soggetti normali per il calcolo dei valori di riferimento dei PP, e 54 campioni patologici (45 AR e 9 AREB). I campioni patologici sono stati rivisti a microscopio (Colorazione: May Grunwald-Giemsa) per correlare le caratteristiche di displasia cellulare come ipogranularità citoplasmatica, iposegmentazione nucleare alla variazione dei PP. Statistica: Medcalc ver. 8.2.1.0,Excel 2002.
Risultati. I campioni displastici hanno rilevato differenze significative ($p<0.0001$) rispetto ai valori di riferimento:

	V M	C M	S M	V SD	CSD
Normali	143	146	151	19.48	5.17
Patologici	154	138	138	26.48	8.36

La diminuzione dello scatter è correlabile all'ipogranularità citoplasmatica mentre la diminuzione della conduttività riflette le variazioni di lobularità nucleare e di densità cromatinica. L'analisi delle curve ROC per questi due parametri ha fornito i seguenti valori:

	Cut-off	AUC**	Sensibilità	Specificità
C M	143	0.901	79.2	91.8
S M	144	0.900	81.1	91.3

**(Area Under Curve)

Discussione e conclusioni. L'efficienza della segnalazione di cellule patologiche nei campioni della routine è fondamentale per il laboratorio di analisi. E' altresì importante che l'automazione fornisca specifici elementi di sospetto diagnostico tramite la rilevazione dei cambiamenti morfologici per indirizzare al meglio la revisione dei campioni patologici. In particolare la displasia granulocitaria è un elemento di sospetto importante poiché consente di indirizzare la diagnosi verso una patologia midollare. Coulter LH 750 grazie alla sensibilità dei PP alle variazioni morfologiche cellulari si è rivelato efficace nello screening della displasia. Si evidenzia infatti un pattern tipico per i campioni con diminuita C e S, che riflettono le variazioni morfologiche a livello nucleare e citoplasmatico. L'inserimento dei PP nelle Regole Reflex del software di LH 750 può portare ad un'ulteriore miglioramento dell'efficacia della refertazione assistita.

VALUTAZIONE ANALITICA E CLINICA DI UN TEST IN CHEMILUMINESCENZA NELLA RICERCA DI ANTICORPI ANTI-NUCLEO

G-25

D. Bassetti, G. Paolazzi*, C. Pedrotti, C. Bezzi, M. Corbo, M. Facci, F. Capuano, P. Caciagli**
Microbiologia -Virologia, *Reumatologia, Ospedale S.Chiara di Trento, **R & D DiaSorin Saluggia (VC)

Scopo del lavoro - La ricerca di ANA, test di fondamentale importanza per la diagnosi di malattie autoimmuni sistemiche (MAIS), riconosce nell'immunofluorescenza indiretta (IFA) l'attuale metodo di riferimento, anche se in esso sono evidenziabili aspetti svantaggiosi dal punto di vista analitico, gestionale ed organizzativo, che auspicherebbero l'utilizzo di tecnologie alternative. In tale ottica, accanto a kits immunoenzimatici (ELISA), che hanno fornito in precedenti esperienze risultati di concordanza con IFA diversi in ordine alla configurazione del coating antigenico costitutivo, recentemente è stato introdotto il test in che miluminescenza (CLIA) LIAISON ANA Screen.
Materiali e Metodi - In questo studio è stata eseguita la ricerca di ANA con IFA e CLIA in 342 campioni, relativi a 165 pazienti con MAIS, 57 soggetti affetti da altre patologie e 120 soggetti sani. Le determinazioni sono state eseguite utilizzando cellule HEp-2 fissate con acetone per IFA (kit INOVA Menarini) e particelle paramagnetiche sensibilizzate con antigeni nativi purificati (SSA, RNP/Sm), ricombinanti (SSB, Jo-1, Scl-70, CENP-B, mitocondri), dsDNA sintetico ed estratto nucleare di HEp-2 per il kit CLIA (ANA Screen LIAISON DiaSorin).
Risultati - Sulla base dei risultati ottenuti sono stati calcolati i valori di concordanza analitica fra i due metodi (agreement), sensibilità, specificità, predittività positiva e negativa. Il test CLIA, con indice di cut-off 0.9, ha evidenziato: sensibilità 81.8%, specificità 80.2%, predittività positiva 79.4%, predittività negativa 83.0%. Il test IFA, alla diluizione di cu t-off 1:80, ha presentato: sensibilità 92.7%, specificità 96.6%, predittività positiva 96.2%, predittività negativa 93.4%. L'agreement totale fra i due metodi si confermava, come precedentemente segnalato, su valori dell' 81.6%.
Discussione e Conclusioni - L'analisi dei dati ottenuti consente di evidenziare, dal punto di vista analitico e sulla base anche di precedenti riscontri, una migliore concordanza del metodo CLIA con IFA rispetto ai tests ELISA ed una più agevole gestione dei campioni per la tecnologia strumentale utilizzata.

G-26

VALUTAZIONE DELLE PRESTAZIONI DI UN RECENTE ANALIZZATORE DELLA DITTA BAYER "ADVIA 1200" SU CAMPIONI DI SIERO ED URINA E CORRELAZIONE CON "VITROS 5.1/FS" DELLA DITTA ORTHO

B. Milanesi, G. Cocchi, E. Bernardi, C. Mancin, S. Fornari
Laboratori di Patologia Clinica - A.O. Desenzano del Garda (BS) - PP.OO.: Desenzano-Lonato, Manerbio-Leno, Gavardo-Salò. Direttore: Prof. Bruno Milanesi

Scopo: con questo studio abbiamo valutato le prestazioni analitiche del nuovo Sistema di Chimica Clinica ADVIA 1200 (Bayer Diagnostics) allo scopo di stabilire la tipologia di laboratorio più indicata al suo utilizzo ed il suo più appropriato impiego.
Materiali e metodi: ADVIA 1200, che si aggiunge alla strumentazione Bayer per la chimica clinica (ADVIA 1650 e 2400), è un analizzatore di tipo discreto, ha una produttività di 1200 test/ora (800 colorimetri più 400 ISE) e applica la tecnologia dei microvolumi (volume totale di reazione mediamente compreso tra 80 e 120 µl). La valutazione è stata condotta su 25 analiti (11 substrati, 7 enzimi, 4 ioni, 3 ISE) scelti tra i più frequenti nella routine di chimica. I reagenti utilizzati sono comuni a tutti i sistemi della linea ADVIA di chimica clinica e sono per la quasi totalità liquidi e pronti all'uso. Nello studio si sono volute approfondire quelle caratteristiche operative che rappresentano il primo impatto tra l'Operatore e il sistema analitico. Oggetto quindi della nostra indagine: precisione su siero ed urina, sensibilità analitica, eventuale presenza di contaminazione (carry-over) tra campioni, correlazione con il nostro Sistema utilizzato per la routine Vitros 5.1 FS (Ortho Clinical Diagnostics), produttività reale espressa come rapporto campioni dosati/tempo.
Risultati: i risultati ottenuti evidenziano un'ottima precisione. CV% per i campioni di siero compresi tra l'1,21 % (Calcio a 8,8 mg/dL) e il 4,89% (Bilirubina Diretta a 0,67 mg/dL) e CV% delle urine compresi tra 0,68% (Cloro) e il 2,79% (Urea). Abbiamo evidenziato anche una buona sensibilità analitica e l'assenza di carry-over tra campioni. Ottima anche la correlazione con i metodi attualmente in su routine Vitros 5.1 FS che hanno mostrato coefficienti di correlazione (r) ≥ 0,912. La produttività reale complessiva è risultata di 95 campioni/ora per una richiesta media di 13 test per campione (3 ISE compresi).
Conclusioni: le ottime prestazioni analitiche e l'alta produttività del Sistema ADVIA 1200 lo rendono particolarmente indicato per laboratori con routine di chimica clinica di medi volumi come "backup" per grandi analizzatori.

G-27

VALUTAZIONE DEL SISTEMA SYSMEX UF-100 IN LIQUIDI BIOLOGICI DIVERSI DA URINA

M.G. Epifani, E. Novello, S. Chiappin, M. Plebani
Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova

Scopo del lavoro: Valutare le prestazioni di Sysmex UF-100 nel conteggio leucocitario su liquidi biologici diversi da urina
Materiali e Metodi: 51 campioni di liquidi biologici diversi (TAB.1) sono stati analizzati senza pretrattamento su UF-100. Il conteggio leucocitario è stato confrontato vs metodo microscopico in camera di Nageotte (MO);il valore WBC di UF-100 è stato integrato con i parametri YLC e/o OTHERS se presenti in specifiche aree dei citogrammi.
Risultati: In base alla lettura al MO i campioni sono stati suddivisi in due gruppi a diversa cellularità e valutati con regressione lineare e analisi del bias secondo Bland-Altman.(TAB 1)
Conclusioni: i risultati mostrano buona correlazione dei conteggi, con ottima concordanza nel gruppo con WBC<150 come dimostra l'analisi del Bias. I grafici e i dati YLC e OTHERS di UF-100 possono fornire indicazioni sulla composizione leucocitaria o evidenziare la presenza di altre cellule (mesoteliali, tumorali, frammenti leucocitari) che possono essere responsabili, assieme ai fattori di variabilità del metodo manuale, del Bias più elevato osservato rispetto a MO nel gruppo di campioni a maggiore cellularità. Con i vantaggi dell'automazione (standardizzazione, precisione, velocità) UF-100 può essere un utile supporto allo studio citometrico dei liquidi biologici.

TAB 1	Nr. dati	Regressione Lineare		Analisi del Bias	
		r^2	Equazione retta	Bias medio	95% I.C. Bias
Tutti	51	0.963	y = 1.120x – 0.385	+ 53.2	da + 4.90 a 101.4
da 0 a 150 Leucociti	23	0.947	y = 0.859x + 2.727	- 1.10	da – 4.80 a 2.50
da 150 a 3.500 Leucociti	28	0.947	y = 1.117x + 6.017	+ 97.70	da + 11.20 a 184.30
Tipologia campioni esaminati : 12 liquor, 14 pleurici, 5 drenaggi peritoneali, 16 da dialisi, 2 ascitici 1 pericardico, 1 drenaggio da ferita chirurgica					

UROMANTE: UN SISTEMA GESTIONALE PER L'ESAME URINE

G-28

P. Cappelletti, R. De Rosa
Patologia Clinica AO "Santa Maria degli Angeli" Pordenone

Premesse: È stato introdotto nel nostro laboratorio il sistema gestionale "Uromante" (I L) che, con il collegamento bidirezionale tra il sistema per l'esame chimico-fisico Aution Max AX4280 (Menarini), l'analizzatore automatizzato del sedimento iQ200 (I L) ed il LIS, permette la completa gestione dell'esame urine.
Scopo: valutare Uromante per quanto riguarda l'efficienza (n. di controlli) e l'efficacia (n. di commenti), anche rispetto all' esecuzione tradizionale dell'es. urine (microscopia manuale in assenza di sistema di gestione).
Materiali e metodi: flussi operativi: caricamento rack su Aution Max; ricezione informazioni campione da parte di Uromante, trasferimento rack su iQ200 che richiede al gestionale informazioni anche sui risultati dell'es. chimico. Una prima revisione video avviene su iQ200 per i campioni bloccati prima del passaggio a Uromante in base a soglie discriminanti scelte dall'operatore; i risultati vengono poi inviati alla refertazione a meno che non soddisfino alle regole di revisione impostate su Uromante. I campioni bloccati possono essere rivisti a video o al microscopio. Le soglie di revisione su iQ200 sono Wbc ed Rbc>18/µL; presenza di batteri, miceti, cilindri, cell. epiteliali non squamose, spermatozoi. Le regole di validazione su Uromante riguardano le discrepanze tra es. chimico e microscopico. Una prima valutazione del sistema è stata effettuata per 5148 campioni in routine, confrontati con 5768 campioni dello stesso periodo dell'anno precedente (2005) con il sistema tradizionale.
Risultati: con procedure e regole sopradescritte, i campioni da revisionare all'iQ200 sono il 47%, quelli da controllare su Uromante circa il 10%, mentre le revisioni microscopiche manuali sono <2%. Riguardo la valutazione morfologica con il nuovo sistema, gli esami negativi sono il 39% vs il 57% precedente. La differenza di positività (+18%) è prevalentemente dovuta a maggiore segnalazione di Rbc. Utilizzando il livello decisionale suggerito dalle EUG (10 Rbc/µ L), nel 2005 il 41,3% delle segnalazioni di eritrociti nel sedimento superava il livello e nel 2006 il 43,8%.
Discussione e conclusioni: l'efficienza del sistema è paragonabile a quella segnalata da Zaman et al. nel 2001 con altra metodologia, ma distante dalle percentuali valutate da noi in precedenza e assunte come obiettivo (30%). La pratica sulle regole di autovalidazione ha già dimostrato la possibilità di revisioni delle stesse. Con il sistema il numero di pazienti con ematuria significativa (>10/ µ L) tende a raddoppiare, nonostante la diminuzione dei campioni positivi alla ricerca dell'Hb (13,8%positivi 2006 vs 18,4% 2005). E' inoltre interessante notare che le percentuali dei positivi alla striscia reattiva (18,4%) ed in microscopia manuale (18,4%) si sovrappongono, segnalando il ben noto bias dell'osservatore informato.