A-01

LA VALIDAZIONE DEL REFERTO EMATOLOGICO SUL SISTEMA COULTER GEN•S

I. Fusco, F.Mattolini

U.O. Laboratorio Analisi Cliniche ed Ematologiche, Nuovo Ospedale S. Giovanni di Dio, Firenze

SCOPO DEL LAVORO

Con l'impiego di analizzatori automatici ad elevata cadenza analitica, il fattore limitante la rapidità del processo si è spostato alla fase di validazione del referto da parte dell'operatore. Per evitare di dover controllare tutti i campioni analizzati, il software gestionale del sistema ematologico Coulter GEN•S consente di definire, con i programmi Reflex Manager e Delta Check, regole e criteri di validazione del referto complete ed articolate, capaci di coinvolgere uno o più parametri emocitometrici che presentano valori numerici alterati, allarmi di sospetto morfologico o anormalità di distribuzione cellulare. Ad ogni regola di validazione è possibile associare uno specifico messaggio o commento, fornito dallo strumento in tempo reale, per definire le azioni da mettere in atto sul campione (ad esempio: strisciare il vetrino, ripetere dopo termostatazione per sospetta agglutinazione a freddo, per sospetta aggregazione piastrinica EDTA dipendente o per conferma risultati critici, approfondire con altri test quale l'analisi dei Reticolociti, ecc..). Di seguito riportiamo la nostra esperienza di lavoro con il sistema Coulter GEN•S e il programma Reflex Manager.

MATERIALI E METODI

Il nostro laboratorio esegue una routine di circa 320 emocromi al giorno di pazienti interni ospedalizzati (21%) ed esterni ambulatoriali (79%), analizzati su strumenti Coulter GEN•S (68%) ed STKS (32%). Nel programma Reflex Manager di Coulter GEN•S abbiamo impostato Nr.12 regole, per la validazione in tempo reale del referto ematologico. Gli emocromi che superano le regole impostate sono automaticamente validati e trasmessi al Sistema Informatico senza ulteriore controllo. Quelli che presentano flag di allarme o che rientrano in una delle regole di Reflex o Delta Check impostate vengono trattenuti dallo strumento nella cartella "Review List" per il controllo e la revisione dell'operatore, e trasmessi a LIS una volta validati.

RISULTATI

Nel periodo Gennaio 2001 – Giugno 2001, su 32801 emocromi processati sul Coulter GEN*S con le regole in uso presso il nostro laboratorio (31% interni ospedalizzati), la percentuale di emocromi validati automaticamente da Reflex Manager è stata del 75%. Del 25% (N=7970)dei campioni bloccati e controllati prima della trasmissione,il 13.6% è stato validato dall'operatore senza necessità di ulteriore controllo il 6,5% (N=2132) ha richiesto la ripetizione dell'analisi, mentre il 4,9% (N=1610) ha richiesto la preparazione dello striscio periferico su vetrino.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'impiego del programma Reflex Manager ha comportato notevoli vantaggi operativi per il nostro laboratorio, automatizzando i processi di validazione che in precedenza venivano effettuati manualmente dai singoli operatori. Ciò ha consentito di ridurre i tempi di lavoro e di refertazione, senza perdere in qualità e sicurezza grazie all'efficace e completo sistema di regole impostabili nel software su criteri quantitativi, morfologici, il delta check, e il reparto di provenienza del paziente. Inoltre, il programma Reflex Manager ha consentito una piena standardizzazione operativa, eliminando i criteri di soggettività tra i diversi operatori nelle procedure di validazione. L'ampia personalizzazione del programma ne consente l'applicazione in ambiti diversi, potendo configurare regole con criteri più o meno stretti in base al tipo di popolazione affluente al laboratorio. E' possibile inoltre implementare il sistema con i moduli Coulter Slide Maker e Slide Stainer, per lo striscio e la colorazione automatica del vetrino sui campioni le cui regole di validazione ne richiedano la preparazione, senza dover processare nuovamente i campioni stessi. Ciò riduce ulteriormente i tempi di lavoro e standardizza le modalità operative, migliorando, in ultima analisi, la produttività del laboratorio.

A-02

VALUTAZIONE DELL'IDONEITA' DEL CAMPIONE NELL'ERA DELLE ISOLE DI AUTOMAZIONE.

G. Bacciga, P. Galantini *, RM Dorizzi e M.Caputo
Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Ospedale Maggiore, Verona
*Dade Behring, Milano

Scopo del lavoro. L'organizzazione di un Servizio di Medicina di Laboratorio di un grande Ospedale non può prescindere dallo studio e dalla sperimentazione continua di soluzioni organizzative che, a ritmo sostenuto, l'industria bio-medica mette a disposizione. L'evoluzione della tecnologia offre oggi strumenti adeguati per governare un flusso imponente di campioni in modo da ottenere informazioni clinicamente rilevanti comprimendo i tempi di esecuzione di tutte le fasi del processo pre-analitico senza compromettere la qualità tecnica del dato. Un aspetto forse non ancora ben indagato è la valutazione dell'idoneità del campione da analizzare su un'isola di automazione per esami di chimica clinica. Questa fase potrebbe essere trascurata da un sistema che prevede il caricamento della provetta primaria del campione appena prelevato e la successiva gestione senza alcun intervento dell'operatore fino alla fase finale di validazione e refertazione.

Abbiamo voluto studiare l'affidabilità di un metodo per la valutazione dell'idoneità di un campione di plasma all'esecuzione automatica di esami che risentano in maniera significativa delle principali variabili pre-analitiche: emolisi, ittero e torbidità da lipemia sull'analizzatore automatico Dimension RxL (Dade Behring, Milano, Italia). La scansione spettrofotometrica del campione per le lunghezze d'onda corrispondenti al picco di assorbimento delle sostanze interferenti consente di ottenere rapidamente informazioni sufficienti a giudicarne l'idoneità.

Materiali e Metodi. Sono stati valutati 500 campioni consecutivi inviati al Laboratorio per le determinazioni richiedibili in urgenza e prelevati da pazienti ricoverati. Lo strumento Dimension RxL riceve la programmazione dei test direttamente dal LIS. Il campione di plasma eparinato ottenuto dopo centrifugazione della provetta viene caricato direttamente sullo strumento che, contemporaneamente alla determinazione dei parametri richiesti, esegue una scansione spettrofotometrica continua nella gamma di lunghezze d'onda corrispondenti ai picchi di assorbimento dei principali interferenti. La concentrazione di emoglobina è stata misurata con il metodo spettofotometrico manuale con correzione di Allen, la concentrazione di bilirubina totale con metodo automatico su Dimension RxL, mentre la concentrazione di trigliceridi è stata misurata su strumento Hitachi 912 (Roche Diagnostics, Basilea, Svizzera).

Risultati. Il risultato del test è espresso da un codice numerico a tre cifre: il campione itterico, emolizzato o torbido genera un allarme che impedisce la refertazione di uno o più parametri secondo il tipo e l'intensità della sostanza interferente.

Discussione e Conclusioni. La corrispondenza tra l'allarme generato e l'effettiva presenza e concentrazione di interferenti si è rivelata assoluta per quanto riguarda l'emolisi, che nella nostra realtà costituisce la causa più frequente di non idoneità del campione. Altrettanto affidabile si è dimostrato il metodo per la presenza di bilirubina, anche se la sfumatura dell'ittero genera un segnale differente a parità di concentrazione di bilirubina. La scansione a 700 nm per il rilievo della torbidità ha invece generato alcuni falsi positivi, peraltro evidenti all'ispezione visiva del campione. In conclusione, il metodo proposto si presta ad essere utilizzato per un sistema automatizzato con centrifugazione a bordo: la prossima implementazione di una modalità "reflex" aumenterà l'efficienza del sistema accelerando il processo decisionale senza penalizzare la qualità complessiva del dato prodotto.

A-03

ISOLA COMPLETAMENTE AUTOMATICA DI COAGULAZIONE

F.Fabbi, M.S.Consolaro, F.Fortuna, A.Bedin, e S.Indico
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia Ospedale S.Bortolo-Vicenza

Introduzione
L'esigenza di ottimizzare e ridurre i tempi di risposta, migliorare la qualità e la standardizzazione delle fasi preanalitica ed analitica anche in virtù della organizzazione del nuovo e moderno laboratorio hanno portato alla progettazione e realizzazione di un'isola di coagulazione in completa automazione.

Realizzazione del Progetto
Il sistema e' costituito da due strumenti di coagulazione STA-R. (Roche-Milano), da uno strumento modulare per la completa automazione della fase pre-analitica (PMA) pre–analitical modular analitics (Roche) composto da:

A una stazione caricamento rack (da 5 provette ciascuno) in cui viene effettuato il caricamento manuale delle provette dotate di bar-code con possibilità anche di inserire campioni urgenti.

B due centrifughe che contengono fino a 40 tubi ciascuna (8 rack x5) con possibilità di regolazione da 1500 rpm a 3000 rpm, con tempi da 60 sec. a 999 sec. e temperatura regolabile da 17,5 a 22,5 C°.

C un modulo stappatore (decapping) con portata di 60 campioni e capacita' di stappare 400 campioni ora. (80 rack/h).

D una stazione di uscita rack a cui e' annesso un ingresso di rack urgenti con precedenza sugli altri in uscita dal PMA.

E una linea di trasporto (transport-line) che permette l'entrata dei campioni su due analizzatori STA-R gestita dal LIS.
Questo sistema e' controllato da una Work-station che permette di gestire tutte le fasi operative e che distribuisce il carico sui due strumenti di coagulazione. L'implementazione dell'isola di automazione e' avvenuta in due fasi: la prima con l'installazione degli strumenti di coagulazione e del modulo preanalitico, la seconda con l'annessione degli stessi attraverso un sistema di trasporto di campioni.

Obiettivi raggiunti
Il progetto si e' concluso nel mese di maggio u.s. e, da una prima valutazione, ha consentito di raggiungere gli obiettivi prefissati ed in particolare: ottimizzazione della gestione del personale, standardizzazione della centrifugazione secondo il documento NCCLS H18-A (1), riduzione della percentuale di errore, riduzione del rischio infezione, aumento della produttivita', integrazione delle fasi preanalitica ed analitica ed infine integrazione delle analisi urgenti con la routine e rispetto del T.A.T massimo di 45 minuti.

Conclusioni
La realizzazione del progetto qui presentato rientra nella logica di riorganizzazione dei moderni laboratori verso obiettivi di efficienza ed efficacia ed in particolare verso l'impiego del personale tecnico ad un livello molto più professionale, in particolare da esecutore a controllore del processo.

1. NCCLS. Procedures for the handling and processing of blood specimens approved guidelin.
NCCLS Document H18-A2- Villanova, Pa:NCCLS 1999.

A-04

Confronto tra colesterolo LDL calcolato e dosato con metodo omogeneo

M. Carta, F. Zerbato, D. Giavarina, G. Soffiati
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia
Ospedale "S. Bortolo", Vicenza

Scopo del lavoro

La concentrazione del colesterolo LDL viene generalmente ottenuta attraverso il calcolo matematico proposto da Friedewald e Fredrickson nel 1972 che si basa sui valori di colesterolo totale, HDL e trigliceridi. Tale approccio però ha numerose limitazioni ed in particolare il colesterolo LDL così calcolato soffre di una ampia variabilità analitica.

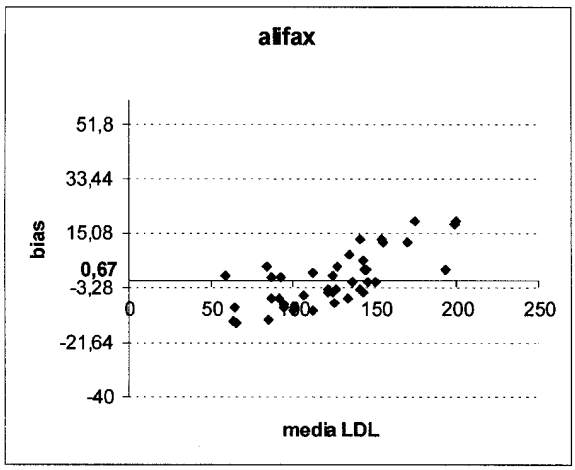
Per questi motivi abbiamo voluto provare due metodi diversi che dosano il colesterolo LDl in maniera diretta:

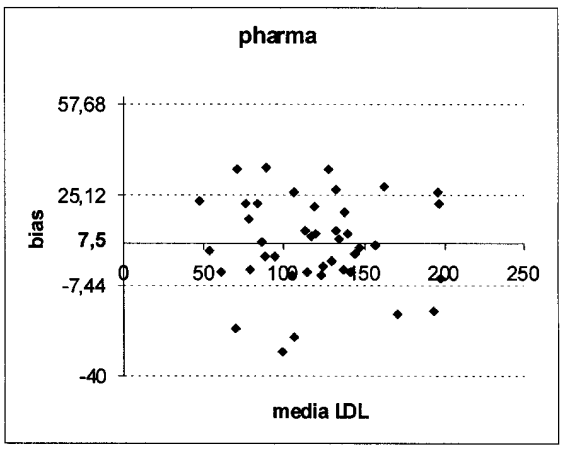
Materiali e metodi

Abbiamo calcolaro con la formula di Friedewald il colesterolo LDL in 42 campioni. Il dosaggio di colesterolo HDL, totale e trigliceridi alla base del calcolo è stato eseguito su Olympus AU 5241 con Olympus Sistem Reagent per colesterolo totale e trigliceridi e Alifax reagent per HDL. Contemporaneamente abbiamo dosato direttamente il colesterolo LDL degli stessi campioni con due diversi metodi di dosaggio diretto che agiscono in maniera simile (Alifax e Pharma). Il procedimento è simile per i 2 metodi ed è a 2 step: un primo step in cui detergenti specifici o tensioattivi eliminano il colesterolo contenuto nelle lipoproteine non-LDL. Nel secondo step si dosa il colesterolo LDL-C. Entrambi i metodi sono completamente automatizzati e possiedono calibratori e controlli specifici.

Risultati

Entrambi i metodi di dosaggio hanno dimostrato una buona correlazione con il metodo utilizzato in questo momento nel nostro Laboratorio, ovvero la misurazione del colesterolo LDL in via indiretta: ALIFAX: y=0.81x + 23, PHARMA: y=0.93x + 0.78. Le figure 1 e 2 mostrano i dati relativi ai bias dei 2 metodi rispetto alla formula di Friedewald: ALIFAX: bias = -0.67 (da -19,02 a 17,69) PHARMA: bias= 7,50 (da -25,07 a 40,07) .





Conclusioni

Il dosaggio diretto del colesterolo LDL offre alcuni indubitabili vantaggi: oltre ad essere completamente automatizzato, è senz'altro gravato da minor variabilità analitica, rispetto al metodo di Friedewald che risente della variabilità relativa alle tre determinazioni su cui si basa. Il National Cholesterol Education Program (NCEP) prevede un ruolo importante del colesterolo LDL-C nel management dei pazienti adulti con ipercolesterolemia e quindi suggerisce come obbiettivo analitico un errore tot. < 12%. Solo i metodi diretti possono arrivare a soddisfare tale obbiettivo. Si segnala le diverse performance dei vari kit commerciali e la necessità di standardizzazione di questo metodo.

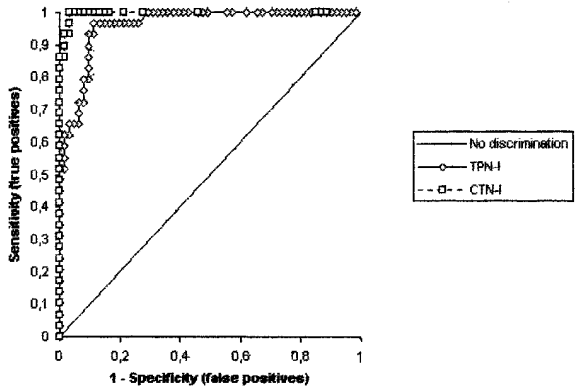
A-05

VALIDITÀ CLINICA DI UN NUOVO METODO PER LA DETERMINAZIONE DELLA TROPONINA I

M. Mori, Bellucci P., Anselmi G., Innocenti L.

E.O. Ospedali Galliera, Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Genova.

Scopo del lavoro.
È nota la cardiospecificità della Troponina I e la sua importanza diagnostica nell'infarto miocardico acuto e nella stratificazione del danno miocardico.
La prossima commercializzazione di un nuovo Kit per la determinazione della Troponina I, Access AccuTnI (Beckman Coulter), definito A, ci ha indotto a confrontare le caratteristiche analitiche di questo metodo con quelle del kit distribuito dalla stessa ditta fino ad oggi (Access Troponin I), definito B.
Materiali e metodi. La Troponina I è stata saggiata su siero con i due kit in 29 pazienti con infarto miocardico acuto diagnosticato, ricoverati in Unità di Terapia Intensiva Coronarica, e 61 pazienti presentatisi al Pronto Soccorso per la comparsa recente di dolore toracico (entro 24 ore), in assenza dei criteri definiti dall'OMS per la diagnosi di infarto miocardico acuto. In accordo con quanto indicato in letteratura, in tutti i pazienti sono state effettuate almeno due determinazioni (tempo zero e 12 ore; nei pazienti con IMA tempo zero, 12 ore, 24 ore); il gruppo di controllo è composto da 50 donatori sani mentre il confronto tra i metodi è stato eseguito sui valori di Troponina I a 12 ore. L'Analisi Statistica è stata effettuata con analisi della distribuzione, regressione lineare, Analisi di Concordanza, Receiver Operating Characteristic Analysis.
Risultati. I valori normali attesi per il kit A sono < 0,03 ng/mL e < 0,08 ng/mL per il kit B. L'Analisi ROC ha indicato come cut-off per l'AMI 0,5 ng/mL per il kit A, a fronte del cut-off di 0,1 ng/mL, attualmente indicato per il Kit B. La significativa differenza analitica tra i due dosaggi indica come preferibile per il confronto dei due kit l'analisi della Concordanza.



Access AccuTnI	Access Troponin I		Totale
Danno Cardiaco	Presenza	Assenza	
Presenza	40	0	40
Assenza	7	43	50
Totale	47	43	90
Concordanza			92,2%

Conclusioni. Le concentrazioni di cTnI sono rilevabili 3-6 ore dopo il danno miocardico, raggiungono il picco dopo 12-16 ore e possono rimanere elevate per 4-9 giorni. Il test A utilizza anticorpi monoclonali diretti contro la regione interna più stabile della molecola e non è soggetto all'influenza della degradazione della molecola, che avviene, sia in vivo, sia in vitro, a livello del C terminale e dell'N terminale. Infatti, dai dati ottenuti si evidenzia che il kit A ha una sensibilità analitica maggiore di quella del kit B (per altro indicata dai diversi valori di riferimento del gruppo di controllo) ed una maggiore specificità; il maggiore intervallo vicino ai valori di cut-off (0,03-0,5 ng/ml) è rilevante per la stratificazione del danno miocardico. Il Kit B individua tutti i casi di IMA, a condizione di porre come cut-off il valore superiore di normalità (0,08 ng/mL e non 0,1ng/mL). Il kit A inoltre discrimina meglio, tra i pazienti non IMA con valori di cTnI elevati, i veri positivi per patologie cardiache (angina instabile, miocardite, scompenso cardiaco congestizio).

A-06

GlyPro: VALUTAZIONE PRELIMINARE DI UN NUOVO METODO ENZIMATICO PER LA DETERMINAZIONE DELLE PROTEINE GLICATE.

F. Bassetto°, L. Marchioro°, S. Masiero°, M. Perin°, C. Rossetti*, L. Martano*, A. Lapolla*.
°Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Geriatrico- Azienda ULSS 16 Padova
*Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Catt. Malattie del Metabolismo, Università di Padova

SCOPO DEL LAVORO

Il controllo della glicemia costituisce un aspetto fondamentale nel trattamento del Diabete Mellito dal momento che uno stretto controllo dei livelli glicemici riduce l'incidenza delle complicanze associate a tale patologia. Il dosaggio dell'emoglobina glicata (HbA1c) è utilizzato da tempo nel monitoraggio della condizione diabetica poiché rappresenta la media dei livelli di glucosio delle ultime 6-8 settimane; tuttavia, in particolari condizioni l'interpretazione del dato risulta difficile. La determinazione delle proteine glicate è invece rappresentativo dei livelli glicemici delle precedenti 2-3 settimane e non risente delle problematiche dell' HbA1c. Scopo del nostro studio è stato la verifica delle performance analitiche di uno specifico metodo enzimatico per la determinazione delle proteine glicate nel siero.

MATERIALI E METODI

Il metodo GlyPro (ALIFAX) adattato su analizzatore Merck MEGA (Dade Behring) si basa su una reazione enzimatica colorimetrica : in presenza di proteine glicate, una proteina kinasi rilascia il substrato per la ketoamino ossidasi che ossida i legami ketoaminici. Il perossido d'idrogeno così rilasciato viene poi consumato in una reazione colorimetrica "end-point". I risultati sono espressi in µmol/L. Sono stati analizzati 49 campioni di siero di pazienti reclutati dal Servizio di Diabetologia presso Ospedale Geriatrico. Su tutti i campioni è stata dosata, nella stessa seduta, anche la Fruttosamina. La verifica dei limiti di riferimento è stata eseguita su 30 campioni [n°15 maschi (range età 30-86) e n°15 femmine (range età 26 –94)]. L'imprecisione del metodo è stata valutata su un totale di 4 pool di siero .

RISULTATI

Lo Studio dell'imprecisione: [p_1 (x = 180.8 µmol/L), p_2 (x = 268.7 µmol/L), p_3 (x = 222.7 µmol/L, p_4 (x = 213.4 µmol/L)] ha fornito i seguenti risultati: 1) nella serie: CVp_1 = 0.82 %, CVp_2 = 0.77 %; 2) tra le serie: CVp_3 = 1.34%, CVp_4 = 1.43%. I Valori di Riferimento sono risultati essere: 77 – 203 µmol/L per la popolazione maschile e 134 – 243 µmol/L per la popolazione femminile. Il coefficiente di correlazione tra GlyPro e Fruttosamina è risultato r = 0.776 (y= 1.65x – 188.69).

CONCLUSIONI

Questa valutazione preliminare conferma le ottime performance analitiche del metodo GlyPro. Anche i limiti di riferimento sono in linea con quanto dichiarato nel metodo. La correlazione con la Fruttosamina non è risultata eccellente: questo a causa probabilmente del tipo di popolazione studiata (categoria specifica) e da interferenze non specifiche inerenti al metodo Fruttosamina- NBT. Ad ogni modo la conferma dell'affidabilità diagnostica di GlyPro non è nel confronto con la Fruttosamina ma bensì con la Furosina (metodo di riferimento per la valutazione della glicazione proteica). E' attualmente in corso di esecuzione la determinazione della Furosina sulla casistica sopra riportata.

A-07

β_2-MICROGLOBULINA: VALUTAZIONE DEL METODO NEFELOMETRICO SU BNA II

G. Ferrai, L. Dell'Anna, P. Cappelletti

Laboratorio di Patologia Clinica Dipartimento di medicina di Laboratorio
Azienda Ospedaliera "S. Maria degli Angeli" Pordenone

Scopo del lavoro

La β_2-microglobulina, una proteina con PM di 11.800 dalton, si trova in tutte le cellule nucleate quale componente del complesso HLA. Viene rilasciata costantemente in minima quantità nel sangue e filtrata liberamente attraverso i reni dove viene riassorbita e degradata nei tubuli renali. La β_2-microglobulina è un valido marker per la prognosi del mieloma multiplo e della leucemia linfatica cronica e del mieloma maligno, oltre che per la filtrazione renale glomerulare

Scopo del presente lavoro è valutare la performance analitica della determinazione nefelometrica della β_2-microglobulina sierica sull'analizzatore BNAII in confronto con il metodo in chemiluminescenza, attualmente in uso, al fine di accorpare la determinazione di tale parametro al pannello delle proteine specifiche, nell'ottica di una riorganizzazione del laboratorio.

Materiali e metodi

Sistema valutato: N Latex β_2-microglobulina cod. OQWU 15 su analizzatore BNA II (DADE-Behring), secondo le indicazioni della casa produttrice. Sistema di confronto: kit β_2M-siero cod. 104574 su analizzatore ACS 180 (Bayer Diagnostici), secondo le indicazioni della casa produttrice.

85 campioni di siero provenienti dalla routine sono stati analizzati in doppio con entrambi i sistemi. Le determinazioni sono state eseguite nell'arco di 10 giorni su 2 settimane. Per ogni seduta analitica sono stati dosati un minimo di 7 ed un massimo di 10 campioni, ogni serie era sempre preceduta e seguita da un controllo a valore noto (Livello M Lotto n° 084708, valore dichiarato 2.07 (1.76-2.38) mg/L, DADE-Behring). I risultati dei controlli sono stati utilizzati per il calcolo dell'imprecisione utilizzando il metodo statistico ANOVA. Per la rappresentazione grafica del confronto fra i metodi è stato utilizzato il metodo Moutain Plot. La linearità è stata valutata diluendo scalarmente un campione con contenuto elevato della proteina.

Risultati

Confronto: pendenza = 0.846, intercetta = 0.097, r = 0.993, Syx = 0.295. Imprecisione totale: n° = 20, media = 1.94 mg/L, CV% = 4.99. Linearità: è stata saggiata fino a 25.2 mg/L .

Discussione

Il confronto ha evidenziato una leggera sottostima del metodo in valutazione rispetto a quello in uso, dovuta presumibilmente ad una diversa standardizzazione. L'imprecisione totale è del tutto accettabile; l'analisi della varianza evidenzia per il metodo nefelometrico un maggior contributo della componente "tra i giorni", dovuto principalmente ad un leggero shift della calibrazione. La linearità è ottima e copre praticamente tutto l'intervallo di valori riscontrabili. Alla luce dei risultati della valutazione il trasferimento della determinazione della β_2-microglobulina su BNA II per una migliore organizzazione del lavoro è possibile senza problemi, eccetto la necessità di definire nuovi intervalli di riferimento o di operare una correzione dei risultati analitici per rendere comparabili nel tempo i dati dei singoli pazienti.

A-08

CONFRONTO TRA METODI PER IL DOSAGGIO DI CICLOSPORINA

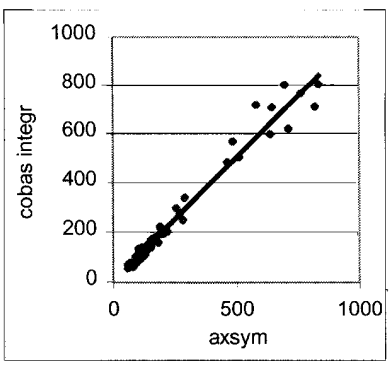
L. Ceccarelli, L. Rossi, M. Casini, L. Olivieri, A. Lucchetti, B. Innocenti
U.O. Laboratorio di Analisi Chimico-cliniche e Microbiologiche 1 – Azienda Ospedaliera Pisana

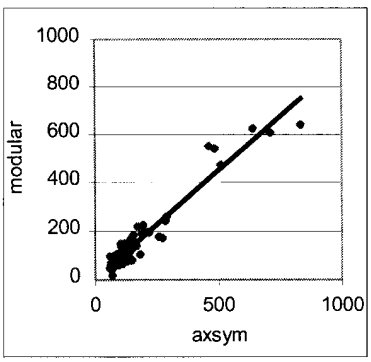
Scopo – Uno dei principali problemi del trattamento con ciclosporina è legato alla necessità di avere di un metodo diagnostico capace di monitorare i livelli ematici del farmaco in pazienti sottoposti a trapianto d'organo, e quindi di quantizzare la richiesta dell'organismo per il mantenimento di un equilibrato livello di farmaco attivo. Il recente riconoscimento che il dosaggio eseguito dopo 2 ore dalla somministrazione orale del farmaco (C_2) assume un valore prognostico elevato nel monitoraggio del rischio di rigetto, e l'osservazione che diversi tipi di materiale plastico impiegati durante l'infusione e.v. o il prelievo di sangue possono influenzare il dosaggio di ciclosporina, hanno aumentato la richiesta di sensibilità analitica, ed indotto verso la ricerca di sistemi di indagine più precisi e standardizzati. In questa ottica abbiamo ritenuto utile paragonare alcuni dei più diffusi metodi di dosaggio della ciclosporina, che possono essere impiegati sia nella valutazione basale che nella C_2.

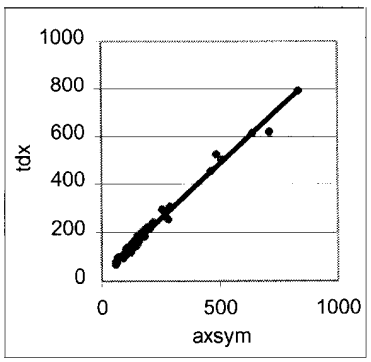
Materiale e metodi – Sono stati paragonati i sistemi TDx Abbott (FPIA), Cobas Integra 400 Roche (immuno-enzimatico omogeneo) e Modular Roche (CEDIA) utilizzando come riferimento il metodo Axsym Abbott (FPIA), attualmente in uso nel Laboratorio e per il quale sono già disponibili in letteratura i riferimenti ed i valori di conversione verso HPLC (+21%). Il confronto tra le metodiche è stato eseguito su 60 campioni ematici scelti in modo da rappresentare tutti i livelli terapeutici di ciclosporina utilizzati nella pratica clinica.

Risultati – Le correlazioni tra il sistema Axsym Abbott e gli altri sistemi analitici sono così riassunte:

Cobas I. vs Axsym:	$y = x + 6,66$	$r^2 = 0,973$
Modular vs Axsym:	$y = 0,89x + 7,11$	$r^2 = 0,921$
TDx vs Axsym:	$y = x + 32,79$	$r^2 = 0,988$







Conclusioni – Il sistema TDx Abbott è quello che ha mostrato una miglior corrispondenza al metodo di riferimento in termini di correlazione, sebbene le rette di regressione mostrino uno spostamento lineare che ci induce ad introdurre una costante di correzione di 30 ng/ml circa. In questo modo, le misure ottenute dalle due metodiche divengono del tutto sovrapponibili. Anche il Cobas Integra, comunque, ha prodotto risultati numerici sovrapponibili al metodo di riferimento ed una correlazione assai soddisfacente. Il sistema Modular si è dimostrato meno accurato dei precedenti, particolarmente per concentrazioni di ciclosporina inferiori a 250 ng/ml. Da rilevare che questo metodo prevede il dosaggio sul campione lisato, senza che sia operata una preventiva separazione del sopranatante, e ciò potrebbe rappresentare una criticità del procedimento analitico.

Riteniamo, in conclusione, che la possibilità di tradurre in modo affidabile i risultati ottenuti con i vari sistemi analitici possa rappresentare un valido passo avanti per la definizione di uno schema terapeutico, standardizzato nei criteri ma personalizzato per il fabbisogno di ciascun paziente, la cui necessità viene sottolineata dai più recenti dati apparsi in letteratura.

A-09

VALUTAZIONE DEL DIPSTREAK, UN NUOVO SISTEMA CON UN ORIGINALE MECCANISMO DI INOCULO, PER LA RIVELAZIONE, CONTA ED IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA DEI PATOGENI DEL TRATTO URINARIO

Paolo Ricordi, Paola Piccoli, Giuliana Ruggiero, Mariuccia Scagnelli e Claudio Scarparo.

Unità Operativa di Microbiologia e Virologia, Ospedale S. Bortolo, Vicenza.

Scopo del lavoro

Il DipStreak (Novamed, Israele) è un nuovo sistema con due tipi di terreno ai due lati di una pala di plastica alloggiata in un tubo chiuso di plastica trasparente. Alla fine della pala è posizionato un anello dotato di asticelle flessibili, simmetriche tra loro. La parte finale delle asticelle viene immersa nel campione di urina. Dopo reinserimento nel tubo, l'anello viene bloccato nel suo movimento e le superfici di agar vengono inoculate con il campione durante il passaggio della pala sotto le asticelle. Il risultato è una serie di strisci con una concentrazione batterica decrescente che permette l'isolamento delle colonie. Le capacità del sistema DipStreak nella rivelazione, conta ed identificazione presuntiva dei patogeni urinari sono state valutate e comparate con quelle del metodo di riferimento mediante striscio utilizzando piastre di CLED agar, di agar sangue (Becton Dickinson, Francia) e di un nuovo terreno cromogeno UriSelect3 (U3) (BIO RAD, Francia).

Materiali e Metodi

Il Dipstreak, con la formulazione U3 e MacConkey (MC) agar, è stato inoculato secondo le indicazioni della ditta produttrice. Le piastre di U3, agar sangue e CLED agar sono state direttamente inoculate mediante striscio utilizzando un'ansa calibrata da 0,001 ml. Le colture sono state incubate a 35-37°C per 18-24 ore. Sono stati testati 3000 campioni di urine provenienti da pazienti ospedalizzati e non. La conta delle colonie su DipStreak è stata eseguita secondo lo schema di riferimento della ditta produttrice.

Risultati

Un totale di 714 colture sono risultate positive. Per DipStreak, U3 in piastra e CLED agar la percentuale di rivelazione è stata rispettivamente del 99.4%, 99.9% e 99.2%. Di 810 ceppi batterici isolati, 804 hanno evidenziato una conta concordante (differenza ≤ 1logaritmo) su DipStreak, U3 in piastra e CLED agar. DipStreak ed U3 in piastra hanno mostrato una sensibilità rispettivamente del 88% e del 94.4%, nella diretta identificazione degli isolati di *Escherichia coli* (n = 420), *Proteus mirabilis* (n = 54) ed *Enterococcus* spp. (n = 136), complessivamente isolati nella percentuale del 75.3%. Per l'identificazione presuntiva dei gruppi *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* e *Proteus-Morganella-Providencia,* complessivamente isolati nella percentuale del 13.7%, DipStreak e l'U3 in piastra hanno mostrato la stessa sensibilità pari al 93.7%. Per il DipStreak, l'osservazione degli isolati su MC agar incrementa l'accuratezza dell'identificazione presuntiva. Per l'identificazione dei batteri sono state necessarie 84 subcolture da DipStreak e 42 dalle piastre di U3.

Discussione e Conclusioni

Il sistema DipStreak combina il vantaggio delle colture convenzionali in piastra con la tecnologia Dip-slide, permettendo la conta, la rivelazione e l'identificazione presuntiva dei principali patogeni urinari con un semplice e rapido meccanismo di inoculo. L'utilizzo del DipStreak con la formulazione U3 e MC agar ha dimostrato eccellenti performance nella conta e rivelazione degli isolati in comparazione coi terreni tradizionali in piastra. L'uso del terreno cromogeno ha permesso inoltre l'identificazione presuntiva degli isolati a livello di specie (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus* spp.) o di gruppo (*Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* e *Proteus-Morganella-Providencia*) nel 79.6% e 84% degli isolati su U3 in formulazione DipStreak e piastra rispettivamente. Una crescita confluente si è spesso osservata in presenza di conta batterica ≥ 10^7, probabilmente dovuta alla ridotta superficie di agar disponibile, rendendo necessarie delle subcolture per l'isolamento dei ceppi batterici in caso di colture miste. In conclusione, noi riteniamo che l'uso del sistema DipStreak rappresenti un eccellente ed affidabile metodo di screening per la rivelazione, conta ed identificazione presuntiva dei patogeni urinari, sia in coltura pura che mista. Il DipStreak inoltre, permettendo l'inoculo delle urine al momento della raccolta ed un corretto trasporto del campione, riduce la percentuale dei risultati falsi positivi.

A-10

VALUTAZIONE TECNICA ED ANALITICA DEI TEST PER L'IDENTIFICAZIONE DELL'INFEZIONE DA EBV

Ernesto Trabuio, Elena Barzon, Valentino Miconi

Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Ospedale "S. Lorenzo" Valdagno (VI)

Introduzione:
La mononucleosi infettiva è una malattia molto diffusa tra la popolazione e la diagnosi sierologica si basa sulla ricerca degli anticorpi verso i diversi antigeni virali prodotti dal paziente contro il virus Epstein Barr (EBV).
Per l'espletamento di una gara di fornitura di test per la diagnostica della mononucleosi, il nostro Laboratorio ha valutato diversi tipi di kit messi a disposizione dalle Ditte produttrici.

Materiali e metodi:
Sono stati presi in considerazione, oltre alla sensibilità e specificità dei test (secondo i vari metodi di rilevazione: agglutinazione, segnale in card, light scattering), anche le seguenti caratteristiche tecniche ed analitiche:

- facilità di esecuzione della metodica
- facilità di lettura del segnale cromatografico su card e facilità di interpretazione dell'agglutinazione
- costo del test.

Le Ditte fornitrici dei kit per la valutazione sono state: Alexon-trend, Becton Dickinson, Biosigma, Diagnostica Pharma, Diasorin, J&S Medical, Oxoid, Meridian.
Per la valutazione della specificità, tutti i kit sono stati testati contro un pool di sieri di pazienti con clinica e sierologia indicative di infezione da EBV e Citomegalovirus. La valutazione della sensibilità è stata eseguita testando il pool di sieri di pazienti con infezione da EBV diluito 1:10 con siero negativo per anticorpi anti-EBV. Tutti i dosaggi sono stati eseguiti 10 volte da più operatori.

Risultati:

Ditta produttrice	**Metodo**	**Pool positivo per EBV**	**Pool positivo per Citomegalovirus (Specificità)**	**Pool diluizione 1:10 (Sensibilità)**
		positività dei replicati %	positività dei replicati %	positività dei replicati %
Alexon-trend	Agglutinazione	100	0	75
Becton Dickinson	Agglutinazione	100	0	25
Biokit	Agglutinazione	100	0	25
J&S medical	Agglutinazione	100	0	25
Meridian	Agglutinazione	100	0	10
Oxoid	Agglutinazione	100	0	25
Biosigma	Card	100	10	0
Diagnostica Pharma	Card	100	100	100
Meridian	Card	100	100	100
Diasorin	Light-scattering	100	0	100

Conclusioni:
Il metodo Copalis (Diasorin) sia per sensibilità e specificità che per la completezza della risposta risulta migliore comparato ai test tradizionali, mentre il costo esame è sensibilmente più alto. I sistemi in card presentano una buona praticità d'uso e di lettura del segnale, riducono il rischio biologico di contaminazione, mentre hanno una minore specificità. I tradizionali test al lattice dimostrano una discreta sensibilità e specificità e un prezzo decisamente concorrenziale. Presentano difficoltà di lettura del risultato, legate alla soggettività dell'operatore, soprattutto nei sieri con basso titolo anticorpale e danno una minore protezione contro il rischio di contaminazione biologica.

A-11

COMPARAZIONE TRA TPHA E UN METODO AUTOMATIZZATO PER LA DIAGNOSI DELL'INFEZIONE DA TREPONEMA PALLIDUM

Elena Barzon, Ernesto Trabuio, Valentino Miconi

Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Ospedale "S. Lorenzo" Valdagno (VI)

Introduzione:

L'infezione da T. pallidum è una delle malattie a trasmissione sessuale con la maggiore incidenza. Secondo stime del WHO (1995), nel mondo vi sono circa 18 milioni di persone affette da questa patologia. La diagnostica di laboratorio dell'infezione da treponema deve comprendere test ad elevata sensibilità, rapidi e poco costosi, e test ad elevata specificità per la conferma e il monitoraggio terapeutico. Nei Laboratori di patologia Clinica lo screening e il follow-up terapeutico si avvalgono della VDRL, della RPR e del TPHA.

Nel nostro Laboratorio abbiamo comparato la specificità di uno dei metodi diagnostici tradizionali, il TPHA, fornito da 5 diverse Ditte con un metodo in automazione basato sullo scatter di luce laser (Copalis, Diasorin) utilizzando campioni provenienti da pazienti con diverse patologie.

Materiali e metodi:

I kit per il TPHA sono stati forniti dalle Ditte Biokit, Biogenetics, Chematil, Organon T., il kit per lo screening qualitativo su strumento "Copalis" dalla Ditta Diasorin.

Sono stati esaminati 12 sieri di positività confermata con il test FTA-ABS (veri positivi) e 34 sieri di pazienti affetti da HAV, HBV, HCV, HIV e malaria (veri negativi). Tutti i test sono stati eseguiti in doppio.

Risultati:

Pazienti FTA-ABS positivi (n=12)

	Biogenetics	Biokit	Chematil	Organon T.	Diasorin-Copalis
TPHA pos. %	100	91	50	100	68

Pazienti affetti da HAV, HBV, HCV, HIV, malaria (n=34)

	Biogenetics	Biokit	Chematil	Organon T.	Diasorin-Copalis
TPHA pos. %	8,8	12	9	6	34

Discussione e conclusioni:

I dati in nostro possesso, per quanto preliminari, sembrano indicare che il TPHA come test di screening ha una maggiore specificità, anche se l'interpretazione dell'agglutinazione e l'elevata manualità rendono tale metodo non adatto a grandi routine. Il sistema Copalis ha il vantaggio di una ridotta manualità, permette la creazione di una lista di lavoro e la determinazione qualitativa degli anticorpi anti-T. pallidum IgG e IgM, costituendo un'alternativa ai metodi manuali tradizionali (RPR e TPHA). Le caratteristiche di sensibilità del metodo comportano tuttavia, un significativo numero di falsi positivi. Il test FTA-ABS rimane il riferimento, anche se non può essere automatizzato e richiede operatori esperti per l'interpretazione della fluorescenza.

A-12

IL DOSAGGIO DELLA PROCALCITONINA NEI BAMBINI CON FEBBRE

L. Papotto[1], C. Innocenti[1], B. Luchetti[1], E. Marasti[1], M. Casini[1], A.R. Miele[1], R. Cacciavellani[2], F. Massei[2], C. Favre[2].
[1] Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, [2] Clinica Pediatrica Universitaria Azienda Ospedaliera Pisana.

Scopo del lavoro - Nel corso delle prove tecniche per l'ottimizzazione del dosaggio della procalcitonina (PCT), abbiamo utilizzato 79 campioni di plasma fornitici dalla Clinica Pediatrica dell'Universita' di Pisa. I risultati sono stati valutati in maniera retrospettiva, confrontandoli con le altre indagini eseguite per l'inquadramento diagnostico e con il quadro clinico dei pazienti in studio, al fine di stimare l'utilita' del dosaggio di PCT nei casi di febbre.

Materiali e metodi - I bambini in studio erano caratterizzati da condizioni cliniche diverse, ma relativamente omogenee nell'ambito di ciascuno dei due gruppi nei quali sono stati suddivisi; tutti presentavano febbre al momento del prelievo.
GRUPPO A: 56 bambini con gravi disordini ematologici e neutropenie indotte da farmaci citostatici, nei quali è difficile reperire indicatori sensibili di infiammazione.
GRUPPO B: 29 bambini afferenti all'Ambulatorio della Clinica Pediatrica per febbre persistente e/o linfoadenopatie.
Per ciascun paziente sono stati valutati, come indici aspecifici di flogosi, VES, conta dei leucociti con formula e PCR con metodo immunoturbidimetrico.
Il dosaggio della PCT è stato eseguito con metodo immunoluminometrico, (Berthold Lumat 9507) su campioni di plasma congelati al momento del prelievo a – 20°C; il cut-off è stato posto a 0,5 ng/ml.

Risultati

PCT	< 0,5 ng/ml	0,5 – 2,0 ng/ml	> 2,0 ng/ml
GRUPPO A	33	18	5
GRUPPO B	24	3	2

I dati emersi dallo studio relativi al GRUPPO A non ci hanno consentito alcuna correlazione clinica.
Abbiamo concordato con i medici del Reparto di Ematologia Pediatrica un protocollo di studio che ci consentirà di valutare nel tempo la possibilità di impiegare la PCT come marcatore precoce e specifico di infezioni di origine batterica, con eventuale impegno sistemico, in bambini con gravi neutropenie.
Per quanto riguarda i pazienti negativi del GRUPPO B, 21 di essi erano affetti da infezioni virali oppure batteriche localizzate; per gli altri 3 bambini negativi, così come per 2 dei 3 che avevano valori di PCT compresi tra 0,5 ng/ml e 2,0 ng/ml, è stata fatta diagnosi di febbre di origine sconosciuta (FUO). Nel terzo caso del secondo sottogruppo è stata posta diagnosi di virosi con impegno sistemico. I 2 piccoli pazienti con PCT maggiore di 2,0 ng/ml presentavano in un caso una tonsillite essudativa e nell'altro una broncopolmonite di origine batterica.
Gli indici aspecifici di flogosi sono risultati positivi in tutti i bambini con PCT positiva; nei pazienti con PCT negativa la VES è risultata positiva nel 75 % dei casi, i leucociti nel 51 % e la PCR nel 72 %.

Conclusioni - La PCT si configura come test sensibile e specifico per l'inquadramento diagnostico della febbre, laddove i classici indicatori di flogosi si rivelano scarsamente utilizzabili. Le caratteristiche metaboliche della PCT (emivita di circa 24 ore) ne fanno inoltre un utile indicatore dell'efficacia di eventuali terapie antimicrobiche.

A-13

ANISOCITOSI QUANTITATIVA (RDW): COMPARABILITA' DEI RISULTATI OTTENUTI CON LE PIU' RECENTI TECNOLOGIE.

M. Buttarello, L.Toffolo, P. Bulian, V.Temporin, G. Farina
Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Geriatrico, Padova

Scopo del Lavoro

L'anisocitosi quantitativa degli eritrociti, meglio conosciuta come RDW (red distribution width), è stata oggetto di grande interesse durante gli anni '80.In seguito, data la difficile interscambiabilità dei risultati fra metodi diversi e per il ridimensionato contributo alla diagnostica differenziale delle anemie, è stata in parte dimenticata. Nonostante ciò, la gran parte dei laboratori fornisce questo parametro nell'ambito dell'esame emocromocitometrico.

Nel tentativo di armonizzare i risultati , a più riprese negli anni '80 e all'inizio degli anni '90, l'ICSH ha proposto delle metodologie statistiche per lo studio delle distribuzioni dei volumi eritrocitari.

Tuttavia, per la relativa complessità metodologica e la mancata applicazione da parte dei costruttori, queste proposte non hanno avuto seguito e ciascun analizzatore tutt'ora utilizza proprie logiche di calcolo.

Considerando però che la tecnologia evolve e le esigenze di standardizzazione aumentano, si è voluto verificare lo stato dell'arte comparando 5 fra i più moderni analizzatori commerciali.

Materiali e metodi

I 5 analizzatori utilizzano tecnologie diverse per il dimensionamento degli eritrociti: ADVIA 120 metodo light scattering; Abbott CD 4000 e Sysmex SE 9500 metodo resistivo con focalizzazione idrodinamica; Coulter GEN-S e VEGA (o PENTRA) resistivo con correzione a posteriori degli impulsi anomali.

Sono stati studiati 205 soggetti normali per il calcolo degli intervalli di riferimento e 201 soggetti scelti a caso (27 normali e 174 con patologie varie) per studiare la sensibilità clinica verificando quale sistema collocava entro o fuori il proprio intervallo di riferimento ciascun soggetto esaminato.

Risultati e discussione

Gli intervalli di riferimento sono riportati in tabella:

	Mediana	Range (2.5-97.5)
ABBOTT CD 4000	11.6	10.7 – 14.3
ABX VEGA RETIC	14.4	12.9 – 18.5
BAYER ADVIA 120	13.4	12.5 – 16.0
COULTER GEN-S	12.7	11.8 – 15.7
SYSMEX SE 9500	13.3	12.3 – 15.9

Come si può notare, si ha una sostanziale sovrapposizione soltanto fra ADVIA 120 e SE 9500. Ai due estremi si collocano CD 4000 con i valori più bassi e VEGA RETIC con i valori più elevati e l'intervallo più ampio.

Le concordanze totali sono 26 su 27 soggetti normali e 99 su 174 pazienti. Delle 76 discordanze, 55 sono a carico di 1 solo analizzatore (32 VEGA RETIC, 10 ADVIA 120, 8 SE 9500 e 5 GEN-S) e 21 di due analizzatori (14 VEGA RETIC, 10 SE 9500, 7 CD 4000, 6 ADVIA 120 e 5 GEN-S).

Conclusioni

Appare evidente che l'armonizzazione dei risultati non è ancora raggiunta né numericamente né come sensibilità clinica. Il numero maggiore di discordanze è riferibile ad ABX ed è dovuto essenzialmente al posizionamento entro l'intervallo mentre gli altri analizzatori forniscono valori aumentati.

A-14

Valutazione di uno strumento per POCT nel dolore toracico acuto.

F. Carmignoto, C. Bilato*, A. Camerotto, M.A. Girotto.

Dipartimento di Patologia Clinica, Servizio di Medicina di Laboratorio,

**Div. di Cardiologia, Osp. Di Rovigo, Azienda ULSS 18 Rovigo*

Scopo del lavoro

La priorità assoluta nella valutazione di una strumentazione per "Point-of-care Testing" (POCT) è la disponibilità di risultati analitici affidabili. Riguarda invece una fase successiva la verifica degli effettivi vantaggi legati alla riduzione del TAT, all'influenza su una decisione medica più' rapida e lo studio del rapporto costo beneficio. Questo studio prende in esame il sistema TRIAGE CARDIAC PANEL (Biosite Diagnostics Inc.), un POCT che appare promettente per affrontare i problemi diagnostici dei pazienti con dolore toracico acuto in urgenza.

Materiali e Metodi

In 105 campioni di plasma eparinato, ottenuti da 52 pazienti con storia clinica di dolore toracico, sono stati eseguiti CK-MB (massa), Troponina I, Mioglobina su TRIAGE CARDIAC PANEL (metodo FETL). I dati sono stati confrontati con quelli ottenuti con l'analizzatore DIMENSION RxL Dade-Behring, (EIA), utilizzato di routine nel Laboratorio di Urgenza, e con le indicazioni diagnostiche delle cartelle cliniche. Le concentrazioni di cut-off utilizzate sono state quelle proposte da A. Maisel per il Triage Cardiac Panel (1 ug/L per Troponina I, 10 ug/L per CK-MB, 170 ug/L per Mioglobina) e quelle attualmente in uso per il Dimension RxL (1,5 µg/L per Troponina I, 6 µg/L per CK-MB, 100 µg/L per Mioglobina). Vengono prese in esame le correlazioni analitiche e la concordanza diagnostica delle analisi.

Risultati

Vengono qui riportati i dati di correlazione analitica tra i metodi.

CK-MB (n = 89)	$y = 0{,}929x + 2{,}505$; $r^2 = 0.92$
Troponina I (n = 98)	$y = 0{,}619x - 0{,}235$; $r^2 = 0.87$
Mioglobina (n = 80)	$y = 1{,}278x + 19{,}716$; $r^2 = 0.75$

y = Triage Cardiac Panel; x = Dimension RxL

La sensibilità del metodo Triage, considerando i risultati di Troponina I verso la diagnosi clinica, risulta dell'85,0%, la specificità del 93,8%, il valore predittivo positivo dell'89,5% e il valore predittivo negativo del 90,9%.

Discussione e Conclusioni

Correlazione analitica: i coefficienti di correlazione per Troponina I e CK-MB sono risultati ottimi ed il coefficiente di correlazione per la Mioglobina accettabile; i risultati delle analisi di regressione per tutti tre i parametri hanno mostrato un'eccellente linearità. Concordanza diagnostica: sono stati considerati i dati risultanti sopra o sotto il cut-off diagnostico per la troponina I; i valori ottenuti di sensibilità, specificità e valore predittivo risultano buoni. Utilizzando il cut-off di 0,4 µg/L che viene proposto da F.S. Apple (1), il valore predittivo positivo e negativo diventerebbe rispettivamente del 90,5% e del 100%.

In conclusione, l'affidabilità analitica del sistema TRIAGE CARDIAC PANEL appare molto buona e altrettanto elevata la concordanza con la diagnosi clinica.

Bibliografia

F.S. Apple, e altri, Simultaneous rapid measurement of whole blood myoglobin, creatine kinase MB and cardiac troponin I by the Triage Cardiac Panel for detection of miocardial infarction, Clin Chem 1999; 45:2, 199-205

A-15

Valutazione del Sistema GEM Premier 3000 Glucosio-Lattato

M. A .Girotto, F. Nocera, L. Tasinato, F. Carmignoto

Dipartimento di Patologia Clinica, Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda ULSS 18 Rovigo

Scopo del lavoro

Il rapido accesso alle informazioni fornite da alcuni test di laboratorio appare cruciale per la possibilità di prendere decisioni terapeutiche, in modo particolare nella gestione dei pazienti "critici". In questi casi, (ad esempio per l'emogasanalisi) l'esecuzione di urgenza nell'ambito del reparto di cura ("Point-of-care Testing o "POCT") richiede, come primo requisito, la massima affidabilità analitica e funzionale della strumentazione ed una grande semplicità di utilizzo. Scopo di questo breve lavoro è stato la valutazione di uno strumento che permette la determinazione simultanea di numerosi parametri d'urgenza (emogas, elettroliti, ematocrito, glucosio e lattato) su un unico campione di sangue intero e la cui tecnologia di misura consente di eliminare completamente ogni tipo di manutenzione da parte dell'utente.

Materiali e metodi

Il sistema GEM Premier 3000, prodotto dalla IL, permette la misura simultanea di emogas, Na+, K+, Ca++, ematocrito, glucosio e lattato su un campione di sangue intero. La principale caratteristica del sistema consiste nel fatto che tutti i consumabili, i sensori di misura, i reagenti, ecc., nonché tutta la fluidica, sono contenuti in una cartuccia multiuso con una vita utile di tre settimane dall'installazione. Non vi è necessità di bombole esterne per la calibrazione dei canali. Calibrazioni periodiche, eseguite automaticamente, permettono di mantenere le prestazioni analitiche a livelli ottimali. Il protocollo di valutazione prevedeva l'analisi giornaliera di una fiala di materiale di CQ per ciascun livello sul Gem Premier e l'analisi in duplicato di campioni di sangue intero anche sugli apparecchi in dotazione alla sezione di urgenza del Servizio (IL Syntesis per i canali pH, pCo2, e pO2, Dade Behring Dimension RXL per Na+, K+, glucosio e Dade ACA per il lattato).

Risultati

I valori ottenuti nello studio di correlazione sono indicati nella tabella seguente.

Canale	n	Val Min	Val Max	R2	Slope	Offset
pH	47	7,2	7,59	0,971	1,076	-0,557
pCO2	55	19	68	0,979	1,099	-3,110
pO2	55	29	204	0,979	1,009	1,786
Na+	30	124	141	0,866	0,9223	9,875
K+	30	1,9	0,866	0,844	0,757	0,886
Glucosio	30	60	421	0,986	1,077	-4,899
Lattato	30	0,7	7,3	0,899	0,981	0,067

Durante tutto il periodo della valutazione (6 settimane), tutti i valori del materiale di CQ sono rimasti all'interno del range dichiarato, con buona imprecisione between-days ed il sistema non ha mai evidenziato alcun malfunzionamento.

Discussione

Dal punto di vista analitico i risultati ottenuti dal sistema GEM Premier 3000 sono del tutto confrontabili con i sistemi di riferimento. Come ci si aspettava, la correlazione di alcuni parametri (Na+, K+, glucosio e lattato) risente della differente tecnologia di misura, nonché della differente matrice del campione. In effetti tutte le analisi eseguite sul GEM Premier sono state eseguite su sangue intero, mentre sul sistema di confronto sono state eseguite su siero). Tale differenza può essere facilmente eliminata con un programma di correlazione presente nell'analizzatore.

La eccellente riproducibilità del glucosio e del lattato permette di stimare le variazioni dei livelli sullo stesso paziente con grande accuratezza.

Infine, l'estrema semplicità di utilizzo, nonché l'elevatissima affidabilità rendono l'analizzatore IL GEM Premier 3000 uno strumento che risponde ai requisiti necessari per l'esecuzione dei test in urgenza in POCT in maniera rapida ed efficace.

A-16

Emoglobina glicata: automazione a confronto

Innocenti C., Lucchetti A.,*Giampietro O.,*Matteucci E,*Fagnani F.,*Mariani S., Innocenti B., Rossi L.

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

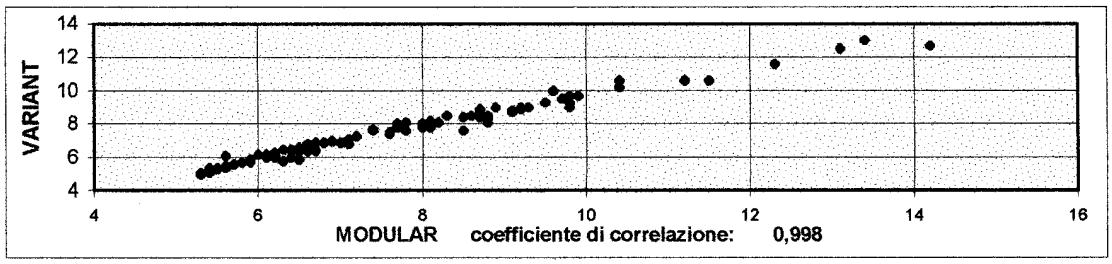
Scopo del lavoro

Il monitoraggio del paziente diabetico richiede l'esecuzione di una serie di esami che siano in grado di fornire in breve tempo un quadro reale delle condizioni generali, individuando e prevenendo le numerose complicanze che spesso si legano a tale patologia. Il diabete mellito è una malattia cronica caratterizzata dall'iperglicemia e accompagnata da disturbi nel metabolismo dei carboidrati, dei grassi e delle proteine. Danni a lungo termine come retinopatia, neuropatia, nefropatia e malattie cardiovascolari possono essere limitati da un controllo efficace del livello di glucosio ematico. Le raccomandazioni dell'ADA (American Diabetes Association) confermano il ruolo estremamente importante dell'HbA1c nel monitoraggio dei pazienti diabetici, sia di tipo 1 che di tipo 2. Scopo del nostro lavoro era valutare il nuovo strumento Variant II (Biorad), un'analizzatore completamente automatico per la determinazione qualitativa e quantitativa delle frazioni emoglobiniche e varianti mediante tecnica HPLC (cromatografia liquida ad alta pressione).

Materiali e metodi

Sono stati analizzati 100 campioni di sangue intero (con anticoagulante EDTA) provenienti dall'ambulatorio per le malattie metaboliche e del ricambio del nostro presidio. La metodica di uso quotidiano consiste in un test immunologico turbidimetrico di inibizione (Tina-quant, Modular, Roche Diagnostics) che prevede solo l'emolisi manuale del campione ematico (1 minuto) prima della procedura analitica (completamente automatica), con un tempo di analisi di circa 16 minuti (incluse le fasi di avvio dell'analizzatore). Il Variant II esegue un campionamento diretto da tubo primario con identificazione da barcode, caricamento in continuo delle provette ed emolisi on-board, a differenza della versione precedente (Diamat) che richiedeva una preincubazione dei campioni emolisati di 30 minuti a 37 °C; il suo ciclo analitico completo è di 3 minuti. Per entrambe le metodiche sono stati utilizzati i controlli forniti dalle ditte produttrici.

Risultati



controllo intraserie (10 ripetizioni)

media 4.85	media 9.23
deviazione standard 0.13	deviazione standard 0.048
CV % 0.378	CV% 0.52

Discussione e conclusioni

Entrambi le metodiche risultano ottimali nella gestione ambulatoriale dei livelli di emoglobina glicata del paziente diabetico. La nuova metodica HPLC, grazie soprattutto all'emolisi automatica, alla facilità di utilizzo e alla riduzione dei tempi di refertazione, ha permesso l'inserimento della cromatografia, una tecnica complessa ed indaginosa, nell'uso routinario di ogni laboratorio di analisi.

A-17

PERFORMANCE DI UN ANALIZZATORE GAS / ELETTROLITICO PORTATILE

(Di Fabio A.M. *, Di Michele G.*, Varrassi S.*) - Dipartimento di Patologia Clinica – U.O. Medicina di Laboratorio ASL 04 L'Aquila

Scopo In tutti i casi in cui è richiesta grande tempestività di intervento per malati critici, risulta utile disporre di strumentazioni affidabili e contenuti, impiegabili direttamente al letto del malato o nei cosiddetti "Point of care (POC)".

Materiale e metodo. E' stato sperimentato un moderno ed innovativo strumento per il dosaggio di pH, PCO2, PO2, Na+, K+,. Il sangue eparinato di 32 pazienti provenienti da reparti d'urgenza (Rianimazione, Neonatologia, UTIC) del P.O. "San Salvatore della ASL 04 – L'Aquila, è stato processato contemporaneamente con un emogasanalizzatore da banco, già in dotazione (ABL 700 della ditta Radiometer), ed un piccolissimo strumento portatile ("palmare") denominato I-Stat e commercializzato dalla ditta Abbott che funziona sul principio dei biosensori elettrochimici, si calibra elettronicamente ed è alimentato a batterie. Per ognuno dei campioni sono stati eseguiti, in parallelo, gli esami di cui sopra e successivamente si è proceduto all'elaborazione statistica dei dati con apposito software.

Risultati e conclusioni L'elaborazione dei dati ottenuti è riportata nella seguente Tabella.

PARAMETRO	pH		PO 2		PCO 2		Sodio		Potassio	
Strumento	*I - Stat*	*ABL 700*	*I - Stat*	*ABL 700*	*I - Stat*	*ABL 700*	*I - Stat*	*Aereoset*	*I - Stat*	*Aereoset*
Numero dei dati	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
1- Statistica parametrica										
Valore minimo	6.964	6.943	25	21.5	25.9	27.1	132	130	2.4	2.42
Valore massimo	7.5	7.466	177	181	94.1	93.2	150	152	6.8	5.8
Media	7.32834	7.30747	62.46875	68.70625	45.15625	48.075	141.8125	140.6562	4.29063	4.23125
Coeff.Variazione %	1.59	1.55	51.7	54.74	35.96	34.23	2.98	3.06	21.28	19.13
2- Regressione lineare e Coeff.Correlazione										
Intercetta a	0.46709		2.02203		8.82419		14.92904		0.57239	
Coeff. Angolare b	0.93341		1.06748		0.86922		0.88657		0.85276	
Coeff. Correlazione	0.95882		0.9167		0.8577		0.87075		0.96184	
3 –Test t di Student										
Test t di Student	3.56037		2.32372		1.89278		3.01166		1.2963	
Probabilità p	0.00122		0.02687		0.06776		0.00513		0.20444	

1 - La variabilità biologica tipica dei parametri oggetto di studio è adeguatamente rappresentata sia impiegando lo strumento da banco in dotazione, sia lo strumento palmare in prova;
2 - Parametri vitali e "delicati" come il pH hanno mostrato un ottimo coefficiente di correlazione; i coefficienti di correlazione ottenuti sono comunque contenuti entro limiti accettabili;
3 - il test di Student non mostra differenze statisticamente significative tra le rispettive distribuzioni;
4 - Le differenze riscontrate tra i due metodi sono emerse soprattutto a carico di quei parametri che già biologicamente dimostrano una maggiore variabilità di comportamento (PO2, PCO2, Sodio);

I dati ottenuti dal nostro studio dimostrano una affidabilità dello strumento palmare in prova, paragonabile a quella dello strumento da banco in dotazione. Il confronto è risultato positivo sia da un punto di vista più rigorosamente metodologico sia soprattutto alla luce della filosofia di base di un sistema POCT (semplicità operativa, calibrazione elettronica e controllo di qualità, strumentazione di dimensioni contenute e poco costosa, produzione automatica dei risultati, possibilità di archiviazione e trasmissione, servizio di assistenza tecnica tramite sostituzione, esecuzione del test su sangue intero al letto del malato, TAT estremamente contenuto, gestione e manutenzione ridotte al minimo). Non sono stati ravvisati motivi contrastanti con l'impiego dell' "i-stat". La favorevole impressione è confortata oltretutto da ulteriori prove eseguite direttamente al letto del malato dai clinici dei reparti. Tuttavia il tempo della sperimentazione è stato troppo contenuto ed insufficiente per la indispensabile valutazione della gestione del controllo di qualità; questo argomento è infatti estremamente critico proprio relativamente all'impiego in urgenza e nei POC di simili strumenti. A tal fine la gestione centralizzata degli stessi appare più razionale e per questo ci si ripropone di valutarla attentamente in un prossimo studio.

A-18

EFFETTO DEGLI ANTICOAGULANTI SULLE DETERMINAZIONI IMMUNOMETRICHE AUTOMATIZZATE DI ORMONI E MARCATORI TUMORALI

A. Fortunato, G. Secco, D. Giavarina, G. Soffiati

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

Scopo del lavoro

Nel processo di consolidamento ed integrazione delle determinazioni immunometriche e di chimica clinica in sistemi ad elevata automazione, che consentono di gestire anche le fasi pre-analitiche di trasporto e centrifugazione dei campioni, si evidenzia la necessità di ottimizzare il rapporto provette/paziente per incrementare l'efficienza del sistema stesso. Nella prospettiva della prossima introduzione nel nostro laboratorio di un'isola di automazione che consentirà di integrare due strumenti di immunometria e tre analizzatori di chimica clinica è stata valutata la possibilità di effettuare tutte le determinazioni (complessivamente 69 parametri) sullo stesso tipo di campione.

Materiali e Metodi

Campioni di siero, plasma con EDTA e plasma con Eparina, relativi a 60 pazienti per ciascun parametro, sono stati analizzati con il sistema ADVIA Centaur (Bayer, Tarrytown USA). Su ogni campione sono stati valutati 19 parametri (fT3, fT4, TSH, FSH, LH, PRL, E2, Progesterone, Testosterone, CEA, αFP, CA15-3 BR, CA19-9, CA125 OV, PSA, PSA Libero, Ferritina, Vit. B12, Folati) per un totale di 3420 determinazioni.

Risultati

	Siero *media ± DS*	***EDTA*** *media ± DS*	***Eparina*** *media ± DS*
fT3	3.17 ± 0.42	3.02 ± 0.56	3.07 ± 0.57
fT4	1.12 ± 0.29	1.14 ± 0.27	1.16 ± 0.26
TSH	1.94 ± 1.00	1.54 ± 0.84	1.94 ± 0.98
Progesterone	1.90 ± 4.93	2.65 ± 8.40	1.65 ± 4.37
CA 15-3 BR	18.55 ± 8.20 .	21.56 ± 8.36 .	18.66 ± 7.91 .
CA 19-9	8.37 ± 7.37	18.54 ± 13.50	8.14 ± 8.45
Vit. B12	420.85 ± 160.26	534.10 ± 675.40	432.75 ± 179.56

Le distribuzioni dei risultati ottenuti sono state valutate con il test t di Student ed il test esatto di Fisher. Nelle tabelle sono riportate le medie, le Deviazioni Standard ed i valori dei parametri statistici t e F per gli analiti che hanno dimostrato differenza significativa per almeno una delle combinazioni di tipologia di campione considerata.

	Siero vs EDTA		***EDTA vs Eparina***		***Siero vs Eparina***	
test	t	F	t	F	t	F
fT3	<0.01	<0.05	n.s.	n.s.	n.s.	<0.05
fT4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0.05	n.s.
TSH	<0.0001	n.s.	<0.0001	n.s.	n.s.	n.s.
Progesterone	n.s.	<0.001	n.s.	<0.0001	<0.01	n.s.
CA 15-3 BR	<0.0001	n.s.	<0.0001	n.s.	n.s.	n.s.
CA 19-9	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.001	n.s.	n.s.
Vit. B12	n.s.	<0.0001	n.s.	<0.0001	n.s.	n.s.

Discussione e Conclusioni

L'analisi complessiva dei dati ottenuti, valutati anche con i diagrammi di Bland-Altman, consente di evidenziare che le differenze più marcate si riscontrano nell'utilizzo dei campioni di plasma con EDTA: nel caso del CA 19-9 il valore medio della distribuzione è più del doppio di quello ottenuto con gli altri due tipi di campione. Per quanto riguarda il confronto siero e plasma con eparina si evidenzia che la positività rilevata dal test t di Student è relativa a parametri con bias molto ridotto. Viene altresì dimostrata la possibilità di utilizzare anche per le determinazioni immunometriche (attualmente eseguite su siero) il campione di plasma con Eparina, in uso nel nostro laboratorio per la chimica clinica, consentendo di utilizzare una sola provetta per ciascun paziente: oltre alla maggiore efficienza del sistema preanalitico si ottiene così anche un considerevole risparmio economico.

A-19

NUOVO METODO PER LA DETERMINAZIONE DELLA cTNI SU DIMENSION RxL: UNA RISPOSTA ALL'INTERFERENZA DA ANTICORPI ETEROFILI

M. Mion, S. Altinier, A. Cappelletti, M. Zaninotto, M. Plebani

Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera di Padova

Scopo del lavoro

L'interferenza analitica da anticorpi eterofili continua a rappresentare una potenziale fonte di errore per gli immunodosaggi: dati della letteratura evidenziano come gli anticorpi eterofili interferiscono nei sistemi analitici causando risultati sia falsamente positivi che negativi.
Scopo di questo lavoro è stata la valutazione analitica di un metodo aggiornato per la determinazione della Troponina I di origine cardiaca (cTnI) e applicato allo strumento Dimension RxL (RxL-RcTnI) (Dade-Behring; Milano, Italia), verificandone in particolare le prestazioni in presenza di alcuni tra i più comuni interferenti analitici.

Materiali e Metodi

Tutte le misure sono state condotte utilizzando campioni di plasma (litio eparina) reperiti dalla routine del nostro laboratorio. Per la valutazione analitica sono state effettuate prove di: imprecisione, in 16 giorni diversi su 3 livelli di campioni di controllo; sensibilità analitica, 20 determinazioni dello standard 0; sensibilità funzionale, profilo di imprecisione calcolato su 10 pool con concentrazioni comprese tra 0.04 e 0.22 μg/L; sono stati inoltre valutati: l'intervallo di normalità su 51 soggetti sani, 26 maschi e 25 femmine (23-62 anni); il confronto plasma-siero su 30 campioni di pazienti con valori di cTnI (plasma) tra 0 e 25.02 μg/L; il confronto tra metodi determinando in parallelo la cTnI con il metodo in valutazione (RxL-RcTnI), con il metodo applicato su Dimension RxL (RxL-cTnI) e con il metodo applicato allo strumento Stratus CS (SCS-cTnI), (Dade-Behring; Milano, Italia) su 30 e 131 campioni rispettivamente; l'interferenza da anticorpi eterofili su due campioni di pazienti con interferenza positiva (AE) come evidenziato da specifici metodi di conferma (Heterophilic Blocking Tubes, Scantibodies Laboratories, Inc; Santee, CA-USA) e su 8 campioni di pazienti affetti da cancro al colon-retto (4° stadio)(CRC); da fattore reumatoide (FR) su 4 campioni con concentrazioni comprese tra 167 e 285 IU/mL.

Risultati

Imprecisione: QC1, $\bar{x}$=0.63 μg/L, CV%=7.94; QC2, $\bar{x}$=11.77 μg/L, CV%=4.93; QC3, $\bar{x}$=19.40 μg/L, CV%=6.49. Sensibilità analitica: 0.04 μg/L. Sensibilità funzionale: 0.05 μg/L (CV=20%), 0.1 μg/L (CV=10%). Intervallo di normalità: 97.5th percentile=0.01 μg/L; 99th percentile=0.01 μg/L. Confronto plasma-siero: RxL-RcTnI plasma=1.069RxL-RcTnI siero + 0.046, r=0.995; Bias: 0.216, CI (95%): -0.022 +0.454. Confronto tra metodi: RxL-RcTnI=0.663 RxL-cTnI - 0.419, r=0.995; Bias: -3.143, CI (95%): -4.489 -1.797; RxL-RcTnI=0.986SCS-cTnI - 0.035, r=0.992; Bias: -0.06, CI (95%): -0.160 +0.039; Interferenze: nessuna interferenza da FR con il nuovo metodo, né con i metodi di confronto; l'interferenza da anticorpi eterofili evidenziata con il metodo RxL-cTnI, risulta risolta sia con il metodo RxL-RcTnI che con il metodo SCS-cTnI (RxL-cTnI: AE1=7.73 μg/L, AE2=2.64 μg/L; RxL-RcTnI: AE1=0.07 μg/L, AE2=0 μg/L; SCS-cTnI: AE1=0.03 μg/L, AE2=0 μg/L). Tutti i campioni CRC hanno fornito concentrazioni di proteina inferiori al limite di rilevabilità per ciascuno dei 3 metodi.

Discussione e conclusioni

Il metodo RxL-RcTnI applicato allo strumento Dimension RxL grazie alla nuova formulazione risolve il problema dell'interferenza da anticorpi eterofili presente nel metodo precedente (RxL-cTnI). Le buone prestazioni analitiche e la significativa correlazione con lo strumento Stratus CS consentono di identificare un'unica piattaforma analitica utilizzabile per la diagnostica biochimica d'urgenza e per il monitoraggio dei pazienti con sindrome coronarica acuta.

A-20

FORMULA LEUCOCITARIA CITOFLUORIMETRICA: QUALI POSSIBILITA' COME METODO DI RIFERIMENTO?

P Bulian, L. Toffolo, V Temporin, M. Buttarello.

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Geriatrico, Padova.

Scopo del lavoro

Il conteggio manuale eseguito secondo il protocollo NCCLS H20-A, metodo di riferimento per la formula leucocitaria, richiede un discreto dispendio di tempo, la disponibilità di più osservatori esperti ed è troppo impreciso, soprattutto in rapporto ai metodi confrontati (i contaglobuli automatici). Una possibile alternativa è rappresentata dalla differenziazione eseguita al citofluorimetro. In questo lavoro la differenziazione è stata ottenuta utilizzando una marcatura simultanea a 4 fluorescenze, senza pre- o post-lavaggi, con analisi multiparametrica, al fine di valutarne la concordanza con il metodo di riferimento. Per brevità non vengono qui analizzati i dati quali/quantitativi relativi a granulociti immaturi, blasti, eritroblasti, linfociti attivati.

Materiali e metodi

La popolazione studiata è costituita da 57 soggetti normali e da 50 patologici. La differenziazione manuale è stata eseguita da due osservatori esperti con due letture indipendenti a 200 cellule, secondo i criteri del protocollo NCCLS H20-A. Per la formula citofluorimetrica sono stati utilizzati CD15 Fitc, CD16 Pe (clone 3G8), CD2 Pe, HLA-DR Pe, CD45 PerCP, CD14 APC (Becton Dickinson), con incubazione di 30 minuti a 4°, lisi in NH4Cl per 10 minuti ed immediata lettura di 20000 eventi su FACSCalibur. Per ogni campione i dati sono stati analizzati indipendentemente da due esperti secondo un preciso protocollo predefinito, utilizzando il programma PAINT-A-GATE-Pro. La concordanza tra il metodo di riferimento e quello citofluorimetrico è stata studiata in tre modi: 1) secondo il protocollo NCCLS H20-A con un grafico in cui il 95% dei punti deve ricadere entro i limiti binomiali; 2) con regressione lineare standard e "secondo Deming" (riportata in tabella); sono stati utilizzati due metodi di regressione perchè in questo contesto la "Deming" fornisce i risultati più corretti, ma è poco usata, la standard sottostima, ma essendo usata da tutti serve per paragonare altre esperienze; 3) con bias plot e test t per dati appaiati.

Risultati

	Neutrofili	Linfociti	Monociti	Eosinofili	Basofili
pendenza	1.01 (0.97 - 1.06)	1.03 (0.99 - 1.07)	1.15** (1.08 - 1.22)	1.02 (0.97 - 1.06)	1.02 0.96 - 1.08)
intercetta	0.08 (-1.97 - 2.13)	-2.63** (-4.36 - -0.91)	0.25 (-0.31 - 0.82)	0.24* (0.04 - 0.44)	0.10 (-0.01 - 0.20)
r^2	0.96	0.97	0.91	0.96	0.92
dif.media	-0.18	-1.13**	0.96**	0.09	0.09*

*p<0.05, **p<0.01

Discussione

I risultati appaiono buoni, con una concordanza superiore a quella riscontrabile in letteratura per i contaglobuli automatizzati; una valutazione più accurata delle differenze richiederà uno studio più ampio. Esiste una significativa sovrastima proporzionale nel conteggio citofluorimetrico dei monociti; è possibile che questo dipenda dalla distribuzione non omogenea di questa popolazione sullo striscio, fattore corretto solo parzialmente dalla scelta dei campi (merlatura, bordi). Significativa, ma di piccola entità, la sovrastima costante degli eosinofili, mentre è più importante la sottostima dei linfociti. Ripetendo l'analisi separatamente nei due gruppi (normali e patologici) risulta che la differenza globale è totalmente imputabile ai normali; una verifica ha dimostrato una tendenza generale in questo (miglior concordanza nel gruppo patologici) anche per le altre popolazioni. I campioni patologici erano analizzati per primi in ogni seduta, ciò suggerisce un effetto del lisante e, in uno studio futuro, impone l'uso di fissativi per eliminare questa causa di variabilità.

A-21

Influenza del Lypoclear ® sul dosaggio di HCG e TSH su analizzatori automatici

F. Poltronieri, R.M.Dorizzi, R. Guidarini Laboratorio Analisi Ospedale Verona, Verona

Premessa

La metodica ADVIA Centaur (Bayer- Torrytown, U.S.A.); per TSH e HCG raccomanda di non utilizzare campioni con concentrazione di trigliceridi superiore a 11.3 μmol/L .La metodica Dimension RxL(Miami ;FL,U.S.A.) raccomanda di non utilizzare per la determinazione di HCG campioni con concentrazione di trigliceridi superiore a 33.8 μmol/L

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare l'eventuale interferenza sui dosaggi del LypoClear ® utilizzato per chiarificare i sieri.

Materiali e metodi

LypoClear ® (Exxe s.r.l; Milano, Italia): Utilizza un polimero non ionico ed atossico in grado di rimuovere le lipoproteine dal campione.

Procedura di chiarificazione con LypoClear ®

- ✓ Aggiungere 0.5 ml di siero ad una provetta di LypoClear ®
- ✓ Agitare su vortex per 1 minuto e lasciare a t.a. per 5 minuti.
- ✓ Centrifugare a 2000g per 20 minuti, prelevare il liquido chiarificato .

Al fine di compensare la diluizione il risultato ottenuto deve essere moltiplicato per 1.2

Abbiamo misurato il TSH su campioni lipemici e non lipemici dello stesso paziente inviato in due giorni di seguito e non sottoposto a terapia.

Sono stati analizzati un campione lipemico e un campione non lipemico a concentrazione nota trattati con LypoClear ®. Allo stesso campione è stato aggiunto un campione lipemico (trigliceridi >33.8μmol/L) a concentrazione nota e analizzato prima e dopo trattamento con LypoClear ®.

L' eventuale interferenza per HCG è stata valutata sia su ADVIA Centaur che su Dimenson RxL .

Due campioni non lipemici a concentrazione nota, sono stati trattati con LypoClear ® e rianalizzato su entrambi gli autoanalizzatori.

Ai due campioni è stata aggiunta una quantità nota di siero lipemico (Trigliceridi >33.8μmol/L) sicuramente HCG negativo (maschio, sano) e dosati sui due autoanalizzatori.

I campioni con aggiunta di lipidi sono quindi stati trattati con LypoClear ® e si è proceduto al dosaggio del chiarificato.

HCG UI/L	**ADVIA Centaur**	**Dimension RxL**
Pz. A.F.(positivo non limpemico)	232899	180600
Pz. A.F + siero lipemico (maschio sano)	209348	167800
Pz. A.F + siero lipemico trattato con LypoClear ®	227916	221760
Pz. S.M. (legg positivo non lipemico)	5,1	6
Pz. S.M + siero lipemico (maschio sano)	7,8	12
Pz. S.M + siero lipemico trattato con LypoClear ®	6,48	4,8

Conclusioni.

Nei particolari casi in cui è necessario misurare HCG e TSH su campioni lipemici, LypoClear ® consente determinazioni accettabili di TSH e HCG su ADVIA Centaur e Dimension RxL.