

E' possibile ottimizzare il TAT anche in Immunometria e in Sierologia?

Gruppo di lavoro: Carrara Nives, Castellino Flavio, Garro Claudio, Martinengo Manuela, Pianezza Dario, Sartiero Bruna, Virgone Fulvio, Zuccarofino Michele. Bracco Guglielmo. Dipartimento di Laboratorio A.S.O. S.Croce e Carle Cuneo.

Premesse e obiettivi: L'identificazione e la rintracciabilità dei campioni e dei materiali ha costituito sempre un problema notevole, sia nell'ambito organizzativo tradizionale (registri cartacei e cartellini di identificazione), sia nell'ambito organizzativo moderno, informatizzato.

Nella attività quotidiana del Laboratorio Analisi si riscontrano problemi legati a:

- diverse specie di campioni (da processare manualmente oppure su differenti strumentazioni, con tempi di processazione differenti),
- diversi tempi di presentazione (accettazione di qualunque analisi in ogni momento della giornata e della notte),
- diversi tempi di refertazione (differenti fasce orarie per urgenze di ambulatorio, dei reparti, delle sale operatorie, del pronto soccorso, e per urgenze legate agli espianti; esami con tempi di risposta di ore, di giorni e di settimane).

Questo problema è particolarmente sentito in aree come la Sierologia e l'Immunometria, dove le incongruenze possono essere legate sia ai tempi di processazione sia a problemi di razionalizzazione dei costi (si intende la necessità di arrivare ad un numero sufficiente di campioni da giustificare l'utilizzo di un kit a costo elevato).

L'analisi e la soluzione di questa problematica, per quanto riguarda i settori di Sierologia ed Immunometria, ha comportato il coinvolgimento di tutti gli operatori dei settori in questione, in stretta collaborazione con il responsabile dell'informatizzazione.

L'obiettivo del nostro gruppo è stato quello di creare e di collaudare un sistema di identificazione e di rintracciabilità dei campioni e dei materiali, che permettesse di ottimizzare le fasi del processo riducendo al minimo l'intervento umano, utilizzando procedure standardizzate e riproducibili.

Materiali e metodi:

1. Sistema gestionale (LIS) di Metafora, Milano.
2. Schede ottiche di identificazione degli esami con codice a barre (Reggiani, Milano).
3. Lettore automatico di schede ottiche (OpScan-AXIOME).
4. Collegamento on-line degli analizzatori (82% del totale delle analisi, pari a 641 analisi / giorno)
5. Doppia possibilità di smistamento dei campioni, automatico e manuale, con check-in dei campioni.
6. Ulteriore smistamento dei campioni all'interno dei due settori.
7. Archiviazione immediata di schede ottiche e campioni processati.
8. Utilizzo di questionari diretti agli utenti del servizio (utenti ospedalieri, e utenti ambulatoriali)

I software necessari a completare il sistema gestionale, nei processi interni legati alla rintracciabilità e alla aliquotazione dei campioni, sono stati realizzati con Visual Basic della Microsoft con base dati in Access. Gli applicativi realizzati sono multi-utente e installabili su qualsiasi Client del Laboratorio.

Discussione e risultati: Si è osservato un miglioramento notevole della efficienza:

1. diminuzione dei tempi di reperimento dei campioni – sino alla rintracciabilità immediata -.
2. diminuzione delle segnalazioni da parte degli utenti intraospedalieri (la risoluzione dei problemi segnalati avviene in modo immediato nel 48% dei casi, nel 51% dopo query interna).
3. maggiore soddisfazione degli utilizzatori, a motivo della flessibilità del lavoro.
4. aumento della qualità percepita dal paziente ambulatoriale. (89% dei pazienti soddisfatti dei tempi di risposta).

Conclusioni: Nella nostra esperienza, il sistema da noi collaudato (utilizzo di codice a barre, processazione parallela delle richieste / campioni / sorter / archiviazione campioni / schede ottiche) ha migliorato le performance globali del nostro laboratorio: come affidabilità, come efficacia, come efficienza e qualità, fornendo una soluzione alle nostre esigenze. Il risultato si presta ad essere applicato in altre realtà.

LABORATORIO INTEGRATO DI EMATOLOGIA E COAGULAZIONE

M. Nicoli, R. Facchinetti, N. Modena. P. Rizzotti

Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliera, Ospedale Civile Maggiore, Verona

Scopo del lavoro

L'esigenza di un moderno servizio di Medicina di Laboratorio di integrare la fase preanalitica ed analitica per ridurre gli errori, contenere i tempi di risposta, ottimizzare le risorse umane, garantendo anche maggior sicurezza e professionalità del personale, ha portato alla progettazione e realizzazione di una sezione integrata di ematologia e coagulazione altamente automatizzata.

Struttura del progetto

Il progetto si avvale di un insieme di tecnologie forniteci dalla ditta DASIT (Milano) costituito da:

A un'isola ematologica HST402 (Sysmex, Japan) composta da tre analizzatori XE2100, uno strisciante-coloratore di vetrini SP100, un sistema di trasporto dei racks CONVEYOR UNIT, un PC gestore della catena LASC, una Work-station PCDPS interfacciata al LIS.

B un PC per archiviazione elettronica di immagini catturate con telecamera montata su microscopio Olympus, LAFIA (Sysmex, Japan) collegato via intranet con il PCDPS

C un sistema integrato di coagulazione composto da tre analizzatori CA7000 (Sysmex, Japan), collegati con cavo seriale ad una Work-station, COALAB (Sisge, Torino) interfacciata al LIS.

D un PC per la gestione dei pazienti in TAO ed archivio dei pazienti trombofilici, TAOLAB (Sisge, Torino) collegato via intranet con il COALAB.

E un sistema di preanalitica TCA (Thermo Clinical LabSystems, Finland) interfacciata al LIS composto da 6 moduli:

- 1) un Rack Entry: modulo di caricamento dei campioni di ematologia coagulazione e VES, dove viene eseguito il check-in e lo smistamento verso i moduli successivi.
- 2) un modulo Centrifuge: per la centrifugazione secondo lo standard NCCLS H18-A dei soli campioni di coagulazione
- 3) un modulo Decapper: per stappare solo i campioni dedicati alla coagulazione speciale
- 4) un modulo Aliquoter: per aliquotare e rietichettare i campioni dedicati alla coagulazione speciale
- 5) un Rack Exit: modulo di smistamento su rack dei campioni di ematologia, VES, coagulazione di routine e coagulazione speciale
- 6) un Rack Check: modulo di parcheggio dei campioni non identificati

Risultati

In questo progetto la preanalitica TCA è lo strumento di integrazione tra l'isola ematologica HST402-LAFIA e il sistema CA7000-COALAB-TAOLAB. Tutte le provette che afferiscono alla sezione vengono caricate casualmente sul Rack Entry, il TCA provvede automaticamente allo smistamento dei campioni in base ai test richiesti, alla centrifugazione e alla aliquotazione dei test speciali, infine le provette vengono suddivise in base alle tipologie di esami e posizionate direttamente su racks dedicati dei sistemi analitici. Con questa organizzazione vengono processati i campioni della routine, di urgenza e i test di coagulazione speciale entro poche ore dal prelievo.

Discussione e Conclusioni

La realizzazione di questo progetto rientra nella logica di riorganizzazione, sistematizzazione e consolidamento dei moderni laboratori verso obiettivi di efficienza ed efficacia portando ad un alto livello di standardizzazione e ottimizzazione tutte le procedure di lavoro, qualificando e motivando tutto il personale addetto. Questo ha inoltre permesso di creare un'area di lavoro flessibile a bassissimo rischio biologico per gli operatori, in grado di soddisfare le esigenze di crescita del laboratorio.

CITOFUORIMETRO U-F100 E CRISTALLURIA

M. Mercadanti, A. Caleffi, M. T. Marino, C. Monica
Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche, Dipartimento Diagnostica di Laboratorio,
Azienda Ospedaliera-Universitaria, Parma

Scopo del lavoro

E' ormai riconosciuto, in letteratura, il notevole miglioramento apportato dalla citofluorimetria urinaria nella standardizzazione dell'esame urine. Molti Autori hanno valutato le prestazioni del citofluorimetro U-F100 in rapporto al conteggio delle componenti cellulari dell'urina, mentre esistono poche segnalazioni mirate allo studio della componente non organizzata, in particolare della cristalluria. Lo scopo del nostro lavoro è stato la valutazione della concordanza fra la segnalazione di cristalli fornita dall'U-F100 ed il riscontro microscopico e la verifica microscopica della tipologia della cristalluria segnalata.

Materiali e Metodi

Nel periodo luglio-agosto 2002 sono stati presi in esame 1518 campioni di urina provenienti dalla routine giornaliera, processati con il citofluorimetro U-F100 (TOA Medical Electronics, Kobe, Japan): i campioni che presentavano il flag positivo per cristalli ($X_{Tal} > 40/\mu l$) sono stati verificati al microscopio ottico in due modalità: conteggio dei cristalli su urina nativa utilizzando vetrini con cerchi di conta e conteggio sul sedimento urinario, secondo il metodo tradizionale.

Risultati

Il nostro studio ha evidenziato: **a)** una incidenza di campioni positivi per cristalli all'U-F100 pari al 7.5% (min.5.3-max.12.9%); **b)** il riscontro microscopico del sedimento urinario documentava la presenza di cristalluria nell'85.5% dei casi segnalati dall'U-F100; **c)** la tipologia dei cristalli segnalati era così rappresentata: ossalato di calcio 81.7%, fosfati amorfi 8.6%, urati amorfi 6.1%, acido urico 3.4%; **d)** la presenza dei cristalli di ossalato di calcio era generalmente associata ad un caratteristico aspetto morfologico dello scattergram, facilmente riconoscibile; **e)** nel 22.5% dei campioni con ossalati si documentava una interferenza nel conteggio delle emazie, espressa anche da una anomala distribuzione delle emazie allo scattergram; **f)** il conteggio dei cristalli su urina nativa ha espresso una concordanza con la lettura sul centrifugato pari al 98.2%.

Discussione e Conclusioni

I nostri dati evidenziano che la segnalazione di cristalluria indifferenziata fornita dal citofluorimetro è sostanzialmente riferibile alla presenza di cristalli di ossalato di calcio, mentre gli altri cristalli, in particolare l'acido urico, non vengono segnalati in modo adeguato. La presenza di acido urico, riscontrata nei campioni sottoposti a verifica microscopica per discrepanza fra emoglobina ed emazie o per la segnalazione Review, conferma l'importanza della cristalluria quale possibile fattore interferente nel conteggio della cellularità. Tuttavia riteniamo che la valutazione comparata dei parametri chimico-fisici dell'urina e della citofluorimetria, con particolare attenzione allo scattergram, consenta una corretta selezione dei campioni da sottoporre alla verifica microscopica. Riteniamo altresì che, per la tipizzazione della cristalluria segnalata dall'U-F100, il conteggio su urina nativa possa costituire una valida alternativa al conteggio su centrifugato, consentendo di velocizzare il lavoro.

IFI: NUOVO APPROCCIO METODOLOGICO E TECNOLOGICO

*C. Alpini, S. Avalle, S. Valaperta, G.B. Vadacca, R. Moratti.
Servizio di Analisi Chimico Cliniche I.R.C.C.S. policlinico S. Matteo Pavia*

Scopo del lavoro

In questo lavoro ci siamo proposti di descrivere la nostra esperienza relativa all'utilizzo di un sistema completamente automatizzato per lo screening e la titolazione in immunofluorescenza indiretta (IFI) di autoanticorpi nello studio della diagnostica delle patologie autoimmuni.

Materiali e metodi

Nel nostro laboratorio, in base all'algoritmo di lavoro da noi predisposto (screening anticorpale completo relativo all'IFI di sieri di pazienti giunti in giornata, titolazione dei campioni positivi allo screening del giorno precedente), vengono processati sieri di pazienti con sospetta malattia autoimmune mediante l'utilizzo dello strumento PLATO AUTOIMMUNITA' (MENARINI). L'analisi del campione viene effettuata su provetta primaria giunta dal reparto già munita di etichetta barcode. Ultimata la fase di accettazione dei prelievi, viene stampata la lista di lavoro relativa al settore autoimmunità; questa in un secondo tempo viene inviata allo strumento PLATO AUTOIMMUNITA' che è connesso on-line al sistema informatico del laboratorio. Il riconoscimento del campione e dei test ad esso correlati, avviene attraverso la lettura del barcode stesso mediante un lettore ottico presente all'interno dello strumento. Terminata l'acquisizione della lista di lavoro, viene presentata a video la lista relativa a tutti i campioni della giornata. In base alla tipologia dei test richiesti è possibile selezionare tra i vari profili di lavoro, quello più adatto alla routine giornaliera. Scelto il profilo, sul video dello strumento appaiono le modalità di caricamento ed il materiale necessario per la seduta analitica (il numero effettivo di pozzetti necessari per ogni test compresi quelli previsti per i controlli interni). La cadenza analitica dello strumento è buona nelle fasi di prediluizione, dispensazione su vetrino, lavaggio e rispetta fedelmente i tempi di esecuzione manuale. A fine lavoro è possibile stampare il report dell'eseguito relativo ad ogni test ed utilizzarlo come foglio di lavoro per la successiva lettura al microscopio a fluorescenza. Anche la titolazione dei campioni positivi viene effettuata tramite l'utilizzo di una lista di lavoro. In questo caso nella lista da noi creata ed inviata allo strumento è possibile scegliere per ogni campione e per ogni test il numero delle titolazioni da eseguire e quella di partenza. Presso il nostro laboratorio, grazie alla presenza di un sistema di acquisizioni di immagine (GREENLIGHT), è possibile creare una cartella per paziente allegando i quadri fluoroscopici ad esso relativi nel tempo, ed anche immagazzinare nell'archivio generale immagini relative a quadri fluoroscopici particolari e rari.

Conclusioni

- Grazie all'utilizzo dello strumento PLATO AUTOIMMUNITA' siamo in grado di far fronte all'elevato numero di richieste, di eliminare la variabilità analitica insita nella preparazione manuale dei vetrini in IFI e di standardizzare procedure e protocolli operativi. Questo strumento infatti lavora non come un semplice preparatore di vetrini, ma come un vero e proprio apparecchio con filosofia random, consentendoci di assimilare un settore critico come l'autoimmunità ad uno qualsiasi degli altri settori del laboratorio.
- Notevole riduzione dei tempi di esecuzione, qualunque sia la tipologia della richiesta relativa all'IFI: i risultati sono disponibili in giornata per i campioni negativi ed il giorno successivo per quelli positivi.
- Possibilità di utilizzare liste di lavoro scaricate direttamente dal sistema gestionale del laboratorio come per gli altri settori.
- L'inserimento dei risultati e la validazione del referto, punto cardine di questa diagnostica, vengono facilitati dall'automazione combinata all'utilizzo del sistema informatico gestionale.

DIMENSION (DADE BEHRING) E IMMULITE 2000 (DPC) NELLA DETERMINAZIONE DELLA CONCENTRAZIONE PLASMATICA DI FENOBARBITAL

F.Poltronieri, R.M.Dorizzi, S.Meneghelli, A.Ferrari, A.Pretto P.Rizzotti

^aLaboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliera di Verona, Verona;

Scopo del Lavoro

La determinazione della concentrazione plasmatica dei principali farmaci è oggi sempre meno eseguita nei laboratori di grande e di piccole dimensioni impiegando analizzatori dedicati ma viene "consolidata" sugli stessi analizzatori impieganti per le analisi di chimica clinica o di immunometria. Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare se le prestazioni della determinazione di fenobarbital impiegando l'analizzatore automatico Immulite 2000 erano confrontabili a quelle ottenute con l'analizzatore Dimension RxL impiegato attualmente in routine.

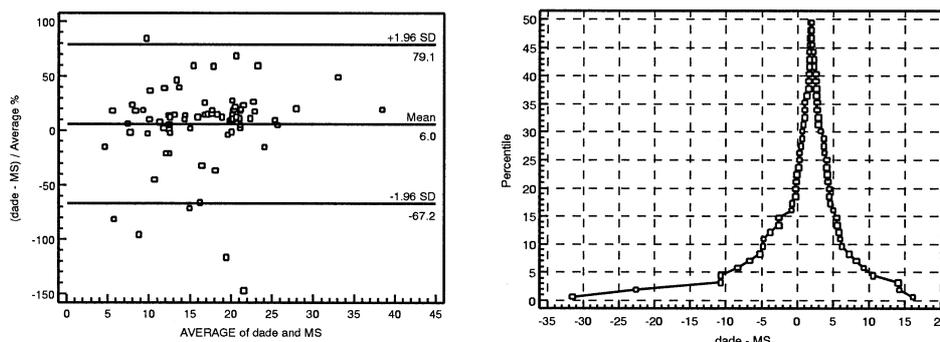
Materiali e Metodi

Sono stati raccolti 78 campioni di plasma in pazienti in trattamento in ambulatorio o in reparto in cui è stata richiesta la determinazione di fenobarbital. In tutti i campioni la concentrazione è stata misurata usando l'analizzatore Dimension RxL (Dade Behring, Milano) e l'analizzatore Immulite 2000 (DPC, Medical Systems, Genova).

Risultati

La media dei risultati con Dimension è risultata 16.1 mg/L (\pm 6.3mg/L); la mediana 16.05 (intervallo: 5-37.3 mg/L); quella di Immulite 2000 è risultata 17.4 mg/L (\pm 7.5 mg/L); la mediana 18.2 (intervallo: 3.4-42.1 mg/L). L'equazione della retta di regressione (Passing-Bablok) è risultata Immulite = 1.39 (Intervallo di confidenza al 95%: -0.144; 2.76) + 0.795 (IC 95% 0.72; 0.89) Dade. La correlazione è risultata 0.582.

La figura mostra il Bland Altman plot (sinistra) ed il Mountain plot (destra) della differenza dei due metodi



Discussione e conclusioni

Tutti i parametri del confronto della determinazione del fenobarbital eseguita con i due metodi dimostrano che i risultati non sono confrontabili in modo adeguato e non consentono l'adozione di un metodo in sostituzione o alternativo dell'altro. Questi risultati suggeriscono grande cautela nel confronto di metodi diversi per la determinazione immunometrica anche di una molecola a basso peso molecolare come quella del fenobarbital ovvero la necessità di indicare il metodo di analisi impiegato.

LA DETERMINAZIONE DI IgE TOTALI CON SISTEMI BN II (DADE BEHRING) E UNICAP (PHARMACIA)

M.Filippini, R.M.Dorizzi, G.Righetti, B.Cortivo, A.Ferrari, N.Melloni, P.Rizzotti

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

Scopo del Lavoro

In molte aree del laboratorio è di attualità sempre maggiore la necessità di consolidamento di analisi diverse in un numero sempre minore di analizzatori. Scopo del nostro lavoro è stato quello di determinare se il passaggio della determinazione delle Immunoglobuline E totali (IgE) dall'analizzatore BN II all'analizzatore Unicap richiedeva un aggiornamento degli intervalli di riferimento.

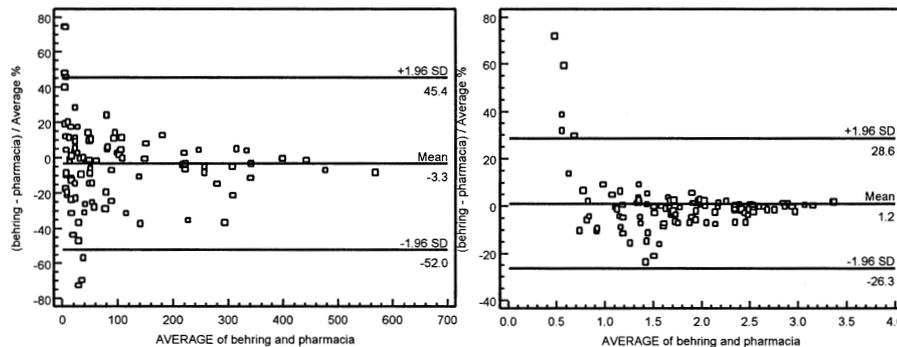
Materiali e Metodi

Sono stati selezionati random 108 campioni provenienti dalla routine misurati con Unicap (Unicap Total IgE, Pharmacia, Uppsala, Sweden); questi sono stati rianalizzati il giorno stesso impiegando l'analizzatore BN II (N Latex IgE mono, Dade Behring, Marburg, Germany). I due analizzatori sono stati utilizzati da un operatore esperto nell'impiego dello strumento seguendo le raccomandazioni del produttore.

Risultati

La media della concentrazione di IgE usando Dade Behring è risultata di 196.6 ng/L (Deviazione Standard = 399.8 ng/L; Errore Standard = 38.5 ng/L; intervallo: 4.4-2530 ng/L), la mediana 50 ng/L. La media della concentrazione di IgE usando Unicap è risultata di 194.9 ng/L (DS = 359.9; Errore Standard = 34.6 ng/L; intervallo: 2.0-2136 ng/L), la mediana 55 ng/L. L'equazione della regressione (Passing Bablok) è risultata: Pharmacia = - 0.1439 (intervallo confidenza al 95% -1.49-1.28) + 1.014 (intervallo confidenza al 95% 0.987-1.047). Il coefficiente di correlazione è risultato 0.994.

La figura mostra il Bland Altman plot delle concentrazioni ottenute (a sinistra) e dopo conversione logaritmica (a destra).



Discussione

Il confronto dei risultati ottenuti su campioni della routine ha dimostrato una buona consistenza tra i due analizzatori nell'ambito delle concentrazioni che si rilevano nella pratica clinica ad eccezione delle concentrazioni molto basse.

Conclusioni

La determinazione delle IgE totali può essere trasferita dall'analizzatore BN II all'analizzatore Unicap senza necessità di ricalcolare gli intervalli di riferimento ed i valori di cut-off.

VALIDAZIONE DELLA CONTA DELLE PIASTRINE FORNITA DAL SISTEMA COULTER LH 750 MEDIANTE IL METODO DI RIFERIMENTO ICSH/ISLH

A. Mestice, A. Pannunzio, R. Mallardi, R. Rizzi, F.S. Di Maso, L. Pascazio, M. Mattia, M. Gentile, G. Specchia, V.Liso.

Istituto di Ematologia, Università degli Studi, Bari

Scopo del lavoro

Le piastrine sono state oggetto di numerosi studi che hanno chiarito molti aspetti sulla loro struttura e funzione. Recentemente sono state applicate allo studio delle piastrine anche metodologie citofluorimetriche, limitate per anni alla valutazione del contenuto di DNA e dell'immunofenotipo cellulare. La più semplice e pratica tecnica citofluorimetrica applicata alle piastrine è oggi la conta basata sull'espressione di CD61-CD41, proposta dall'ICSH/ISLH (International Council for Standardization in Hematology/International Society of Laboratory Hematology) come metodo di riferimento in alternativa alla conta manuale. Scopo di questo lavoro è stato la validazione delle conte piastriniche ottenute sull'analizzatore ematologico Coulter LH 750 mediante il nuovo metodo immunologico.

Materiali e Metodi

I campioni di sangue periferico anticoagulato con EDTA sono stati ottenuti da 110 pazienti con malattie ematologiche, all'esordio o durante il follow up. La conta immunologica delle piastrine è stata effettuata determinando il rapporto tra numero di piastrine (CD41+/CD61+) e numero di RBC su citofluorimetro FACSCalibur e poi moltiplicando tale valore per 1000 e per il valore di RBC ottenuto dall'analizzatore ematologico LH 750, come indicato dall'ICSH/ISLH⁽¹⁾. L'analisi statistica per valutare la correlazione tra la conta fornita dall'analizzatore ematologico e la conta immunologica ottenuta con il metodo di riferimento è stata effettuata con il software Analyse-it for Microsoft Excel (NCCLS EP9), confrontando le differenze tra i valori ottenuti con i due metodi con il valore fornito dal metodo di riferimento.

Risultati

La riproducibilità del metodo citofluorimetrico è stata determinata effettuando 10 determinazioni su 8 campioni con numero di piastrine da 5 a $553 \times 10^3/\mu\text{l}$; i coefficienti di variazione ottenuti andavano da 1.00 a 5.04. Non sono state rilevate differenze significative nei valori di media e mediana delle 110 determinazioni ottenute con i due metodi. Il coefficiente di correlazione era pari a 0.995 sulla casistica totale, 0.952 sui 45 casi con piastrine tra 2 e $50 \times 10^3/\mu\text{l}$, 0.769 sui 28 casi con piastrine tra 1 e $20 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Discussione e Conclusioni

E' fondamentale poter contare su analizzatori ematologici che forniscano al clinico una conta accurata, precisa e rapida delle piastrine poiché tale parametro è determinante soprattutto nella gestione terapeutica dei pazienti con emopatie maligne sottoposti a chemioterapie intensive. Questo studio ha confermato la semplicità del nuovo metodo di riferimento per la conta delle piastrine ed ha consentito di verificare l'accuratezza dei valori di piastrine forniti dal sistema Coulter LH 750. In particolare è stato dimostrato che l'implementazione di reagenti e algoritmi di analisi ha ridotto il numero di casi per i quali è richiesta la validazione dei risultati ed ha migliorato la performance dell'analizzatore anche nei casi con numeri di piastrine particolarmente bassi e con una eterogenea popolazione piastrinica.

1. International Council for Standardization in Hematology Expert Panel on Cytometry and International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet counting by the RBC/Platelet ratio method. A reference method. Am J Clin Pathol 2001; 115: 460.

L'ORGANIZZAZIONE E L'AUTOMAZIONE SUPERANO IL CONCETTO D'URGENZA.

F. Fabbi, G. Rossetini, M. Stocchero, B. Faresin, R. Frigo, D. Urbani, S. Consolaro, F. Fortuna, E. Pozzo, L. Urbani, A. Bedin.

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

Introduzione

In risposta ad un cambiamento del concetto d'urgenza e all'incremento complessivo dell'attività nel nostro laboratorio è stata realizzata un'*automazione integrata*, chiamata LAB-CELL (Bayer, Milano). Questa unità operativa consente, con un unico campione di plasma, di eseguire parametri chimico-clinici appartenenti precedentemente a settori diversi (farmaci, ormoni, chimica generale, marcatori tumorali, marcatori cardiaci).

Il progetto

In occasione della costruzione del nuovo laboratorio del nostro ospedale si è provveduto a progettare preventivamente il luogo di installazione del sistema automatico LAB-CELL; questo complesso analitico-meccanico-informatico è composto da un software gestionale *Centralink*, da tre analizzatori di chimica clinica generale (ADVIA-1650), da due analizzatori immunometrici (ADVIA-Centaur), da un sistema di carico e scarico delle provette (loader-unloader), da due centrifughe con due stappatori ciascuna ed infine un sistema di trasporto con diverse uscite-entrate a "sganciamento automatico", che consente alla provetta di arrivare in posizione per la specifica macchina (centrifuga, stappatore e analizzatore).

Obiettivi

Gli obiettivi della realizzazione sono i seguenti

- a) integrazione delle urgenze nella routine, con superamento del concetto di urgenza e modalità operativa in continuo
- b) diminuzione del TAT (turn around time)
- c) diminuzione del numero delle provette
- d) diminuzione dei costi
- e) riduzione della complessità organizzativa
- f) riduzione della manualità e degli errori casuali
- g) diminuzione dello spazio
- h) nuova professionalità del tecnico: da operatore a controllore di processo

Risultati e conclusioni

Per raggiungere questi obiettivi si è resa necessaria la revisione organizzativa del servizio passando da una situazione precedente dove esistevano due laboratori, uno di routine e l'altro di urgenza, ad un unico laboratorio, operante in continuo (24 ore su 24) con un TAT medio per tutti i campioni di 45' minuti. Con un'unica provetta è ora possibile eseguire 54 test con soli 4 mL di plasma, prima della realizzazione erano necessarie tre provette. L'analisi dei costi risulta per ora non completa in relazione alla valutazione dell'effettivo numero di tecnici necessari per il funzionamento del sistema, valutazione che potrà essere fatta dopo almeno un anno di attività. Lo spazio occupato dal complesso analitico è nettamente inferiore (circa 50 mq) a quello precedentemente occupato. Il personale tecnico, in relazione a questa "rivoluzione" organizzativa e di dotazione strumentale ed informatica, ha dovuto seguire numerosi corsi di addestramento e sono stati necessari altrettanto numerosi confronti con i dirigenti del laboratorio, i tecnici dell'azienda aggiudicataria del progetto e al proprio interno al fine di modificare le proprie abitudini e soprattutto al fine di condividere le scelte operative. Pertanto alla fine del percorso si può sicuramente affermare che la professione del tecnico è cambiata ed in particolare che esso è diventato un vero controllore del processo.

PROGETTO WEBL@B: DALLA RICHIESTA ANALITICA, ALL'ARCHIVIO DEL MEDICO DI BASE, LA GESTIONE IN-OUT DEL DATO DI LABORATORIO

B. Martini, U. Pizzolato, D. Zarantonello, A. Bolzon, E. Filatondi

Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale S. Bortolo (Vicenza)

Il Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia di Vicenza, ha realizzato in collaborazione con la Direzione Sanitaria, il Servizio di Medicina Territoriale e il Servizio per l'Informatica generale, il progetto WEBL@B (Bayer, Milano). Un innovativo sistema di gestione richieste e referti ove "INTERNET" unisce il Laboratorio ai Medici di base.

Si sono collegati i Personal Computer dei Medici del territorio con il Laboratorio implementando sia la fase di richiesta sia quella di refertazione, tramite un software dedicato, una WEB Page e l'utilizzo della posta elettronica.

OBIETTIVI:

- Azzerare i tempi di comunicazione dei dati di Laboratorio, collegando in Real-Time il Medico.
- Sicurezza del "DATO" in quanto on-line non significa solo velocità ma anche eliminazione di ulteriori interventi o/e manipolazioni, depositando i dati direttamente nella cartella clinico-anamnestica del Paziente.
- Comunicazione tra il Clinico e il Laboratorio creando interrelazione on-line tra domanda clinica e referto di laboratorio.
- Follow-up delle storie cliniche permettendo al Medico del territorio il richiamo cumulativo di tutti i parametri anche precedenti.
- Migliorare l'immagine del Laboratorio verso l'utenza intesa sia come Medico curante che come Paziente.

METODI E RISULTATI:

L'uso della rete WWW con Browser configurato unito ad un software per la gestione della posta elettronica ha permesso, utilizzando un programma dedicato, di fondere le potenzialità di Internet con quelle di un moderno laboratorio.

Sono stati coinvolti, oltre al Laboratorio, la Direzione Sanitaria, il Servizio d'Informatica Generale per garantire la sicurezza e la privacy dei dati, il Servizio di Medicina Territoriale per contattare e diffondere il progetto ai Medici di base.

E' stata fatta una presentazione generale ai Medici del territorio e successivamente si sono presentati in Laboratorio per la personalizzazione e l'istruzione sull'operatività.

CONCLUSIONI:

Attualmente sono collegati 70 Medici di base con invio di circa 300 referti al giorno attraverso posta elettronica.

I feed back dell'utenza sono estremamente positivi sia dal punto di vista del Medico curante che, gestendo in prima persona il "DATO", si riappropria del rapporto con il paziente che da parte sua avverte che Medico curante e Strutture Sanitarie sanno operare con sinergia per la sua salute. Per quanto riguarda il Laboratorio, il tutto diventa un veicolo d'immagine positiva, mostrando che l'innovazione, l'organizzazione e l'automazione non sono solo elementi di lustro, ma possono contribuire al miglioramento dei servizi per l'utenza.

LA TELEMEDICINA NEL SERVIZIO TRASFUSIONALE: ASPETTI TECNOLOGICI, PRATICI ED ORGANIZZATIVI NELLA GESTIONE DEI TESTS PRETRASFUSIONALI

C. di Natale¹, N. Arreghini¹, G. De Fusco¹, M.I. Fezzi¹, A. Frigato¹, G. Gessoni², E. Beltramin¹, M. Lena¹, G. Marchiori¹

¹ Centro Regionale di Coordinamento e Compensazione, Servizio di Immunoematologia e Trasfusione Azienda Ospedaliera ULSS12 Veneziana; ²Centro Trasfusionale Azienda Ospedaliera ULSS14 Chioggia

Scopo del lavoro

La crescente razionalizzazione della spesa sanitaria italiana, ha avuto delle ricadute sulla organizzazione dei Servizi Trasfusionali. Nel Nostro Servizio, dislocato su due sedi, la necessità di utilizzare al meglio le esigue risorse umane disponibili, ci ha spinti all'adozione di un sistema telematico nelle fasce orarie coperte da pronta disponibilità medica e tecnica (orario notturno e festivo).

Scopo del nostro lavoro è stato valutare l'impatto, in termini organizzativi, dell'introduzione di un sistema di validazione a distanza dei tests pretrasfusionali, sia all'interno del Servizio stesso, sia all'esterno nell'interfaccia con i vari reparti ospedalieri e le cliniche convenzionate che afferiscono al Nostro Servizio.

Materiali e Metodi

Il sistema utilizzato presso il Nostro Servizio è il BioVue Mail, commercializzato dalla ditta Ortho, comporta l'utilizzo di schedine composte da colonnine di polistirene per la determinazione di gruppo, fenotipo Rh, ricerca di anticorpi irregolari e cross-match donatore-paziente e di un apposito strumento che legge, memorizza e trasferisce le immagini attraverso la linea telefonica.

Abbiamo valutato l'attività del primo semestre del 2002.

Risultati

Dall'1 gennaio 2002 al 30 giugno 2002 sono state trasfuse 9256 unità di emazie e/o altri emocomponenti, rispettivamente 6590 presso la sede di Mestre (pari al 71 %) e 2666 presso la sede di Venezia (pari al 29 %). In questo intervallo di tempo abbiamo effettuato 198 trasmissioni che hanno permesso l'assegnazione di 530 unità, pari al 5.7 % del totale delle unità trasfuse, di queste 335 (63 %) erano state richieste presso la sede di Mestre, mentre 195 (37 %) presso la sede di Venezia.

Discussione e Conclusioni

L'implementazione della trasmissione a distanza ha permesso di eliminare il doppio turno di reperibilità medica notturno e festivo, è stato, inoltre, eliminato un turno di servizio pomeridiano dei medici, prima erano presenti un medico ed un tecnico per ogni sede, attualmente è sufficiente la presenza di un medico ed un tecnico presso la sede di Mestre dove oltre al maggior numero di richieste si svolge l'attività di controllo sulla produzione e qualificazione biologica degli emocomponenti, mentre presso la sede di Venezia è sufficiente solo un tecnico. Questo tipo di organizzazione, fra l'altro, ha permesso di modificare le abitudini dei reparti nel senso di una migliore organizzazione delle richieste non urgenti, infatti il reparto con maggior numero di richieste, durante l'orario notturno e festivo, è la rianimazione con richieste indifferibili, mentre il reparto con minor numero di richieste è l'ematologia la cui attività viene pianificata nell'orario diurno. È opportuno sottolineare la necessità di un costante controllo dell'attività da parte del medico reperibile, il quale deve essere continuamente disponibile alla consulenza e qualora l'emergenza lo renda necessario all'intervento in prima persona.

UN NUOVO PARAMETRO DI VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DELLA TERAPIA ANTICOAGULANTE ORALE MEDIANTE IL TEMPO DI PROTROMBINA: LA DISTANZA MEDIA GIORNALIERA DAL TARGET TERAPEUTICO

R. Facchinetti, M. Negri, M. Nicoli, P. Rizzotti.

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Ospedale Civile Maggiore, Verona.

Scopo del lavoro

Per la valutazione della qualità della Terapia Anticoagulante Orale (TAO) i parametri più in uso sono: % di controlli del Tempo di Protrombina in range, % del Tempo trascorso in range, Anticoagulazione Media Giornaliera. Recentemente si è introdotto il concetto di perseguimento del Target Terapeutico. Si è voluto quindi valutare se il parametro della Distanza Media Giornaliera dal Target terapeutico (DM) può fornire ulteriori informazioni sulla qualità della TAO.

Materiali e metodi

È stata confrontata (χ^2) la qualità della TAO in 2 gruppi di Pazienti, l'uno seguito dal nostro Centro di Sorveglianza della TAO, Centro FCSA n.° 186 (Pazienti S, n. 241, controlli 3869), l'altro non seguito dal Centro (Pazienti NS, n. 43, controlli 853). Per il calcolo della DM dapprima si è condotta una interpolazione lineare fra INR consecutivi ricavando gli INR intermedi giornalieri, quindi si è calcolata la Distanza di ogni INR dal Target. Oltre che la Distanza Media assoluta (DM ass) si sono calcolate separatamente le Distanze Medie negativa (DM neg) e positiva (DM pos). Tutti i calcoli sono stati condotti con l'utilizzo di un software "home made" su Excel.

Risultati

Pazienti	DM neg	DM ass	DM pos
S	0.36	0.73	0.37
NS	0.61	0.83	0.22

Dati espressi in unità di INR

$p < 0.001$

Discussione e conclusioni

Il parametro DM ben evidenzia che i Pazienti NS hanno una qualità terapeutica inferiore a quelli S, presentando una DM assoluta significativamente maggiore; si evidenzia inoltre che tale minore qualità è soprattutto dovuta ad insufficiente scoagulazione (DM negativa 0.61 vs 0.36 dei Pazienti S). Rispetto ad altri parametri di valutazione che si riferiscono al range terapeutico classificando quindi i dati come sopra, entro o sotto il range, il parametro DM può dare indicazioni quantitative sull'entità dello scostamento dal Target terapeutico.

Bibliografia

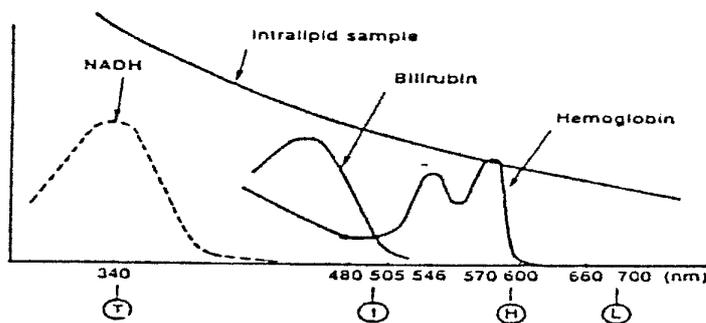
- 1) Rosendaal FR et al: A method to determine the optimal intensity of oral anticoagulant therapy. *Thromb Haemost* 1993;69:236-9
- 2) Marco F et al: Improving methods to assess therapeutic quality control of treatment with oral anticoagulants. *Thromb Haemost* 2000;84:920-1

GESTIONE DELL'INDICE, CON MODALITÀ AUTOMATICA, NELLA REFERTAZIONE DEGLI ESAMI DI CHIMICA CLINICA

Paolilli O., Friso A., Vallini E., Maisto C., Pisaturo F., Lucchetti A., Innocenti B., Rossi L.
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana

Scopo del lavoro

La diminuzione dei potenziali errori causati da bilirubina, emoglobina e lipemia può rappresentare un importante evento correttivo nell'ottimizzazione e nel miglioramento qualitativo dei dati analitici forniti dal laboratorio. L'uso degli indici del siero, attraverso la lettura multifotometrica su apparecchiature automatiche, di campione di siero o plasma opportunamente diluito, può stimare l'estensione e la direzione di un errore causato da fattori come l'emoglobina, la lipemia o la bilirubina.



Attraverso l'analisi di un interferogramma, calcoli e formule matematiche, fattori di correzione, è possibile valutare l'incidenza di questi fattori sugli esami di chimica clinica e decidere se, in base al risultato, annullare o modificare il referto di un paziente.

Materiali e metodi

Gli analizzatori Modular (Roche Diagnostics) hanno la possibilità di eseguire gli indici del siero. Individuati dall'uso di una lettera (H: emolisi, L: lipemia, I: ittero), possono essere inseriti nell'analisi automatica di un campione di siero o plasma grazie al sistema informatico del laboratorio (Labsys NT, ENGI Sanità). Dal momento che lo strumento utilizza gli indici come veri e propri test abbiamo pensato di gestire, con l'Host, questi parametri come tutte le altre analisi. Sul gestionale sono stati definiti tre esami corrispondenti ai tre indici, associandoli alla lista di lavoro dello strumento Modular. Questo ci permette, quando l'operatore rileva la presenza nel campione di un qualsiasi pigmento, qualsiasi sia la sua origine, di aggiungere i test per mezzo di una finestra di dialogo di facile accesso, ovviamente prima di caricare il campione sull'analizzatore; gli indici vengono così programmati come tutti gli altri test di questo paziente.

Risultati

Completata l'analisi, i risultati vengono trasmessi dallo strumento al sistema informatico della gestione strumenti (Olilab); su questo eseguibile è attivo un sottoprogramma (QPL: Query Procedure Language), che confronta questi indici con i valori di lettura di ognuna delle metodiche utilizzate (gli indici di interferenza inseriti nel gestionale); se il dato in questione è superiore a tale numero il test viene automaticamente annullato, con la comparsa sul referto della non conformità (ma non dei valori dell'indice). Gli indici presentano ottime correlazioni con gli analoghi test di partenza (emoglobina per l'indice di emolisi, bilirubina per l'indice itterico); l'indice lipemico non è correlato direttamente alla concentrazione di trigliceridi presenti nel campione, quanto alle dimensioni delle particelle lipidiche, visto che deriva, come calcolo, dalla misura dello scatter di un raggio luminoso.

Discussione e conclusioni

Nei moderni laboratori clinici l'utilizzo della tecnologia e dell'informatica, spesso applicate, in simbiosi, all'analisi del costo/tempo/beneficio, porta ad elaborare un referto "ripulito" da errori e variazioni dovuti a fattori esterni alle metodiche o ai processi analitici utilizzati. L'applicazione dell'indice del siero ci sembra un ottimo esempio per incrementare il percorso qualitativo di un laboratorio analisi, con un impegno relativamente contenuto da parte del suo personale.

CONSIDERAZIONI SUL DOSAGGIO DELLE CATECOLAMINE

P. Bradamante*, C. Berenzi*, A. De Luisi*, G. Groppo*, G. Cosio*

*Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano, Bolzano

Scopo del lavoro

Nel nostro studio il dosaggio delle catecolamine totali sull'urina delle 24/h è stato eseguito con due metodi che differiscono tra di loro per il diverso grado di automazione. Scopo del nostro lavoro è valutare la correlazione dei dati oltre che verificare se l'introduzione di un metodo automatico con relativi costi aggiuntivi (leasing strumento o service) rappresenti un miglioramento qualitativo nella nostra realtà organizzativa.

Materiali e Metodi

Con il primo metodo (cromatografia manuale - Ditta FAR S.R.L) le catecolamine vengono adsorbite su una resina cationica equilibrata con un opportuno tampone; dopo eluizione la loro concentrazione viene determinata per via fluorimetrica mediante ossidazione. Questo metodo presenta una preparazione laboriosa permettendo l'esecuzione di serie limitate di campioni.

Con il secondo metodo (HPLC - Ditta Eurisco), che presenta sia maggiore automazione che la possibilità dell'esecuzione di serie più estese di campioni, l'urina opportunamente tamponata viene fatta percolare attraverso una colonnina monouso; 50 µl di eluato vengono iniettati nel cromatografo che separa le catecolamine (adrenalina, noradrenalina, dopamina) su una colonna a scambio cationico con successiva determinazione fluorimetrica. In più sedute sono stati dosati 145 campioni (115 pazienti e 15 controlli - Biorad- a due livelli) con entrambi i metodi. E' stato calcolato per ogni metodo il valore medio delle determinazioni e tra i due metodi l'indice di correlazione (r).

Risultati

I risultati sono esposti nella tabella seguente.

	METODO MANUALE	HPLC
N° di Campioni	145	
Valore Medio (µg/24 h)	55.5±44.9	59.5±49.1
Indice di Correlazione r	0.92	

Discussione e Conclusioni

I due metodi risultano dal punto di vista statistico sufficientemente correlati anche se il metodo manuale tende a sottostimare leggermente i valori patologici (> 115 µg/24 h) probabilmente a causa di un'estrazione non del tutto quantitativa. Sicuramente l'uso della metodica manuale è consigliabile in ospedali di dimensioni medio-piccole con un numero limitato di richieste o in condizioni di scarse risorse finanziarie. Nella nostra realtà organizzativa la richiesta consistente di determinazioni, la possibilità di separare le diverse catecolamine e di dosare sull'HPLC altri analiti hanno reso necessario prendere in leasing lo strumento.

Bibliografia

1) Gardet V, Gatta B, Simonnet G, Tabarin A, Chene G, Ducassou D, Corcuff JB. Lessons from an unpleasant surprise: a biochemical strategy for the diagnosis of pheocromocytoma. J Hypertens 2001 Jun; 19 (6): 1029-1035.

DOSAGGIO DELL'ACIDO IPPURICO: VALUTAZIONI SUL SUO UTILIZZO IN SOGGETTI ESPOSTI

P. Bradamante, C. Berenzi, M. Floreani, G. Cosio
Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano.

Scopo del lavoro. L'acido ippurico (HA), metabolita del toluene, e gli acidi orto- meta- para- metil ippurico (MHA), metaboliti dello xilene, vengono dosati per valutare l'esposizione di alcune categorie di lavoratori a questi solventi. Anche le persone non esposte presentano nell'urina concentrazioni molto variabili di HA poichè è un metabolita dell'acido benzoico, sostanza presente in molti alimenti. Scopo del nostro lavoro è stata quella di valutare la significatività di tale dosaggio e di indicare delle linee guida per un suo corretto utilizzo.

Materiali e Metodi. *Popolazione:* 502 pazienti professionalmente a rischio (Gr.1) inviati dal Servizio Multizonale di Medicina del Lavoro e 32 pazienti di controllo (Gr.0). I campioni di urina del Gr.1 sono stati prodotti entro 2 ore dalla fine del turno di lavoro e nessun paziente di entrambi i gruppi ha seguito una dieta particolare. *Unità di misura:* la concentrazione di HA è stata espressa in mg/l e in mg/mg di creatinina, con un valore soglia rispettivamente di 1500 mg/l e 1.14. *Dosaggio:* metodo cromatografico HPLC (Shimadzu) con kit della ditta Eurisco Diagnostica.

Risultati. Il 7.2% dei pazienti del Gr. 1 ha una concentrazione di HA urinario superiore a 1500 mg/l, ma solo un terzo di essi ha un rapporto HA/creatinina > 1.14. Nel Gr. 0 un paziente ha un valore maggiore di 1500 mg/l e un rapporto di 0.57. La correlazione tra i valori espressi nelle due concentrazioni non è risultata soddisfacente ($r=0.66$). Nella tabella 1 sono riportati i valori medi e le deviazioni standard di HA nei due gruppi e non si osservano differenze statisticamente significative.

	mg/l	mg/mg creatininuria
Gr.0	551 \pm 378	0.45 \pm 0.21
Gr.1	643 \pm 509	0.53 \pm 0.37

Non influenzati dalla dieta risultano invece i dosaggi degli acidi orto- meta- para- metil ippurico. Infatti nelle urine dei pazienti del Gr. 0 non sono presenti tali cataboliti, mentre nel Gr. 1 si osservano tracce di acido orto-meta- para- metil ippurico rispettivamente nel 4.8%, 6%, 13.1% dei pazienti.

Conclusioni.

- Il dosaggio dell' HA risulta notevolmente influenzato dalla dieta, tanto che nei soggetti esposti, ma non gravemente intossicati, la concentrazione aumenta in modo non significativo e non statisticamente differente dai controlli.
- Per valutare le condizioni igieniche di un reparto è preferibile dosare l'HA in tutto il gruppo di lavoratori e confrontare i valori ottenuti con quelli precedenti o con le medie di altri gruppi.
- In un singolo soggetto, si può valutare la quantità dovuta all'intossicazione, facendo una determinazione dopo l'esposizione confrontata con un'altra dopo 48 ore di assenza dal lavoro, oppure facendo seguire una adeguata dieta al paziente una settimana prima del dosaggio.
- Più interessante risulta il dosaggio del MHA che non essendo normalmente presente nelle urine può essere un più chiaro indicatore di intossicazione.
- La concentrazione di HA deve essere espressa in rapporto alla creatininuria, data la grande variabilità nella escrezione urinaria e la necessità di eseguire il dosaggio su campione (1).

Bibliografia

- 1) Fujii T, Kawabe S, Horike T *et al.* Simultaneous determination of the urinary metabolites of toluene, xylene and styrene using high-performance capillary electrophoresis. Comparison with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 1999,730:41-47.

IMMUNOGLOBULINE E PROTEINE SPECIFICHE IN TURBIDIMETRIA SU MODULAR P/P

Bassi L., Castellani V. Conti E., D'Avossa I., Mazzolari E., Sarzi Amadè A.
Azienda Istituti Ospitalieri, Laboratorio analisi- Cremona

SCOPO

L'introduzione nell'organizzazione del laboratorio di un Modular P/P offriva la possibilità di effettuare su unica provetta e unica stazione di lavoro, insieme con analisi di chimica clinica, anche dosaggi di proteine specifiche e immunoglobuline attualmente eseguiti su Array 360. Scopo del lavoro è stato definire l'attuabilità del passaggio alla turbidimetria senza perdere in accuratezza analitica in particolare con riferimento alle componenti monoclonali.

MATERIALI E METODI

Sono state valutate le chimiche: ALB, AAG, AAT, HPT, IgG, IgA, IgM, C3, C4, PAB utilizzando su Modular P/P e Array 360 controlli e calibratori specifici secondo il materiale di riferimento CRM 470. I CV analitici calcolati sui due sistemi utilizzando il controllo Precinorm (Roche) sono stati confrontati con i goal analitici; è stata calcolata la correlazione, la pendenza e l'intercetta per campioni di routine (anche con valori di elevata entità quali IgG>11000, IgA>10000, IgM>5000) e per 150 campioni di componenti monoclonali tipizzate in precedenza con immunofissazione su gel di agarosio (SEBIA).

RISULTATI

ANALITA	CV MODULAR	CV ARRAY360	GOAL	CORR.	C.M.	CORR. IgG	CORR. IgA	CORR. IgM
ALB	1.0	3.5	1.6	0.992	IgG	0.991	0.996	0.991
C3	0.7	3.8	2.6	0.949	IgA	0.993	0.988	0.981
C4	1.8	6.8	4.5	0.986	IgM	0.961	0.932	0.991
IgG	1.4	1.6	2.3	0.990				
IgA	2.0	3.8	2.5	0.996				
IgM	3.6	2.8	3.0	0.999				
AAT	2.1	3.2	4.3	0.995				
AAG	1.0	4.4	5.7	0.993				
HPT	1.3	3.5	10.2	0.992				
PAB	2.4	4.1	5.5	0.992				

CONCLUSIONI

La valutazione del sistema Modular ha dato risultati accurati con riduzione dei CV analitici e con livelli di correlazione tra 0.990 e 0.999. Il passaggio alla turbidimetria quindi non crea problemi dal punto di vista analitico e lo studio delle componenti monoclonali ha verificato come la metodica non causi perdite di campioni con valori elevati (eccesso di antigene) o con valori bassi dovuti alla soppressione della componente monoclonale. La gestione di questa tipologia di esami insieme con quelli di chimica clinica su unica provetta riduce la frammentazione del prelievo, i tempi di risposta e i costi di gestione degli strumenti.

LA RICERCA DELLE SOSTANZE D'ABUSO CON IL SISTEMA HPLC REMEDi : PITFALLS

G. Dall'Olio, G. Soffiati

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

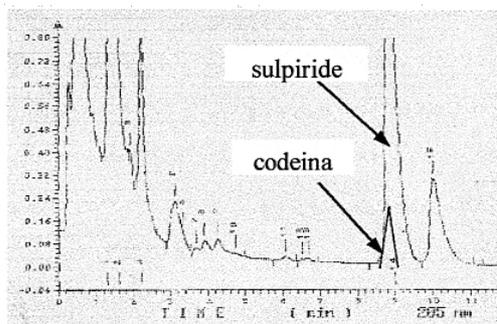
INTRODUZIONE

Il sistema HPLC REMEDi (Bio-Rad) permette lo screening tossicologico di farmaci e sostanze d'abuso. Concepito per la tossicologia d'urgenza, per la facilità e rapidità d'uso, trova impiego nei laboratori di chimica clinica per la conferma delle più comuni droghe d'abuso e per la soluzione in tempi brevi di alcuni problemi di tossicologia difficilmente superabili con i soli metodi immunometrici. La necessità che il sistema sia rigidamente "chiuso" per ottenere sempre una perfetta riproducibilità dei cromatogrammi, porta ad alcuni inconvenienti legati alla coeluizione di molecole differenti. Particolari problemi mostrano i campioni di pazienti del SERT e del servizio psichiatrico in politerapia con farmaci i cui metaboliti hanno gli stessi tempi di ritenzione di alcune sostanze d'abuso.

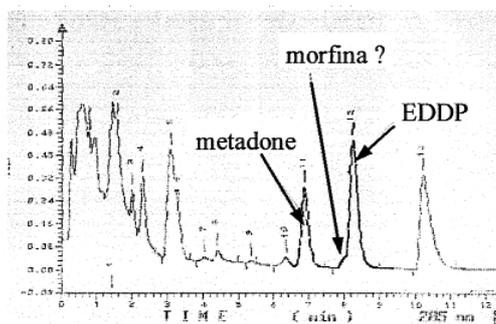
Scopo di questo lavoro è di rendere noto, soprattutto ai nuovi utilizzatori del REMEDi, le situazioni, conseguenti a queste limitazioni, in cui il laboratorista si trova talvolta "intrappolato". E' anche uno stimolo ad escogitare e rendere noti semplici pretrattamenti del campione che possano evidenziare le molecole di interesse, soprattutto se a bassa concentrazione, "coperte" da altre sostanze.

Vengono proposti, a titolo di esempio, alcuni cromatogrammi con picchi di sostanze, non sempre identificate, che potrebbero occultarne altri e quindi fuorviare decisioni circa la presenza di Amfetamina, Metamfetamina, MDMA, MDA, Morfina e Codeina. Dove esiste viene proposta una soluzione.

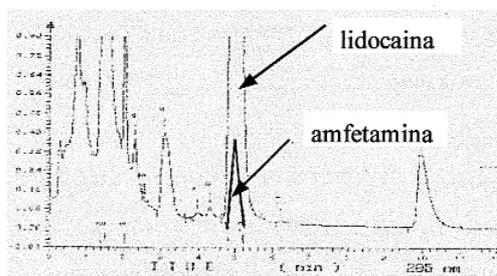
ESEMPI



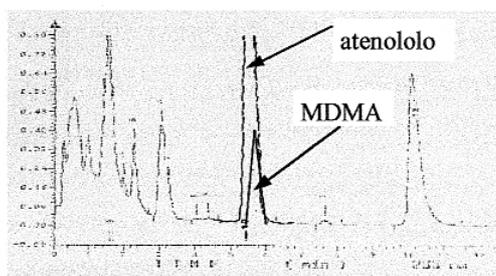
PROBLEMA: codeina coperta da levosulpiride
SOLUZIONE: da ricercare



PROBLEMA: morfina coperta da EDDP
SOLUZIONE: estrazione con CH₂Cl₂



PROBLEMA: amfetamina coperta da lidocaina
SOLUZIONE: da ricercare



PROBLEMA: MDMA coperta da atenololo
SOLUZIONE: estrazione con CH₂Cl₂

CONCLUSIONI

Alcuni farmaci di uso corrente o loro metaboliti hanno gli stessi tempi di ritenzione di sostanze d'abuso nel sistema HPLC REMEDi. La loro contemporanea presenza nelle urine può quindi creare "interferenze". La conoscenza di questi limiti del sistema e la loro eventuale eliminazione con semplici procedure di pretrattamento del campione sarà di aiuto nell'uso quotidiano di questo strumento tanto utile al laboratorista.

VALUTAZIONE COMPARATIVA DI DUE METODICHE PER LA DETERMINAZIONE DELLA EMOGLOBINA GLICATA

F. Minetti, E.S. Parodi, G. Poggi, V. Rabellino, G. Zunino

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Ospedale S. Paolo, Savona

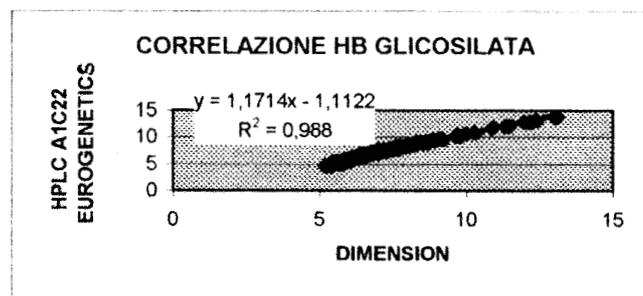
Scopo del lavoro

Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione di una nuova metodica immunoturbidimetrica per la determinazione della Emoglobina glicata (HbA1C) presente sull'analizzatore Dimension RxL, nei confronti della metodica considerata di riferimento in HPLC. La misurazione percentuale della HbA1C è un parametro utilizzato ormai da tempo nel monitoraggio degli individui affetti da diabete mellito, poiché rappresenta la media dei livelli di glucosio delle ultime 6-8 settimane. Numerosi studi hanno dimostrato una correlazione diretta tra controllo glicemico e i risultati clinici del paziente rispetto alle complicanze a lungo termine; i pazienti con migliore controllo glicemico (% di HbA1C inferiore) hanno mostrato un miglioramento della prognosi per quanto riguarda le complicanze microvascolari incluse neuropatia, retinopatia e nefropatia. Per HbA1C si intende il prodotto di una reazione non enzimatica tra glucosio ed HbA1 per formare prima una frazione labile e successivamente una frazione stabile che è la molecola importante dal punto di vista metabolico/clinico.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati 150 campioni ematici prelevati presso il nostro ambulatorio a pazienti cui il medico curante aveva prescritto il dosaggio della HbA1C. Il campione prelevato è stato sangue intero ottenuto mediante provette sottovuoto con anticoagulante EDTA K3. I dosaggi sono stati effettuati la mattina stessa del prelievo, utilizzando il sistema attualmente in uso presso il laboratorio (HPLC A1C22, Eurogenetics) e una nuova metodica presente sull'analizzatore Dimension RxL (HA1C, Dade Behring). Tale metodica misura sia l'HbA1C sia l'emoglobina totale; la determinazione dell' HbA1C è basata su un principio di immunoinibizione turbidimetrica (TINIA), la misurazione dell'emoglobina totale è basata su una modifica della reazione della ematina alcalina. Non è necessario un pre-trattamento per rimuovere la frazione labile. Per entrambe le metodiche sono stati utilizzati i parametri analitici previsti dalle ditte produttrici e controlli di qualità (per HPLC controlli interni forniti dalla ditta e VEQ del L.I.T.A., per il sistema Dimension RxL Biorad).

Risultati



La correlazione tra il sistema Dimension RxL e la metodica HPLC A1C22 è così riassunta:

$$y = 1,1714x - 1,1122 \quad R^2 = 0,988$$

Conclusioni

La valutazione comparativa tra le due metodiche per il dosaggio della HbA1C ha evidenziato una ottima correlazione su tutti i punti di concentrazione presi in esame. Si ritiene che la metodica per HbA1C su analizzatore Dimension RxL possa rappresentare una valida alternativa alla HPLC nella gestione del paziente diabetico (facilità di utilizzo, stabilità della calibrazione, ridotti tempi di refertazione, possibilità di consolidare su una unica stazione di lavoro anche questo dosaggio).

VALUTAZIONE DI UN METODO COLORIMETRICO PER DETERMINARE IL LITIO NEL SIERO

P. Iandolo, G. Albalustri, G. Devoto, G. Annovazzi, R. Arsenio, M.G. Gioiele, F. La Tella, R. Roggerone

Laboratorio di Analisi Ospedale di Lavagna ASL 4 Chiavarese (GE)

Scopo del Lavoro

Scopo del nostro lavoro è stato verificare la concordanza di un metodo colorimetrico che determina il Litio su siero (TRACE - Victoria - Australia) confrontandone le prestazioni con il Fotometro a Fiamma IL 943 (Instrumentation Laboratory - Milano - Italia).

Materiali e Metodi

Sono stati studiati 70 campioni, con valori di Litio compresi fra 0.05 e 3.2 mmol/L.

Il Fotometro a Fiamma è stato utilizzato in accordo alle indicazioni della ditta produttrice con calibranti commerciali della Instrumentation Laboratory. Il metodo colorimetrico è stato applicato su Hitachi 917 in accordo alle indicazioni della ditta produttrice del reagente (rapporto Siero/Reagente 1:500, reazione fotometrica End-point, lettura delta assorbanza a 10 minuti, bicromatismo: $\lambda_{\text{primaria}}$ 505, $\lambda_{\text{secondaria}}$ 480) che ha fornito anche il calibrante (Litio 1 mmol/L). Il litio reagisce in ambiente alcalino con una porfirina sostituita, dando origine ad un cambio di assorbanza che è proporzionale alla concentrazione di Litio nel campione.

La stima delle diverse componenti dell'imprecisione è stata valutata nel corso di 10 giorni lavorativi utilizzando 2 pool di sieri congelati a -40°C (0.82 e 1.73 mmol/L) effettuando 3 repliche giornaliere per ogni pool.

La linearità del metodo è stata verificata utilizzando un siero ad alta concentrazione di Litio (3 mmol/L) e un pool di siero con Litio assente. Frazioni di volume del campione alto sono state miscelate con il pool di siero con Litio assente, ottenendo i campioni da analizzare in triplicato. Le diluizioni ottenute sono state verificate anche con il metodo di confronto (Fotometria di Fiamma).

Risultati

La stima dell'imprecisione dà risultati accettabili ai 2 livelli considerati (CV totale $< 3.5\%$). La correlazione non parametrica è stata la seguente ($N=70$) $Y = 1.009 \cdot X - 0.016$ con un R di Spearman di 0.998. Il confronto fra mediane effettuato con il test W di Wilcoxon è stato il seguente $W = 1.15$ ($p = 0.25$), minima e massima differenza riscontrata 0.0 e -0.1 mmol/L. Il metodo colorimetrico è lineare per concentrazioni di Litio comprese fra 0,05 e 3 mmol/L, $R^2 = 0.9995$; test F per la consistenza interna della regressione lineare = 1.235 ($p = 0.347$) ; test F per la curvilinearità = 1.265 ($p = 0.343$).

Discussione

Dai risultati fin qui ottenuti riteniamo utilizzabile il metodo valutato, con alcune precauzioni: occorre effettuare una calibrazione completa almeno ogni 24 ore, in seguito all'assorbimento da parte del reagente della CO₂ dell'aria, e della fotosensibilità dello stesso.

UN PRIMO CONFRONTO TRA IL DOSAGGIO DELL'EMOGLOBINA GLICOSILATA EFFETTUATO IN UN AMBULATORIO DIABETOLOGICO E IN UN LABORATORIO CENTRALIZZATO.

Da Vela G., Bertino M., Toni S.*, Medici G.*

Laboratorio analisi Azienda Meyer (Resp. D.sa M.Salvadori), Firenze

*Centro diabetologico Azienda Meyer (Resp. Dr. E. Martinucci), Firenze

Scopo

Il dosaggio dell'emoglobina glicata direttamente in un ambulatorio diabetologico pediatrico ha assunto una grande importanza per la possibilità di seguire ed adattare la terapia ai pazienti in "tempo reale", d'altronde, il laboratorio analisi, per la maggior specializzazione del personale e per il tipo di strumentazione usata, sembra in grado di fornire un supporto altrettanto valido per gli esami necessari ai pazienti diabetici. In tale prospettiva abbiamo messo a confronto il metodo usato dall'ambulatorio diabetologico, una inibizione dell'agglutinazione al lattice ed il metodo immunoturbidimetrico usato nella sezione di chimica clinica del Laboratorio dell'Ospedale, al fine di saggiarne le rispettive capacità ed i limiti, in funzione delle necessità cliniche.

Materiali e metodi

L'ambulatorio dispone di uno strumento DCA 2000+ Analyzer (*Bayer) che dosa l'HbA1C col principio della inibizione dell'agglutinazione del lattice. Le caratteristiche del metodo vengono tenute sotto controllo tramite un campione di controllo a due livelli, normale e patologico, fornito dalla ditta costruttrice dello strumento. In laboratorio il dosaggio della glicata è stato effettuato tramite lo strumento Dimension ARX (*Dade), usando un metodo immunoturbidimetrico. La sensibilità del metodo è di 0,2 g/dl ed il controllo di qualità viene effettuato, nel nostro laboratorio tramite controlli specifici liofili della ditta Biorad*.

Risultati: in tabella sono riassunti i parametri statistici salienti per ciascun metodo

	AMBULATORIO	LABORATORIO
N. campioni	33	33
Media Campionaria	6,28	6,85
Deviazione standard	1,60	1,61
Intercetta a	-	0,761
Coefficiente b di X	-	0,9746
Correlazione r	-	0,976

Discussione

Se da un lato risulta una maggior dispersione dei dati del Laboratorio, verosimilmente dovuti alla più ampia escursione dei calibratori rispetto al metodo ambulatoriale, dall'altro appare un'estrema affinità nelle distribuzioni delle serie analitiche e una buona correlazione, quindi un'affidabilità complessiva dei due metodi; inoltre lo strumento Dimension supporta l'introduzione di fattori correttivi alla curva di calibrazione, consentendo così l'allineamento tra i due metodi. Tali evidenze sperimentali consentono di calibrare la scelta di usare uno o l'altro metodo o entrambi, a seconda delle considerazioni organizzative e di costo, di disponibilità del personale, di velocità e praticità di uso, con in più la sicurezza che, in qualsiasi caso, si rende il miglior servizio possibile al piccolo paziente diabetico.

ANTICORPI ANTI CMV IgG, IgM E IgG AVIDITY: METODICHE A CONFRONTO PER LA DIAGNOSTICA SIEROLOGICA DI INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS

E. Cavanna, S. Canepa, R. Lavagni, L. Illuminati, M. Orgiazzi, M. Mori

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

La ricerca di anticorpi anti CMV è una metodica diagnostica attendibile solo in presenza di una chiara sierconversione; essa, infatti, trova applicazione nella diagnosi di infezione primaria in soggetti immunocompetenti. Il riscontro di anticorpi anti-CMV IgM depone di solito per un'infezione primaria recente, anche se talora sono evidenziabili in corso di episodi di riattivazione del virus. Un titolo elevato di anticorpi anti CMV IgG indica una pregressa infezione e persistenza del virus allo stato latente, mentre un suo aumento può indicare una riattivazione virale. L'avidità anticorpale può dare indicazioni sulla possibilità di un'infezione primaria e recente (bassa avidità) rispetto ad un'infezione pregressa (alta avidità).

Scopo del lavoro

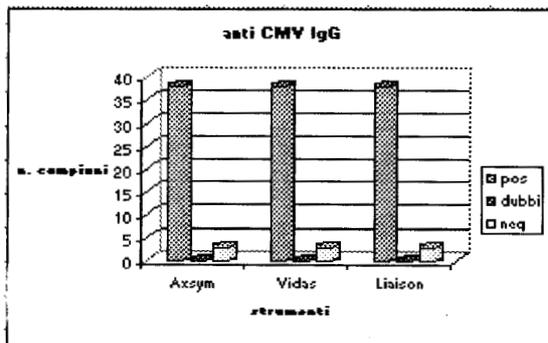
Lo scopo del nostro lavoro è di confrontare due metodiche del commercio correntemente in uso con il sistema Vidas, comunemente considerato di riferimento.

Materiali e metodi

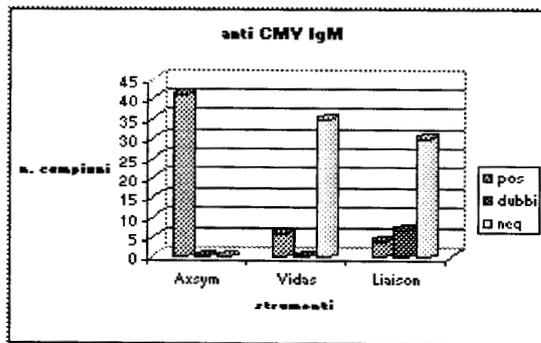
Sono stati testati 91campioni ambulatoriali per anticorpi anti CMV IgG, IgM, IgG Avidity con le seguenti metodiche: 1) Abbott su strumento Axsym; 2) Dia-Sorin su Liaison; 3) bioMérieux su Vidas. La selezione dei campioni è stata effettuata su 50 sierii negativi per IgG e IgM specifiche e 41 positivi per IgM allo screening abitualmente effettuato nel nostro Laboratorio con la metodica 1.

Risultati

Sono stati evidenziati 50 campioni concordemente negativi su tutti i parametri; gli altri 41 campioni sono risultati come indicato di seguito:



anti CMV IgG	Axsym	Vidas	Liaison
pos	38	38	38
dubbio	0	0	0
neg	3	3	3



anti CMV IgM	Axsym	Vidas	Liaison
pos	41	6	4
dubbio	0	0	7
neg	0	35	30

anti CMV IgG avidity	Vidas	Liaison
debole	1	0
intermedia	7	8
forte	30	30

Discussione e conclusioni

Dai dati ottenuti si può affermare che:

- 1) il metodo Dia-Sorin costituisce una valida alternativa al metodo bioMérieux per IgG, IgM e Avidity IgG; esso consente una risposta più dettagliata sull'epoca dell'infezione primaria basata su tre differenti periodi (0-3; 3-6; oltre 6 mesi);
- 2) il metodo Abbott tende a sovrastimare la positività per IgM;
- 3) il metodo Dia-Sorin, per le caratteristiche di automazione dello strumento Liaison, può essere dedicato agevolmente a grossi carichi di lavoro.

Valutazione analitico-funzionale dell'analizzatore di chimica clinica per Point of Care *Piccolo*.

S. Pastori¹, S. A. Mazzola¹, E. Fornara¹, L. M. M. Marchetti¹, L. Mistura², A. Rosco²

¹Servizio di Medicina di Laboratorio, Az. Osp. "G.Salvini" di Garbagnate Milanese; ²Divisione di Pediatria, Az. Osp. "G.Salvini" di Garbagnate Milanese.

Scopo del lavoro

L'analizzatore centrifugo per chimica clinica P.O.C. (Point Of Care) *Piccolo* (prodotto da ABAXIS e distribuito in Italia da IL) è un apparecchio progettato e costruito per fornire risultati su pannelli analitici monouso pre-configurati (rotori) con minima quantità di campione (100 µL). Ciascun pannello permette l'analisi di un singolo campione (sangue intero, siero o plasma), ed in tempi estremamente ridotti (13 minuti circa).

E' scopo della valutazione confrontare nell'ambito delle attività di un laboratorio di Chimica Clinica le performance analitiche dello strumento denominato *Piccolo* rispetto ad un metodo di confronto identificato nell'analizzatore in uso per lo svolgimento della routine presso il Laboratorio ove ha luogo la valutazione. E' altresì scopo della valutazione esprimere un giudizio sulla operatività del sistema.

Materiali e Metodi

50 campioni di siero provenienti dalla routine sono stati raccolti in un periodo di 4 settimane, divisi in 2 aliquote e conservati a -20°C fino al momento della determinazione. Tutte le determinazioni sono state eseguite in duplicato in diverse sessioni analitiche confrontando le prestazioni dello strumento *Piccolo* con quelle dello strumento Hitachi 917 della ditta Roche. Per la valutazione è stato scelto il pannello analitico a 12 parametri (ALB, ALP, ALT, AMY, AST, BIL. TOT., BUN, Ca TOT., CHOL, CREA, GLU, PROT. TOT.). I controlli di qualità sono stati effettuati utilizzando quelli routinariamente in uso nel nostro laboratorio (Unassayed Chemistry 1 e 2 della ditta BIORAD).

Risultati

I dati ottenuti, confrontando lo strumento Hitachi 917 e l'analizzatore *Piccolo*, sono stati elaborati mediante regressione lineare classica, regressione di Passing/Bablok e mediante analisi della concordanza secondo Bland ed Altman.

Discussione e Conclusioni

L'analisi statistica effettuata su tutti gli analiti testati si aggira intorno a valori di R² compresi 0.95-0.99, con l'eccezione di Ca tot. (0.71), colesterolo (0.77) e ALB (0.75) ed ALP (0.77). Per l'urea è stato introdotto il fattore di correzione di 2.14, in quanto lo strumento *Piccolo* esprime i risultati in Azoto Ureico Ematico (BUN) mentre l'Hitachi 917 esprime i risultati come Urea. La fosfatasi alcalina mostra differenti risultati verosimilmente legati a metodiche differenti: la metodica IFCC del kit Roche utilizza dietanolammina come tampone, mentre quella dello strumento *Piccolo* non specifica il tipo di tampone utilizzato. L'analisi grafica del diagramma di Bland e Altman per gli analiti testati non ha evidenziato differenze clinicamente rilevanti nell'ambito dei limiti di concordanza (media delle differenze ± 1.96 DS).

La valutazione della praticabilità clinica dello strumento è stata effettuata con esito soddisfacente presso il reparto di neonatologia del nostro ospedale effettuando le determinazioni su campioni di sangue intero.

La performance dello strumento è da ritenersi adeguata alla gestione di piccole serie analitiche in cui è necessaria l'immediata utilità clinica, sempre però sotto sistematico controllo da parte del laboratorio. La diversità delle metodiche esistenti in commercio impone, infatti, un allineamento necessario tra la strumentazione del laboratorio e lo strumento di P.O.C.T. in reparto, al fine di ottenerne prestazioni ottimali.

VALUTAZIONE DELL'INR IN PAZIENTI IN TAO SU CA1500 ED ELECTRA 1800

A. Bairo, M.P. Ferrero, P. Fois, S. Basto, M. Comandini, L. Lorenzon, S. Marchello, M. Scudo, V. Ricca

Laboratorio analisi KOELLIKER Osp. e Casa di Cura dei Missionari della Consolata, Torino

Scopo del lavoro

La terapia anticoagulante orale (TAO) è un trattamento di estrema importanza per la cura e la prevenzione delle malattie trombotiche ed è un trattamento indispensabile in numerose condizioni cliniche. La somministrazione del farmaco è regolata dal reale effetto anticoagulante ottenuto. I pazienti in TAO quindi, devono eseguire periodicamente il tempo di protrombina (PT con il risultato espresso in INR International Normalized Ratio) in modo da misurare il livello di anticoagulazione raggiunto. Dovendo sostituire l'analizzatore (Electra 1800 Instrumentation Laboratory) già in uso per la determinazione del PT con un altro (CA 1500 DASIT), abbiamo voluto essere sicuri di non determinare scompensi posologici nella terapia anticoagulante. Pertanto a tutti i pazienti in TAO afferenti presso la nostra struttura, abbiamo eseguito il PT su entrambi gli analizzatori in modo da valutare di volta in volta un'eventuale differenza dell'INR ed informare quindi il paziente.

Materiali e metodi

Sono stati studiati 87 plasmici provenienti da pazienti in TAO di età compresa tra 44 e 80 anni. Su tutti i campioni è stato determinato il PT utilizzando l'analizzatore Electra 1800 e l'analizzatore CA1500 entrambi dotati di un perforatore automatico di provette. I campioni, prelevati mediante vacutainer in provette contenenti sodio citrato alla concentrazione di 0.129 M, sono stati centrifugati a 3500 rpm per 15 minuti e processati entro le quattro ore successive al prelievo. Il PT è stato determinato utilizzando una tromboplastina liofila estratta da cervello di coniglio (Tromboplastina S, Dasit) ed una tromboplastina ricombinante (Hemoliance ReconbiPlasTin, Instrumentation Laboratory) aventi un I.S.I. rispettivamente di 1.11 e di 0.93.

Risultati

I risultati dell'INR, ottenuti con i due sistemi analitici, sono riportati in tabella. L'analisi statistica dei dati è stata eseguita utilizzando due test differenti: coefficiente di correlazione ($R = 0.969$) e t-test ($t = 2.18$, $p = 0.03$). I risultati hanno evidenziato un'interscambiabilità dei due sistemi analitici.

DASIT	IL												
2.75	2.63	3.4	2.82	2.18	2.06	2.83	2.83	2.99	2.85	2.37	2.04	1.97	1.97
2.89	2.81	2.72	2.53	1.83	1.50	4.56	4.06	1.67	1.65	2.59	2.13	3.37	2.79
3.50	3.32	4.57	4.32	1.42	1.25	2.98	2.52	2.14	1.86	2.28	2.19	3.47	3.35
3.05	2.64	2.98	2.79	3.56	3.39	2.05	1.87	2.54	2.38	2.42	2.31	3.34	3.10
3.19	2.84	2.95	2.90	2.70	2.49	4.47	4.29	2.26	1.87	2.97	2.83	2.52	2.33
4.40	4.29	1.98	1.71	3.23	3.35	3.47	3.29	3.19	2.82	3.20	2.76	2.92	2.71
3.01	3.26	3.07	2.92	1.98	1.82	2.56	2.55	3.14	3.07	3.01	2.64	3.25	2.89
1.80	1.49	4.14	4.42	3.86	3.40	2.54	2.28	1.60	1.47	3.53	3.00	2.54	2.35
2.65	2.41	3.20	2.74	2.27	1.83	2.46	2.04	2.36	1.82	3.24	3.04	2.73	2.57
3.99	3.51	4.06	3.42	2.09	2.05	2.45	2.03	3.13	2.90	1.57	1.45	2.43	2.25
2.68	2.72	2.58	2.13	2.38	2.17	2.42	2.44	2.95	2.84	2.75	2.39	3.15	2.77
2.00	1.92	2.36	2.10	4.34	4.11	3.09	2.95	1.82	1.70	3.05	2.59	1.39	1.21
3.64	3.18	3.52	2.99	1.81	1.61	3.57	3.13						

Conclusione

Dai risultati ottenuti emerge che il cambiamento dell'analizzatore non ha interferito sulla posologia della terapia anticoagulante. Inoltre, dal punto di vista clinico, i valori dell'INR non presentano differenze significative. Comunque, ogni qual volta s'introduca la variazione di qualche fattore capace d'influenzare il risultato dell'INR, si dovrebbe sempre eseguire una valutazione comparativa dell'effetto della modifica attuata, in modo da evitare degli scompensi terapeutici sui pazienti.

VALUTAZIONE DELLA REATTIVITA' IgM CONTRO *TOXOPLASMA GONDII* E CYTOMEGALOVIRUS: CONFRONTO TRA METODI

A. Precisi, , D.Pieri, O.Marsi, C.Bichisecchi, B.Grandi, I.Guarducci, F.Nardone

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Azienda Ospedaliera Pisana, Presidio Ospedaliero di Cisanello, via Paradisa 2, 56124 Pisa

Scopo del lavoro

Una positività per IgM specifiche in corso di infezione da Cytomegalovirus umano (CMV) o da *Toxoplasma gondii* (Toxo) può essere dovuta sia ad un'infezione recente che, soprattutto per CMV, ad una riattivazione di un'infezione latente. I diversi metodi disponibili in commercio impiegano sovente antigeni differenti ed sono dotati di differente sensibilità per IgM: nel nostro studio abbiamo voluto confrontare due sistemi automatizzati su una casistica selezionata dalla nostra "routine" diagnostica.

Materiali e metodi

Tutti i campioni inseriti nella valutazione sono risultati reattivi o in "zona grigia" (GZ) per IgM con i test MEIA Abbott AxSYM CMV IgM (40 campioni) o reattivi con AxSYM Toxo IgM (50 campioni). I campioni sono stati analizzati successivamente con i dosaggi per ELFA IgM anti-Toxo e CMV Vidas (BioMérieux): sono state valutate la concordanza qualitativa tra i due sistemi e la correlazione tra i segnali ottenuti con i metodi MEIA ed ELFA, normalizzati rispetto al valore soglia (segnale del campione/cutoff: S/CO).

Risultati

Toxo: dei 50 campioni analizzati, 40 erano positivi MEIA sia per IgM che per IgG anti-Toxo e 10 erano positivi per IgM e negativi per IgG; complessivamente, 46 dei 50 campioni sono risultati positivi per IgM anche con Vidas, e i quattro rimanenti erano tutti i GZ. La concordanza complessiva era quindi del 92%. La correlazione tra i valori S/CO ottenuti con i due metodi era discreta (r di Pearson: 0,84), e i cinque campioni con positività più elevata MEIA erano anche quelli con S/CO più elevato con Vidas. CMV: dei 40 campioni analizzati, 31 erano positivi e 9 GZ con AxSYM. Questi ultimi sono risultati tutti negativi con Vidas, mentre sui 31 positivi AxSYM i risultati Vidas erano: 20 positivi, 3 GZ e 8 negativi; in particolare, tutti i 21 campioni con S/CO AxSYM > 2 erano reattivi anche con Vidas (20 positivi e 1 GZ). La correlazione tra segnale AxSYM e Vidas era discreta (r di Pearson= 0,80).

Discussione e Conclusioni

L'analisi retrospettiva di campioni risultati reattivi per IgM anti-Toxo con AxSYM ha mostrato un'elevatissima concordanza con il metodo Vidas, dal momento che nessun campione è risultato negativo con quest'ultimo, garantendo così l'elevata accuratezza del test AxSYM. Per contro, una reattività per IgM anti-CMV con AxSYM era associata ad una reattività Vidas 57,5% dei casi (23/40: 20 positivi e 3 GZ), confermando precedenti osservazioni di confronto tra il metodo MEIA, che impiega antigeni ricombinanti delle regioni maggiormente immunogene, e altri test. I nostri dati confermano la elevata sensibilità dei test MEIA per IgM anti-Toxo e CMV e rinforzano la necessità di valutare i campioni positivi per IgM con test di avidità per IgG specifiche, al fine di escludere una possibile infezione recente.

DETERMINAZIONE DEI LIVELLI DI CICLOSPORINA CON DUE METODICHE FPIA IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI FEGATO

F.Nardone, A. Precisi, C.Bichisecchi, B.Grandi, I.Guarducci, O.Marsi, D.Pieri.
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Azienda Ospedaliera Pisana, Presidio Ospedaliero di Cisanello, via Paradisa 2, 56124 Pisa

Scopo del lavoro

La letteratura indica che i metodi disponibili per l'analisi della ciclosporina possono fornire risultati assai diversi, legati sia alle caratteristiche analitiche dei dosaggi che alla loro maggiore o minore capacità di identificare i metaboliti della ciclosporina. Il nostro scopo era di valutare la correlazione e concordanza dei risultati ottenuti con due metodi di "routine" su una popolazione selezionata.

Materiali e metodi

Abbiamo arruolato nello studio 10 pazienti (6 maschi e 4 femmine) sottoposti a trapianto ortotopico di fegato presso il nostro Ospedale nei mesi di novembre 2001 e aprile 2002. Da questi pazienti sono stati ottenuti in totale 278 prelievi (da 10 a 89 per paziente) nell'arco di 1-4 mesi dal trapianto (mediana: 2 mesi). Duecentoquarantacinque campioni su 278 sono stati analizzati nella stessa giornata con AxSYM e TDx ciclosporina, due dosaggi Abbott FPIA (fluorescenza a luce polarizzata) rispettivamente su piattaforma completamente automatica e semiautomatica. I risultati sono stati valutati sia da un punto di vista dinamico (innalzamento rispetto ai valori basali dopo due ore dalla somministrazione) che analitico (correlazione tra i due metodi).

Risultati

I prelievi basali mostravano livelli compresi tra 56 e 560 ng/mL con TDx e tra 32 e 495 ng/mL con AxSYM; le medie dei valori osservati con i due sistemi non erano significativamente differenti (t di Student). A distanza di due ore i livelli di ciclosporina mostravano una variazione compresa tra 1,42 e 11,14 volte i valori basali (media: $3,53 \pm 1,55$) con TDx e tra 0,89 e 14,32 (media: $3,89 \pm 2,01$) con AxSYM. Solo in un caso vi era discordanza reale tra i due risultati (1,7 volte il basale con TDx, 0,89 con AxSYM). Nei due pazienti per i quali era disponibile una serie più completa di prelievi eseguiti ogni due ore, il profilo indicava un ritorno ai valori basali entro 8-10 ore dalla somministrazione. La correlazione tra i due metodi era elevata ($r=0,97$ con il metodo di Pearson, I_c 95% 0,96-0,98) e l'analisi secondo Passing e Bablock indicava una relativa sottostima dei risultati AxSYM, con equazione $AxSYM = 1,272 TDx - 0,56$. L'analisi delle differenze secondo Bland e Altman confermava la tendenza alla sottostima con il metodo AxSYM relativamente al metodo TDx, direttamente correlata all'incremento della concentrazione di ciclosporina.

Discussione e Conclusioni

Il monitoraggio dei livelli di ciclosporina e di altri agenti immunosoppressivi è di importanza cruciale nel follow-up dei pazienti sottoposti a trapianto, per ottimizzare il dosaggio e ridurre gli effetti collaterali della terapia. La nostra valutazione ha messo in evidenza una notevole correlazione ed un andamento analogo dei risultati ottenuti con due metodi diversi, ma la presenza di una differenza anche notevole di concentrazione sui singoli campioni a nostro avviso rende sconsigliabile la conversione dei risultati ottenuti con metodi diversi o anche, come in questo caso, con un metodo analogo ma in versioni e su strumentazioni diverse.

**DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLE CATENE LEGGERE NELLE URINE:
VALUTAZIONE DI UNA NUOVA METODICA SU ANALIZZATORE
AUTOMATICO DI CHIMICA CLINICA**

Olivieri L., Rossi L., Lucchetti A., Innocenti B.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, Azienda Ospedaliera Pisana

Introduzione - L'organismo elimina piccole quantità di proteine con le urine, fenomeno noto come proteinuria fisiologica. A livello diagnostico esiste la necessità di identificare le proteinurie fisiologiche da quelle che, per l'entità o per il tipo di proteine eliminate, sono da considerare patologiche.

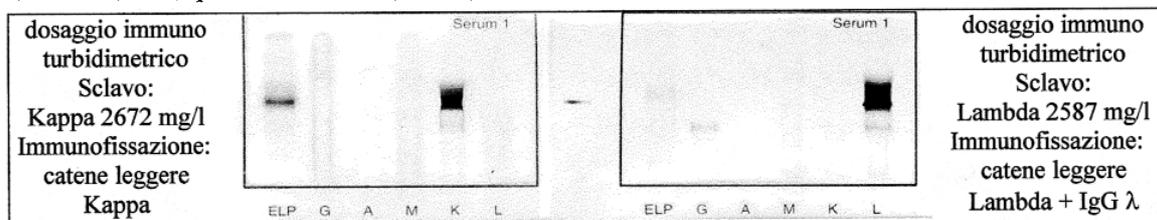
Tra queste, di particolare rilievo sono le proteinurie di Bence-Jones, importanti anche se di modesta concentrazione, e per le quali l'analisi quantitativa delle catene leggere Kappa e Lambda è valido strumento di diagnosi nel mieloma multiplo, m. di Waldeström, amiloidosi primaria e linfomi.

Sclavo Diagnostics ha sviluppato due test immunoturbidimetrici al lattice per la determinazione quantitativa delle catene leggere nelle urine tal quali, senza ricorrere alla loro concentrazione. La sospensione di particelle sensibilizzate, in presenza di catene leggere, si agglutina causando una torbidità che viene rilevata spettrofotometricamente attraverso applicazioni manuali o su sistemi analitici dell'ultima generazione.

Materiali e metodi - Mediante i test Sclavo u-CLK e u-CLL, applicati su analizzatore Modular Roche sono state dosate le concentrazioni di catene leggere totali in 28 campioni di urina, ed i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti dall'elettroforesi su gel di agarosio delle proteine urinarie (Hydrasys Hydragel HR, Sebia) e dall'immunofissazione (Hydrasys Hydragel IFE, Sebia) e con il dosaggio della proteinuria con il test U/CSF Protein (Modular, Roche). Su due campioni negativi, due campioni positivi per la presenza di catene leggere Kappa e due positivi per le catene Lambda sono stati eseguiti dosaggi ripetuti per il calcolo dei coefficienti di variazione interserie ed intraserie (4 serie di 10 dosaggi).

Risultati - Non sono state osservate discrepanze di rilievo tra i dosaggi immunoturbidimetrici ed i risultati dell'immunofissazione: tutti i 17 casi con presenza di catene leggere evidenziabile sul gel di agarosio (6 componenti monoclonali Kappa, 4 monoclonali Lambda e 7 casi di catene leggere policlonali) hanno mostrato risultati superiori al range di riferimento (18 mg/l per le Kappa e 9 mg/l per le Lambda), ben correlabili con i risultati della misura densitometrica del tracciato elettroforetico rapportata alle proteine totali urinarie ($r = 0.918$).

I dosaggi seriali hanno mostrato, infine, una eccellente ripetitività: il CV totale è risultato essere di 2,67% per le catene Kappa e di 1,29% per le Lambda, mentre i CV intraserie sono, rispettivamente, 1,78% e 1,23%, quello interserie 2,69 e 1,06%.



Conclusioni - Il metodo è risultato altamente sensibile e riproducibile; l'ampio intervallo di concentrazioni prima dell'effetto prozona permette di individuare anche proteinurie molto elevate.

Oltre alle ottime prestazioni analitiche che abbiamo rilevato, è positivo l'impiego di reagenti, calibratori e controlli liquidi e pronti all'uso, stabili 18 mesi a 4° C, e che non richiedono pretrattamenti; la prediluizione automatica dei calibratori, dei controlli e dei campioni e la diluizione automatica dei campioni con valori superiori alla curva di lettura. Le due metodiche (u-CLK e u-CLL) sono installabili su analizzatore Modular che prevede posizioni dedicate per test con caratteristiche personalizzabili.

Riteniamo pertanto che questi test siano un utile screening per individuare in modo rapido ed economico i campioni negativi, mentre i risultati positivi devono sempre e comunque dimostrare la loro monoclonalità all'immunofissazione.

VALUTAZIONE DEL DOSAGGIO DELLA EMOGLOBINA GLICATA (HbA_{1c}) SU ANALIZZATORE DADE BEHRING DIMENSION[®] RxL.

C. Cocco, M. Caputo, L. Lipa, A. Pretto, L. Perobelli, C. Menna, P. Rizzotti

Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche. Ospedale Civile Maggiore, Verona

Scopo del lavoro

E' stata effettuata una valutazione delle caratteristiche analitiche della determinazione della HbA_{1c} su Analizzatore DADE BEHRING Dimension[®] RxL anche allo scopo di evidenziare eventuali differenze con il metodo utilizzato in routine.

Materiali e Metodi

E' stato utilizzato L'Analizzatore Dimension RxL e il Kit HA1C che misura sia l'HbA_{1c} con un metodo di immunoinibizione turbidimetrica, sia l'emoglobina. Per confronto è stato utilizzato il sistema HA-8140, Menarini (HPLC) utilizzato in routine. L' imprecisione è stata valutata utilizzando due campioni di pazienti diabetici (nella serie) e due controlli del commercio "Glyco Hb 1 e 2" Menarini (tra le serie). I campioni (n=148) per il confronto fra metodi sono stati raccolti da pazienti diabetici in provette con EDTA; una parte di questi (n=40) è stata raccolta anche in Li-Eparina. La verifica della linearità è stata effettuata eseguendo diluizioni scalari di due campioni con HbA_{1c} normale e patologica. Per verificare l'interferenza delle varianti dell'Emoglobina sono stati utilizzati due campioni con presenza di HbF(2.4% e 3.4%) e due con HbS (eterozigote ed omozigote) L'effetto della frazione labile (base di Schiff) è stato studiato pre-incubando per 4 h tre aliquote di un campione di sangue intero in tampone PBS contenente Glucosio 20 mmol/L e 50 mmol/L. Per una analisi preliminare dell'intervallo di riferimento sono stati utilizzati n=60 campioni di Donatori.

Risultati

Imprecisione: Per i livelli 5.8% e 9.4% di HbA_{1c} i rispettivi CV nella serie (n=10) sono risultati 1.0% e 1.2%. I CV ottenuti tra le serie (n=8) per i livelli 7.8% e 11.0% sono risultati rispettivamente 3.8% e 3.6 %. Il CV medio delle misure tra le serie ottenuto con HPLC nella VEQ 2001 è stato 2.6%. **Confronto fra metodi:** La retta di regressione è risultata :Y (Dimension) = 0.94 x (HA-8140) +0.22, R²= 0.951. Il plot di Bland e Altman ha mostrato il seguente bias medio (intervallo di confidenza al 95%): HA-8140 - Dimension = 0.20 (0.18-0.22). **Linearità:** La percentuale di HbA_{1c} non si è modificata fino ad un livello di Hb di circa 50 g/l . **Anticoagulanti:** I valori medi dei risultati ottenuti con EDTA e con Litio Eparina sono risultati 7.7% e 7.6%. **Varianti:** In presenza di HbF i dati del Dimension hanno dimostrato una lieve sovrastima rispetto all'HPLC (11.0 vs 10.3, 6.7 vs 6.1) .Nel caso di HBS eterozigote lo scostamento dei dati non è apparso significativo. Con HbS omozigote il Dimension ha fornito una HbA_{1c}= 4.3% mentre con HPLC non è stata possibile la determinazione. **Effetto della frazione labile:** Non è stata riscontrata una differenza significativa fra i risultati ottenuti nelle diverse aliquote. **Intervallo di riferimento:** L'intervallo (97.5 percentile) è risultato compreso fra 5.4 e 5.9%. L'intervallo in routine con HPLC è 4 - 6%.

Discussione e Conclusioni

Il metodo esaminato ha mostrato buone prestazioni ma i dati di riproducibilità tra le serie richiedono una verifica su campioni di pazienti. La correlazione, pur utilizzando diversi calibratori, è risultata buona e l'intervallo di riferimento è apparso simile a quello con HPLC. Ai fini della variabilità è comunque nota l'importanza dell'allineamento con un materiale di riferimento; recentemente l'IFCC ha anche approvato un metodo di riferimento. Il dosaggio su Dimension RxL offre una notevole velocità (circa 60 test/ora) e la possibilità di determinare l'HbA_{1c} assieme agli esami più comuni facilitando il consolidamento all'interno del Laboratorio. Tuttavia, è necessario porre attenzione alla presenza di livelli elevati di HbF che possono fornire dati non attendibili. In definitiva, le caratteristiche preminenti del metodo esaminato sono individuabili nell'ambito della praticabilità.

VALUTAZIONE DI UN NUOVO METODO PER LA DETERMINAZIONE DELL'INR DA SANGUE CAPILLARE (PRO-TIME MICROCOAGULATION SYSTEM).

Paglalunga G*, Norese L.*, Serra D.*, Tenerelli P*, Intra E*.

*Servizio di Medicina di Laboratorio – Ospedale Evangelico Internazionale - Genova

Scopo del lavoro

Scopo del presente lavoro è stato verificare l'utilità del coagulometro Pro-Time Microcoagulation system (IL) in un ambulatorio per il monitoraggio della terapia anticoagulante orale (TAO), comparandone i risultati con quelli ottenuti utilizzando un metodo tradizionale automatizzato in pazienti sottoposti a TAO con diversi livelli di decoagulazione.

Materiali e metodi

Sono state effettuate le determinazioni relative a 116 pazienti in duplicato su Advance utilizzando Recombiplastin IL, comparando i valori con quelli ottenuti con una verifica diretta sul paziente nell'ambulatorio TAO utilizzando coagulometro Pro-Time IL al momento della visita di sorveglianza.

Il range di valori di INR osservato era compreso tra 1.20 e 4.50.

Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software MedCalc 6.16 al fine di valutare la correlazione e le criticità nelle differenze di INR tra i due metodi.

Risultati

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente. Sono stati valutati in particolare i parametri classici della statistica descrittiva oltre che i test di Wilcoxon e di Bland – Altman.

	Tutti i campioni	Campioni con 3.0 < INR < 4.5 su Pro-Time
Coefficiente di determinazione (r^2)	0.6918	0.2442
Coefficiente di Spearman	0.815	0.321
Differenza fra le medie	0.038	-0.1996
Valori con differenza > 0.5 di INR	14.6%	----
T-test di Student (t)	1.149	-2.338
Test di Wilcoxon (Z)	-1.79 (p=0.07)	----
Limiti di concordanza al 95%	da -0.66 a 0.73	da -1.04 a 0.64

	Tutti i campioni		Campioni con 3.0 < INR < 4.5 su Pro-Time	
	Pro-Time	ACL	Pro-Time	ACL
Media	2.50	2.54	3.42	3.22
Intervallo di confidenza al 95% della media	2.38 ± 2.62	2.43 ± 2.64	3.26 ± 3.58	3.03 ± 3.41
Valore minimo	1.2	1.22	3.00	2.09
Valore massimo	4.5	4.46	4.5	4.46
Deviazione standard	0.63	0.57	0.39	0.45
Errore standard della media	0.059	0.053	0.078	0.091

Discussione e Conclusioni

Il sistema di monitoraggio su sangue intero capillare si è dimostrato sufficientemente correlato con i valori ottenuti usando i metodi in vitro (Recombiplastin IL su Advance) ad eccezione del riscontro di una minor concordanza nella fascia di valori di INR fra 3.00 e 4.50. Nella casistica esaminata l'85.4% dei dati risulta avere differenze inferiori a 0.5 (INR). I dati che occasionalmente mostrano differenze di INR maggiori di 0.5 sono spesso riconducibili ad una difficoltà della determinazione da sangue capillare provocata dalla presenza di ipercheratosi e/o cute scabra.