**G-01**

## LA COBALAMINA (VITAMINA $B_{12}$) REGOLA SELETTIVAMENTE I LIVELLI DI INTERLEUCHINA-6 NEL LIQUIDO CEFALORACHIDIANO DI RATTO

D. Veber [a,e], M.M. Corsi [a], F.R. Buccellato [a,e], E. Mutti [a,e], G. Scalabrino [a,e]

[a]Istituto di Patologia Generale e [e]Centro di Eccellenza per lo Studio delle Malattie Neurodegenerative, Università degli Studi di Milano, Milano

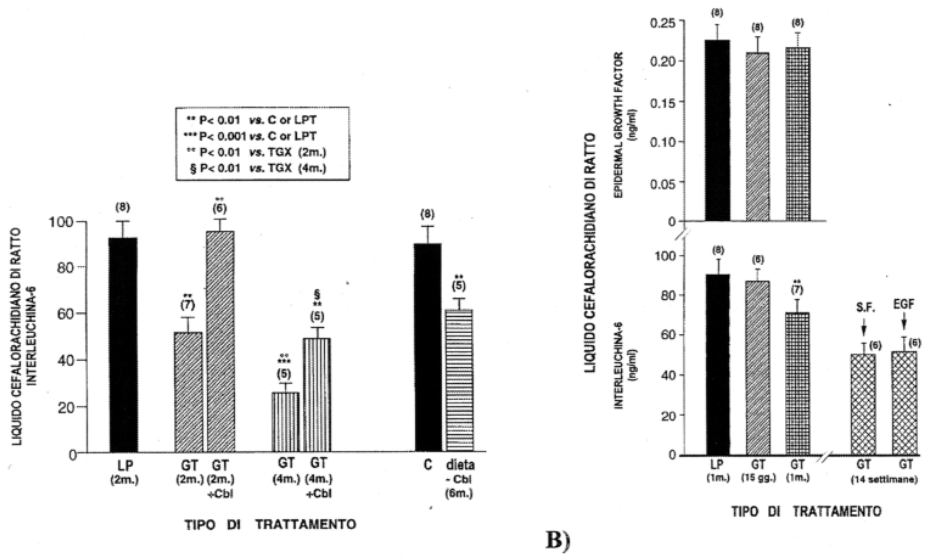
*Scopo del lavoro*

Scopo di questo lavoro è stato di chiarire se l'interleuchina(IL)-6 potesse essere coinvolta nella patogenesi della neuropatia da carenza di cobalamina (Cbl) (malattia nota nell'uomo come degenerazione subacuta combinata (DSC)) e se l'azione neurotrofica della Cbl potesse essere in parte dovuta all'azione dell'IL-6.

*Materiali e Metodi*

I livelli di IL-6 nel liquido cefalorachidiano (CSF) sono stati dosati mediante metodo ELISA (BioSource, Bouty, Milano). I ratti erano carenti in Cbl o perché totalmente gastrectomizzati (TGX) o perché alimentati con dieta priva di Cbl. La somministrazione sostitutiva di Cbl ai ratti TGX è stata effettuata mediante iniezione sottocutanea per i primi due mesi dopo la gastrectomia totale (GT) o durante il terzo e il quarto mese dopo la GT. L'epidermal growth factor (EGF) è stato somministrato mediante ripetute microiniezioni intracerebroventricolari (i.c.v.) e i suoi livelli nel CSF dei ratti TGX sono stati dosati mediante metodo radioimmunologico. Per ogni gruppo sperimentale i ratti di controllo erano normali (C) o laparatomizzati (LPT).

*Risultati*




**A)** I livelli di IL-6 diminuiscono significativamente nel CSF dei ratti TGX progressivamente all'aumentare del tempo di osservazione dopo la GT, e in quello dei ratti alimentati con una dieta priva di Cbl. La somministrazione cronica postoperatoria di Cbl fa aumentare significativamente i livelli di IL-6 nel CSF, sebbene solo quella precoce riporti i livelli di IL-6 ai valori di controllo. **B)** Abbiamo investigato se la diminuzione dei livelli di IL-6 potesse essere correlata alla diminuzione Cbl-dipendente della sintesi dell'EGF: ripetute somministrazioni i.c.v. di EGF ai ratti TGX non modificano significativamente i livelli di IL-6 nel CSF dei ratti TGX.

*Discussione e Conclusioni*

Questi risultati dimostrano che: 1) la Cbl regola in maniera selettiva i livelli di IL-6 nel CSF di ratti carenti in Cbl; 2) la diminuzione dei livelli di IL-6 nel CSF di ratti in carenza di Cbl non è mediata dalla diminuita sintesi di EGF, indotta dalla deficienza di Cbl e 3) la diminuita disponibilità di IL-6 gioca un ruolo nella patogenesi della DSC sperimentale, in cui non sono state osservate evidenti reazioni infiammatorie o immunologiche.

G-02

# ESAME DEL LIQUIDO CEFALORACHIDIANO MEDIANTE CITOFLUORIMETRO UF-100

**Alberta Caleffi, Mariella Mercadanti, Rosalia Aloe, Cesare Monica.**
1° Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Dipartimento Diagnostica di Laboratorio Azienda Ospedaliera-Universitaria - via Gramsci 14, 43100 Parma

**Scopo**
L'esame citochimico e morfologico del liquido cefalorachidiano è considerato ancora oggi fondamentale per l'interpretazione diagnostica di patologie infettive e infiammatorie a carico del Sistema Nervoso Centrale.
Si è voluto confrontare l'utilizzo del Citofluorimetro UF100 Sysmex-Toa (Dasit) con il metodo di riferimento in microscopia per valutare se si possa migliorare la qualità dell'analisi.

**Materiali e Metodi**
Nel mese di giugno 2002 sono stati esaminati 50 campioni di liquor provenienti dai Reparti di Rianimazione, Neurochirurgia, Neurologia, Oncoematologia Pediatrica, Malattie Infettive, Neonatologia.
Ogni campione veniva: 1-esaminato in microscopia con valutazione morfologica del/dei tipi cellulari su vetrino precolorato (Testsimplets–Roche Diagnostics) e con conteggio cellulare quantitativo in camera di Nageotte con liquido di Turk; 2-esaminato al Citofluorimetro; 3-inviato al dosaggio chimico-fisico di Glucosio, Proteine e Cloruri.

**Risultati**
Dei 50 liquor esaminati solo 40% dei campioni aveva materiale sufficiente per l'indagine in microscopia ed in citofluorimetria, il 60 % era inferiore ad 1 ml (quantità minima per l'esecuzione su citofluorimetro), il 20 % dei campioni aveva materiale veramente scarso.

**Tabella. Risultati dell'utilizzo del Citofluorimetro UF100 – Dasit per il Liquor**

| Volume Liquor | N° Campioni (50) | Microscopia | UF100 |
|---|---|---|---|
| ♦ >1 ml | 20 (40%) | Sì | Sì |
| ♦ 0,5 – 1ml | 20 (40%) | Sì | No |
| ♦ < 0,5 ml | 10 (20%) | Sì | No |

**Discussione e Conclusioni**
Il volume minimo di liquor richiesto dai citofluorimetri UF100 Dasit, attualmente a nostra disposizione, non consente di esaminare che il 40% dei campioni che pervengono al nostro Laboratorio dai vari reparti dell'ospedale. La distinzione morfologica dei tipi di leucociti e la presenza di cellule anomale o particolari (granulociti eosinofili, elementi macrofagici, ecc.) non è evidenziabile. La diversa composizione chimico-fisica del liquor (confrontata con il campione di urina) ha procurato problemi tecnici e strumentali durante il periodo dello studio (ostruzione dell'aspirazione ed altro). Dai risultati ottenuti, diversamente da quanto riferito da altri Autori (1-2), non pensiamo che i citofluorimetri attuali possano migliorare la qualità dell'esame né sostituire la Microscopia per la morfologia cellulare del liquido cefalorachidiano .

**Bibliografia**
1. Van Acker J.T. et al. *Automated Flow Cytometry: a new tool for analysing cerebrospinal fluid.* Clin. Acta Belgica. 2000; 1.
2. Van Acker J.T.et al. *Automated Flow Cytometry Analysis of Cerebrospinal Fluid.* Clinical Chemistry. 2001; 47: 3.

G-03

# EFFETTO SUGLI ORMONI IPOFISARI DEL MONITORAGGIO E DEL MAPPAGGIO NEUROFISIOLOGICO DURANTE LA CHIRURGIA DEI TUMORI IN AREA SENSITIVO-MOTORIA.

P. Lanteri[a], B. Caruso[b], F. Sala[a], G. Pinna[a], M. Marin[b], P. Rizzotti[b], A. Bricolo[a]

[a]Dipartimento di Neurochirugia, Ospedale Civile Maggiore, Verona [b]Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, Ospedale Civile Maggiore, Verona

Scopo del lavoro

La rimozione chirurgica "radicale" dei gliomi sembra migliorare la sopravvivenza e la qualità di vita dei pazienti, ma se localizzati in area sensitivo-motoria la loro asportazione è resa possibile e sicura grazie anche all'ausilio del monitoraggio neurofisiologico intraoperatorio (MNI). Il MNI permette di identificare le strutture funzionalmente attive e di valutarne l'integrità funzionale prevenendo i deficit motori post-operatori. Non esistono dati sull'effetto del MNI sull'ipofisi e sulla sua sicurezza, soprattutto se associato a condizioni come la gravidanza. Scopo del nostro lavoro è stato testare l'andamento degli ormoni ipofisari durante l'asportazione dei tumori in area sensitivo-motoria con l'ausilio del MNI.

Materiali e metodi

Sono stati esaminati i livelli ormonali in 6 soggetti di sesso femminile di età media 39 anni (± 11 anni), di cui 2 in gravidanza, durante l'asportazione di un tumore in area sensitivo-motoria con l'utilizzo del MNI. Il MNI consiste nella registrazione continua (monitoraggio) dei potenziali evocati motori (MEP) da stimolazione elettrica transcranica o corticale diretta e registrazione della risposta a livello muscolare, dei potenziali somatosensitivi (SEP), da stimolazione del n. mediano e/o tibiale posteriore e registrazione della risposta corticale, nel mappaggio con stimolazione elettrica cortico-sottocorticale diretta delle aree e delle vie interessate per l'identificazione delle strutture funzionalmente attive tumorali e peritumorali. Sono stati effettuati 5 prelievi: A. dopo l'induzione dell'anestesia, B. Dopo aver acquisito i segnali di base (MEP da stimolazione elettrica transcranica e SEP), C. Dopo l'asportazione della lesione e utilizzo dei MEP, dei SEP e della stimolazione corticale diretta, D. Dopo l'acquisizione dei segnali di chiusura (MEP da stimolazione elettrica transcranica e SEP), E. Due ore dopo la fine del monitoraggio.

Risultati

Tabella dei valori medi

| | | A | B | C | D | E |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Corticotropina | pmol/L | 1,10 | 1,43 | 1,28 | n.d. | 9,20 |
| Tireotropina | mU/L | 1,57 | 2,84 | 3,49 | 2,36 | 2,31 |
| Follitropina | UI/L | 22,10 | 21,28 | 12,34 | 35,33 | 20,28 |
| Luteotropina | U/L | 9,07 | 7,37 | 4,17 | 9,99 | 8,57 |
| Adiuretina | pmol/L | 2,26 | 1,83 | 6,44 | 1,20 | 15,23 |
| Ormone della crescita | U/L | 5,67 | 1,13 | 3,07 | 25,81 | 4,20 |
| Gonadotropina corionica um. | U/L | 27734 | 25965 | 27859 | 34962 | 24715 |
| Prolattina | mU/L | 4771,67 | 4315,33 | 5150,80 | 2262,33 | 4593,67 |
| Cortisolo | nmol/L | 202,29 | 98,88 | 123,46 | 319,67 | 514,50 |

Discussione e conclusioni

Dall'analisi dei valori medi degli ormoni esaminati si evidenzia la tendenza generale all'incremento dei valori dopo stimolazione elettrica transcranica e diretta (Follitropina, Ormone della crescita, Gonadotropina Corionica Umana, Tireotropina, Corticotropina, Adiuretina, solo la Luteotropina e il Cortisolo si riducono inizialmente), per poi ritornare a valori normali alla fine dell'intervento. Per le due pazienti in gravidanza non sono state registrate modificazioni ormonali significative tali da indurre una sofferenza gestazionale.

**G-04**

# QUALE INDAGINE DI LABORATORIO NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER?

Maria G. Scarmozzino, Maria C. Berlinghieri, Elio Gulletta
Cattedra ed U.O. di Patologia Clinica, DMSC, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università "Magna Greacia" Catanzaro.

## *Scopo del Lavoro*

Lo stress, attraverso l'attivazione della risposta neurormonale, può influenzare l'inizio e l'evoluzione di malattie autoimmunitarie e degenerative anche del Sistema Nervoso Centrale, alterando l'equilibrio del microambiente citochinico, locale e sistemico. Nelle risacerbazioni prevale una risposta proinfiammatoria che tende ad far progredire la malattia sul piano neuropatologico e clinico con aumento della sintesi di IL-10 da parte dei PMBC e delle cellule neuronali (glia, astrociti). La gravità della Malattia di Alzheimer ed il rispetto del malato, ci hanno indotto a ricercare marcatori, tali che il loro dosaggio sia utilmente impiegabile nella implementazione di linee guida diagnostiche e prognostiche. In questo studio presentiamo i dati ottenuti mediante l'impiego di un test per il dosaggio della proteina TAU nel liquor di soggetti con malattie neurodegenerative.

## *Materiali e Metodi*

Pazienti. Finora sono stati arruolati 70 pazienti con sospetta malattia neurodegenerativa, di entrambi i sessi ed età superiore ai 60 anni ed un paziente affetto da encefalopatia spongiforme in fase acuta. Tutti i pazienti sono stati sottoposti, contestualmente e prima dell'inizio della terapia, a prelievo di sangue e liquor. Le aliquote dei campioni sono state conservate a –80°C fino all'esecuzione dei dosaggi.

Metodi. Il dosaggio della proteina TAU nel liquor è stato eseguito con una metodica immunoenzimatica (Innotest hTAU Ag, Innogenetics). La procedura prevede la cattura della proteina da parte dell'anticorpo monoclonale AT120 adeso sui pozzetti della piastra ed il riconoscimento del complesso legato da parte degli anticorpi monoclonali (HT7 ed BT2) specifici per due differenti epitopi della molecola. La reazione è rivelata dall'aggiunta del complesso biotina-streptoavidina-perossidasi. Il cut-off di riferimento, per i soggetti sani di età superiore ai 60 anni, da noi adottato è $\leq$ 180 pg/ml.

Gli anticorpi sierici anti-mielina sono stati valutati con metodica IFI, Euroimmmun.

## *Risultati*

Dei 70 pazienti studiati, tutti con diagnosi di sospetta malattia neurodegenerativa, 29 (41.5%) sono risultati positivi al dosaggio della proteina TAU, con valori variabili nel range da 220 a 1200 pg/ml. In nessuno dei 41 pazienti negativi è stata confermata clinicamente la diagnosi di Malattia di Alzheimer. Il paziente affetto da encefalopatia spongiforme ha mostrato il valore più elevato in assoluto > 1200 pg/ml.

Tra i pazienti studiati, 7 sono risultati positivi per autoanticorpi anti-mielina e tutti questi mostravano un valore di proteina TAU inferiore al cut-off di riferimento.

## *Discussione e Conclusioni*

I nostri dati, seppur meritevoli di ulteriore approfondimento, suggeriscono che il dosaggio della proteina TAU nel liquor dei pazienti con malattia di Alzheimer può risultare una metodologia riproducibile ed accurata, con un buon valore predittivo negativo. E' da sottolineare il valore estremamente elevato riscontrato nel paziente con SPE. Il dosaggio nel siero e nel liquor delle citochine proinfiammatorie potrebbe rappresentare una valida indicazione della progressione della malattia.

G-05

## APPLICAZIONE DI LINEE GUIDA E VALUTAZIONE D'IMPATTO NELLA DIAGNOSI DI MALATTIA CELIACA

D. Bassetti, P. Caciagli

Dipartimento di Medicina di Laboratorio: Patologia Clinica II - Microbiologia Immunologia
Ospedale S.Chiara – Trento

*Scopo del lavoro*

La Evidence Based Healthcare si propone essenzialmente di migliorare la qualità degli interventi sanitari attraverso un più stretto rapporto tra ricerca clinica e pratica della medicina. L'esplosione di Linee Guida, cui si è assistito negli ultimi dieci anni, è scaturita dall'esigenza di indurre il miglioramento della qualità e dell'efficienza nelle decisioni cliniche con conseguente miglioramento di risultato per il paziente, riduzione delle variabilità assistenziale ed ottimizzazione delle risorse. Purtroppo tali obiettivi non sono spesso facilmente raggiungibili neanche tramite la produzione e diffusione di Linee Guida metodologicamente valide: la resistenza alla loro applicazione è multifattoriale, dovuta sia a motivi comportamentali che a limiti organizzativi.

*Materiali e metodi*

L'obiettivo di migliorare la diagnosi di celiachia, patologia sottostimata anche in provincia di Trento, ha indotto il Dipartimento Materno-Infantile delle locale APSS a redigere delle Linee Guida, coinvolgendo i medici specialisti maggiormente interessati e a diffondere le stesse per iniziative dell'Ordine dei Medici della Provincia Autonoma di Trento e dell'Associazione Italiana Celiachia Trentino.
Dette L.G. sono state oggetto di numerosi confronti con medici di base e specialisti, mediante clinical audit promossi nei vari distretti provinciali nel periodo dicembre 2001 – febbraio 2002.
Le L.G. prevedono precisi interventi della Medicina di Laboratorio relativi a : 1) conferma di casi clinici; 2) follow-up di pazienti celiaci; 3) individuazione di forme subcliniche o misconosciute, con strategie di testing, cioè di screening sierologici già orientati dal riscontro di fattori di rischio.
Nell'APSS di Trento gli esami di laboratorio per la malattia celiaca sono centralizzati presso l'U.O. di Patologia Clinica II: Microbiologia Immunologia dell'Ospedale S.Chiara, il che consente un monitoraggio delle richieste specifiche totali ed una valutazione di appropriatezza di richiesta. Nell'intento di valutare l'efficacia della diffusione delle L.G., è stato eseguito un esame delle proposte di esami nel periodo successivo al confronto delle stesse operato con i colleghi, suddividendo le richieste in appropriate (richiesta di IgA anti-transglutaminasi ), ridondanti (richiesta di IgA anti transglutaminasi ed Endomisio) ed inadeguate (richiesta di IgA anti Endomisio).

*Risultati*

È stata eseguita una valutazione percentuale di richieste appropriate sul totale delle proposte, prendendo in considerazione i mesi da gennaio a luglio 2002.

| Periodo | Gennaio | Febbraio | Marzo | Aprile | Maggio | Giugno | Luglio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Esami totali | 423 | 458 | 487 | 359 | 436 | 350 | 387 |
| Richieste totali | 277 | 308 | 350 | 265 | 320 | 222 | 268 |
| Richieste appropriate | 85 | 98 | 136 | 129 | 128 | 103 | 148 |
| Richieste non appropriate | 192 | 210 | 214 | 136 | 192 | 119 | 120 |
| % appropriatezza | 30 | 31 | 38 | 48 | 40 | 46 | 55 |

*Discussione e conclusioni*

Il trend mostra un aumento significativo, ma non sufficiente, delle richieste appropriate, per cui al bilancio consultivo dell'iniziativa, prevista per fine anno, dovranno essere decise altre strategie di implementazione delle Linee Guida.

**G-06**

# FOLLOW-UP NEL POST-TRAPIANTO DI RENE: PROCEDURE OPERATIVE, DALL'ACCETTAZIONE AL REFERTO

Rossi L., Severini L., Lucchetti A., Casini M., *Caprioli R., *Lippi A., *Rindi P. , Innocenti B.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1,
U.O. Nefrologia con Trapianti,
Azienda Ospedaliera Pisana

## Scopo del lavoro

Il laboratorio è coinvolto in maniera diretta nel monitoraggio del paziente sottoposto a trapianto di rene, assistendo il clinico mediante la determinazione dei parametri biologici tipici nella valutazione della compliance del paziente trapiantato. Il follow-up di questi pazienti occupa un servizio importante, assistendo prevalentemente persone provenienti da fuori provincia, che vengono periodicamente osservati nello specifico ambulatorio della Divisione Nefrologica, anche sulla base degli esami forniti dal laboratorio. Al fine di coordinare e quindi agevolare lo svolgimento delle tappe che compongono queto percorso assistenziale, è stato messo a punto un protocollo di accesso facilitato, regolato da linee guida e procedure.

## Materiali e metodi

Gli esami specifici del trapiantato (ciclosporina o tacrolimus, creatinina, urea, creatinuria e azoturia con relative clearance, emocromo completo) vengono eseguiti in regime di routine accelerata utilizzando una scheda con codice dedicato; gli altri esami generali (glicemia, transaminasi, alp, ggt, colesterolo, trigliceridi, acido urico, elettroliti, elettroforesi, urine ed urinocoltura), vengono eseguiti con l'apertura di una seconda cartella. L'attivazione di un canale preferenziale di prelievo, accettazione anagrafica e smistamento provette consente di iniziare immediatamente la fase analitica: i pazienti, entro le ore 9, si presentano al Centro Prelievi con la richiesta di esami compilata dai medici dell'Ambulatorio di Nefrologia e si recano ad uno sportello dell'accettazione dove non occorre numero di accesso, e da questo all'ambulatorio dedicato per sottoporsi al prelievo di sangue.

## Risultati

La refertazione degli esami necessari al monitoraggio e all'eventuale aggiustamento della terapia antirigetto (gli esami eseguiti in routine accellerata) avviene entro le ore 11; l'esecuzione delle rimanenti analisi, per la completa valutazione di controllo dei pazienti, avviene entro le ore 15. Con una organizzazione di questo tipo è possibile garantire l'espletamento del follow-up, sulla prima trance di esami disponibili (ore 11) nella mattina, anche nell'eventualità che si rendano necessari interventi diagnostici strumentali. I referti vengono acquisiti on-line, attraverso una rete intranet ospedaliera, dall'ambulatorio di nefrologia, prima di essere inviati, in originale, completati dai rimanenti esami di routine, al reparto attraverso il servizio interno ambulanze.

## Discussione e conclusioni

Seguendo queste linee guida ed attenendoci a procedure semplici e facilmente attuabili siamo riusciti a sviluppare ed ottimizzare un servizio di grande utilità nella gestione di un paziente difficile, che necessità di un monitoraggio accurato e continuo in cui il Laboratorio ricopre un ruolo determinante.

**G-07**

# INFORMATICA ED EDUCAZIONE SANITARIA: CONTRIBUTO ALLA QUALITA' TERAPEUTICA DEL PAZIENTE IN TRATTAMENTO ANTICOAGULANTE ORALE.

A. Toma, P. Barbera, V. Miconi
Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile "L. Cazzavillan", Arzignano (VI)

Dal gennaio 2002 opera nella struttura ospedaliera di Arzignano (VI) un Centro FCSA (Federazione Centri Sorveglianza Anticoagulati) che utilizza un software "dedicato" alla sorveglianza della terapia anticoagulante orale (TAO), anche se le nostre prime esperienze sulla gestione del paziente anticoagulato sono iniziate nel maggio 2001, utilizzando il metodo tradizionale basato su "carta e penna".

**Scopi** del presente studio sono stati: 1. verificare se l'introduzione del programma informatico ha modificato la performance del nostro Centro sulla qualità del livello terapeutico; 2. valutare il ruolo del Colloquio con il paziente nella gestione della condotta terapeutica.

**Materiali e Metodi:** Per la valutazione statistica della qualità del livello terapeutico abbiamo utilizzato la QUALITA' MEDIA PERIODICA (QMP) (percentuale dei controlli in range terapeutico per il periodo considerato) e l'INTERPOLAZIONE LINEARE (IL) (percentuale del tempo trascorso dai pazienti entro il range terapeutico). Per la gestione della TAO il programma informatico PARMA 4.0 (ditta Instrumentation Laboratory). Nella prima parte dello studio (gruppo A) abbiamo seguito 10 pazienti (5 maschi e 5 femmine; età media 68 anni, range 25-80 anni) di cui 7 affetti da: fibrillazione atriale (FA), 1 da cardiopatia ischemica (CI), 1 con protesi valvolare meccanica (PVM), 1 con embolia polmonare (EP); i pazienti sono stati seguiti in una fase "pre-informatica" (I), nella successiva "post-informatica" (II) ed in una ulteriore fase (III) (la durata di ogni fase è di 3 mesi). Nella seconda parte del lavoro (gruppo B) abbiamo studiato 32 pazienti seguendoli nella fase II e III (18 maschi, 14 femmine, età media 63 anni, range 25-80 anni) che presentavano le seguenti indicazioni cliniche alla TAO: 20 FA, 2 CI, 4 PVM, 5 EP, 1 arteriopatia periferica.

Il Colloquio comprende: 1. visita ematologia breve di circa 60 minuti (discussione problematiche relative alla TAO, consegna di guida informativa e modulo per il consenso informato); 2. successivi incontri di circa 10 minuti con consegna posologia TAO.

**Risultati:**

| | GRUPPO A (n. = 10) | | | | GRUPPO B (n. = 32) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | QMP | σ INR | IL | n° prel/paz. | QMP | σ INR | IL | n° prel/paz. |
| **fase I** | 58,5 | 0,74 | 70,4 | 7,0 | - | - | - | - |
| | | * | | | | | | |
| **fase II** | 67,9 | 0,47 | 77,4 | 8,1 | 53,9 | 0,75 | 64,4 | 7,9 |
| | | | | ** | ** | ** | ** | * |
| **fase III** | 71,1 | 0,49 | 79,5 | 5,9 | 67,1 | 0,56 | 78,2 | 6,4 |

* = ($p < 0,05$); ** = ($p < 0,01$) test t di Student.

**Discussione e Conclusioni:** 1) l'utilizzo del software ha permesso nel gruppo A sia di aumentare del 7% il tempo trascorso dai pazienti nel range terapeutico, che di diminuire significativamente ($p < 0,05$) la dispersione dei dati INR, raggiungendo più agevolmente il target INR; 2) l'azione educativa del centro ha permesso di ridurre significativamente il numero dei prelievi/paziente sia nel gruppo A (-27%) che in quello B (-19%) con un conseguente incremento della compliance. Nel gruppo B tutti i parametri indicativi della qualità terapeutica hanno subito un miglioramento statisticamente significativo. La Sorveglianza della TAO, a nostro parere, consente quindi una regolare e continua interazione medico-paziente che fornisce una educazione attiva con la quale il paziente raggiunge un maggior grado di consapevolezza della condotta terapeutica.

**G-08**

# TROPONINA I CARDIACA (cTnI): CONSIDERAZIONI SULLE FASCE DI ETÀ DEI PAZIENTI E SULLE INTERFERENZE LEGATE AL DOSAGGIO

**Maria Teresa Marino, Alberta Caleffi, Cesare Monica.**

1° Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliera–Universitaria, via Gramsci 14 - 43100 - Parma

**Scopo del Lavoro**

E' riconosciuta l'importanza della cTnI (Troponina I Cardiaca) come marcatore biochimico sensibile e specifico per lesioni miocardiche. Abbiamo voluto verificare un reattivo (AccuTnI Access-Beckman) di recente introduzione in commercio.

Lo scopo di questo lavoro e' valutare i risultati dei dosaggi di cTnI, individuare le fasce di età dei pazienti più soggetti a miocardiopatie e verificare le possibili interferenze.

**Materiali e metodi**

Il test è un immunodosaggio in chemiluminescenza con particelle paramagnetiche per la determinazione quantitativa dei livelli di Troponina cardiaca I nel siero e nel plasma umano.

Tra Giugno e Luglio del 2002 abbiamo preso in esame 903 campioni di sangue (in provetta con E.D.T.A) provenienti da pazienti ricoverati presso il Pronto Soccorso, la Medicina d'Urgenza, i Servizi di Cardiologia, la Cardiochirurgia, i Servizi di Medicina Interna ed altri Reparti del nostro Ospedale. Abbiamo considerato l'eta' dei pazienti e la patologia associata.

I risultati del dosaggio della cTnI sono stati classificati: POSITIVO (>0.100 ng/ml), DEBOLMENTE POSITIVO (0.06 - 0.09 ng/ml), NEGATIVO (< 0.05 ng/ml).

Infine si è analizzato il problema delle interferenze legate al dosaggio su 278 campioni di sangue di ultra-ottantenni (popolazione piu' a rischio per falsi positivi da terapie farmacologiche, presenza di autoanticorpi, anticorpi eterofili ecc.)

**Risultati**

La fascia di età sottoposta a maggior controllo diagnostico è tra i 60 e gli 80 anni ma le fasce di età con maggior numero di campioni Positivi risultano essere: >80 anni, con il 41%, e 40-60 anni con il 33,7%. Nella categoria degli ultra-ottantenni (278 campioni ) i campioni Positivi sono risultati il 26,3%, i Negativi 59%, i Debolmente Positivi 14,7%. I 40 pazienti con risultati francamente positivi e i 31 pazienti con risultati debolmente positivi sono stati seguiti nel loro decorso clinico e solo 2 di quest'ultimo gruppo (2,8 %) non evidenziano patologia strettamente connessa a miocardiopatia (un paziente ricoverato per gastroenterite e uno per iperpiressia e disidratazione).

**Discussione e Conclusioni**

L'alta percentuale di campioni Negativi (con valori vicini allo zero) riferita al gruppo di età superiore agli 80 anni e la concordanza trovata tra i risultati "Positivi"e "Debolmente Positivi" e la patologia dei pazienti esaminati rivela una minima presenza di interferenze. Possiamo pensare che questo nuovo test abbia migliore performance di prodotti utilizzati in precedenza.

**Bibliografia**

• Panteghini M., Apple FS., Christensen RH., Dati F., Mair.J., Wu AH. *Use of biochemical markers in acute coronary sndromes*. Clin. Chem. Lab. Med 1999; 37: 687-693.

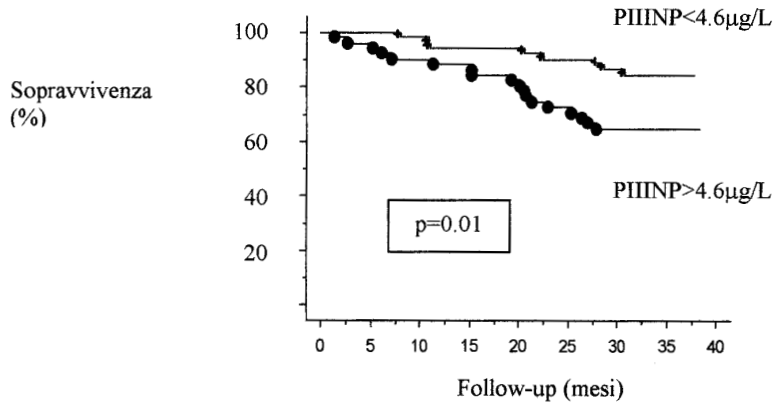
• Venge P. et al. *Clinical Performance of Three Cardiac Troponin Assays in Patients with Unstable Coronary Artery Disease (a FRISC II Substudy)*. Am.J.Cardiol 2002; 89:1035-1041.

**G-09**

## SIGNIFICATO CLINICO DEL DOSAGGIO DEL PROCOLLAGENE TIPO III IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI AFFETTI DA SCOMPENSO CARDIACO

**S. Meneghelli [a], M. Cicoira [b], B. Caruso [a], I.Battilotti [a] ,L. Zanolla [b], P. Zardini [b].**
**[a] Laboratorio di Chimica Clinica, Ospedale Civile Maggiore, Verona**
**[b] Dipartimento di Scienze Biomediche e Chirurgiche, Sezione di Cardiologia, Università di Verona.**

*Introduzione*: i pazienti affetti da scompenso cardiaco cronico (SCC) sono caratterizzati da un'attivazione neuro-endocrina generalizzata, responsabile della progressione della malattia. Uno dei meccanismi che legano l'aumento di mortalità di questi pazienti all'attivazione dei sistemi neuro-endocrini è rappresentato dagli effetti che i neuro-ormoni hanno sulla regolazione della matrice extracellulare, di cui il procollagene tipo III (PIIINP) costituisce un marker.
*Scopo dello studio*: valutare il significato clinico del dosaggio del PIIINP in pazienti affetti da SCC.
*Metodi*: abbiamo arruolato 105 pazienti affetti da SCC seguiti presso il Day Hospital della Divisione di Cardiologia del nostro Ospedale. L'età dei pazienti (media ±DS) era di 62.1±6.8 anni; il 92% era di sesso maschile. Abbiamo escluso i pazienti affetti da insufficienza renale cronica, malattie infiammatorie croniche ed epatopatie. Tutti i pazienti hanno rilasciato un consenso informato scritto prima dell'inizio dello studio. Dopo 30' di clinostatismo è stato eseguito un prelievo di sangue venoso per la determinazione di aldosterone, renina, catecolamine e PIIINP. Per il dosaggio del PIIINP è stato utilizzato un metodo radioimmunologico commerciale (Intact PIIINP RIA Orion Diagnostica, Espoo, Finland). Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad un follow-up clinico dal mese di Maggio 1999 al mese di Luglio 2002. L'end-point combinato dello studio erano la mortalità per tutte le cause ed i ricoveri per scompenso cardiaco.
*Risultati*: le concentrazioni di S-aldosterone, P-renina e P-norepinefrina erano rispettivamente di. 0.26±0.10 nmol/L, 83.1±100.5 mU/L, 403±269 pg/ml.La concentrazione media di PIIINP era 4.7±1.2 μg/L (I.R.: 1.5-4.5 μg/L). In 51 pazienti (48.5%) la concentrazione media di PIIINP era superiore al limite alto dell'I.R. Non abbiamo trovato correlazioni significative tra i livelli di PIIINP e di P-renina, S-aldosterone e P-norepinefrina, funzione renale e classe funzionale NYHA. Durante il follow-up (media 29.1±9.4 mesi) si sono verificati 28 eventi. I predittori dell'end-point combinato all'analisi univariata erano la classe funzionale NYHA ($p<0.05$), la dose di diuretico ($p<0.01$), la creatininemia ($p<0.001$), la p-norepinefrina ($p<0.05$) ed il PIIINP ($p=0.001$). I pazienti con un PIIINP superiore alla mediana (4.5μg/L) avevano una maggior frequenza di eventi rispetto ai pazienti con PIIINP inferiore alla mediana ($p = 0.01$) (Fig.).
*Conclusioni*: la concentrazione di PIIINP è un predittore significativo di mortalità ed evento negativo in un gruppo di pazienti affetti da SCC. Questo dato non appare legato a funzionalità renale o ad attivazione neuro-endocrina.



**G-10**

## PRESTAZIONI ANALITICHE DELL' ADVIA CENTAUR NEL DOSAGGIO DEI MARCATORI CARDIACI.

G.Guerra, F.Addesso, A.Fabbri, M.R.Lopriore, F.Rigolin

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Azienda Ospedaliera-Universitaria S.Anna.
FERRARA.

*Scopo del lavoro*

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare l'imprecisione e l'accuratezza relativa e la performance analitica dei reagenti per il dosaggio di TnI, Mioglobina e del CK-MB sullo strumento ADVIA CENTAUR (BAYER) utilizzando come sistema comparativo il DIMENSION (DADE BEHERING), strumento utilizzato attualmente nel nostro laboratorio per la determinazione dei tests sopra elencati.

*Materiali e Metodi*

Per quanto riguarda il protocollo di imprecisione abbiamo utilizzato controlli di marcatori cardiaci a tre livelli di concentrazione; ciascun controllo è stato testato in due replicati e per dieci giorni successivi. L'imprecisione "*within-run*" e totale è stata calcolata con il test ANOVA.
Il protocollo di comparazione fra i due sistemi analitici è stato valutato con il dosaggio di cento sieri della routine del laboratorio provenienti da pazienti ospedalizzati. Il dosaggio in singolo su ciascuno strumento è stato effettuato in cinque giorni lavorativi. L'analisi statistica è stata eseguita con il test "*standard linear regression*".

*Risultati*

I risultati relativi al protocollo di imprecisione sono riassunti nella seguente tabella:

| **n. 40 ciascuno** | | **Liquid Cardiac Markers** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **Level 1** | **Level 2** | **Level 3** |
| CK-MB | Media (ng /mL) | 3.5 | 25.5 | 85.0 |
| | CV %, Intraserie | 3.6 | 3.7 | 1.3 |
| | CV %, Total | 3.6 | 6.2 | 2.9 |
| Mioglobina | Media (ng /mL) | 63.4 | 391.0 | 689.4 |
| | CV%, Intraserie | 3.9 | 4.8 | 3.4 |
| | CV%, Totale | 3.9 | 5.5 | 3.4 |
| TnI | Media (ng /mL) | 0.9 | 10.9 | 25.7 |
| | CV%, Intraserie | 5.0 | 2.8 | 4.3 |
| | CV%; Totale | 5.0 | 5.0 | 5.5 |

Il confronto tra i metodi ha dato le seguenti correlazioni:
TnI → r = 0.969 Mioglobina→ r = 0.999 CK-MB→ r = 0.99

*Discussione e conclusioni*

Gli analiti inseriti nello studio ed in particolar modo la troponina sono recentemente diventati un'importante alternativa ai metodi convenzionali nella diagnosi e nel monitoraggio dell'infarto miocardico acuto e nella stratificazione del rischio di pazienti con sindromi miocardiche.
La buona correlazione tra le due strumentazioni utilizzate e la buona precisione dell'Advia Centaur ci consentono pertanto di poterlo affiancare al Dimension nella routine giornaliera per il dosaggio dei marcatori descritti . Sarà indispensabile calcolare anche il profilo di precisione che attualmente è disponibile soltanto in parte.

G-11

# UTILIZZO DI CISTATINA C SIERICA COME PREDITTORE DI VELOCITA' DI FILTRAZIONE GLOMERULARE (GFR)

D. Signori[a], O. Zanon[a], F. Antonucci[b], F. Modena[b]

[a] Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia; [b] Divisione di Nefrologia e Emodialisi Presidio Ospedaliero dell'ULSS 2 di Feltre (BL).

*Scopo del lavoro*

La Cistatina C (Ci) è una proteina basica a basso PM (13000 D), prodotta dall'organismo a velocità costante, non influenzata da condizioni infiammatorie, liberamente filtrata dal glomerulo e quasi completamente riassorbita e catabolizzata dalle cellule del tubulo prossimale. A differenza della Creatinina sierica (Cr), Ci non mostra differenze significative tra i sessi e viene proposta come indicatore semplice e pratico di GFR[1].

*Materiali e Metodi*

Abbiamo determinato Ci con metodo immunoturbidimetrico (Dako Cystatin C PET kit), automatizzato su Hitachi 911[2], Cr con Jaffè, GFR mediante scintigrafia renale con clearance utilizzando Tc99 DTPA in 63 pazienti non nefrosici (26 F:17-82 anni; 37 M:26-80 anni). Abbiamo calcolato la Clearance della creatinina predetta con la formula di Cockcroft-Gault[3] utilizzando Cr (GFR-Cr) e Ci (GFR-Ci).

*Risultati*

| Parametro | Uomini (n=37) | Donne (n=26) | Totali (n=63) |
|---|---|---|---|
| Età (anni) | 58,3 ± 15,09 (26-80) | 51,26 ± 18,98 (17-82) | 55,31 ± 17,07 |
| Cistatina (Ci) (mg/L) | 2,5 ± 1,2 (0,7-5,3) | 1,87 ± 1,08 (0,7-4,6) | 2,24 ± 1,19 |
| 1/Cistatina (1/Cr) (x100) | 52,61± 30,91 (18,9-144,9) | 69,09 ± 33,01 (21,7-144,9) | 59,41 ± 32,57 |
| Creatinina (Cr) (mg/dL) | 2,41± 1,35 (0,9-5,6) | 1,59 ± 1,01 (0,7-4,6) | 2,08 ± 1,28 |
| 1/Creatinina (1/Cr) (x100) | 54,72 ± 27,25 (17,9-111,1) | 80,37 ± 32,56 (21,7-142,9) | 65,3 ± 31,87 |
| ClCr (mL/min/1.73m$^2$) | 54,03 ± 41,92 (7,6-147) | 53,38 ± 28,89 (0-125) | 53,8 ± 36,67 |
| GFR (mL/min/1.73m$^2$) | 48,33 ± 33,85 (6-126) | 58,01 ± 33,34 (0-115) | 52,33 ± 33,72 |
| GFR-Ci (mL/min/1.73m$^2$) | 51,73 ± 41,4 (11,6-142,3) | 50,59 ± 33,89 (9,2-129,6) | 51,23 ± 38,03 |
| GFR-Cr (mL/min/1.73m$^2$) | 53,84 ± 38,26 (8,9-129,4) | 58,88 ± 38,61 (12,4-160,9) | 56,03 ± 38,17 |

| Variabile (dip. vs indip.) | Coefficiente di correlazione di Spearman | | R quadrato | Regressione lineare |
|---|---|---|---|---|
| Ci vs Cr | 0,87 | P<0.0001 | 0,77 | Ci = 0,55 + 0,81Cr |
| CrCl vs GFR | 0,85 | P<0.0001 | 0,63 | CrCl = 8,75 + 0,85GFR |
| GFR-Ci vs GFR | 0,89 | P<0.0001 | 0,71 | GFR-Ci = 0,49 + 0,96GFR |
| GFR-Cr vs GFR | 0,84 | P<0.0001 | 0,58 | GFR-Cr = 9,95 + 0,88GFR |
| 1/Ci (x100) vs GFR | 0,87 | P<0.0001 | 0,72 | 1/Ci (x100) = 14,46 + 0,82GFR |
| 1/Cr (x100) vs GFR | 0,79 | P<0.0001 | 0,61 | 1/Cr (x100) = 26,69 + 7,39GFR |
| 1/Ci (x100) vs CrCl | 0,90 | P<0.0001 | 0,54 | 1/Ci (x100) = 25,08 + 0,65CrCl |
| 1/Cr (x100) vs CrCl | 0,85 | P<0.0001 | 0,63 | 1/Cr (x100) = 28,85 + 0,69CrCl |

*Discussione e Conclusioni*

La migliore correlazione con GFR è stata dimostrata da 1/Ci e GFR-Ci, indicando in Ci un buon indicatore di funzionalità renale, utilizzabile come predittore di GFR, in sostituzione di Cr nella formula di Cockroft-Gault.

*Bibliografia*

1. Finney H, Newman DJ, Price CP. Ann Clin Biochem 2000; 37: 49-59.
2. Signori D, Antonucci F, Grava G, Shiavon R, Zanon O, Modena F. Atti 10° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina di Laboratorio. Verona, 5-7/12/1996. Med Lab 1996; 4, 3, 453.
3. Cockcroft DW, Gault MH. Nephron 1976; 16: 31-41.

**G-12**

## POSSIBILE SIGNIFICATO DIAGNOSTICO DELLA CRP ULTRASENSIBILE NELLE TIREOPATIE

Batini I., Landi N., Telese D., Pardini E., Pellegrini G., Mantellassi B..

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Presidio Ospedaliero Cisanello, Via Paradisa n.2 56124 Pisa.

*Scopo del lavoro*

Il termine "fase acuta" identifica un complesso quadro di risposte sistemiche e locali dell'organismo ad eventi nocivi. Nella Tiroidite sub-acuta, che è un disordine infiammatorio e distruttivo della tiroide, si riscontra un aumento anche notevole della CRP. Scopo del nostro studio è stato determinare se le concentrazioni sieriche della hs-CRP. possono aiutare a differenziare le varie patologie distruttive e non della tiroide, ed in particolare se possono discriminare tra Tireotossicosi indotte da Amiodarone, utilizzando tale test come marker diagnostico e predittivo della Tireotossicosi di tipo II. L'Amiodarone è un benzofurano contenente il 37% di Iodio e come tale può essere causa di Tireotossicosi.

*Materiali e metodi*

Sono stati analizzati 381 pazienti con diverse patologie tiroidee, arruolati secondo i seguenti criteri: età tra i 18 e 80 anni, sesso M/F, assenza di malattie sistemiche attive.
I gruppi di studio sono stati così suddivisi:

| GRUPPI | TOTALE PAZIENTI | PAZIENTI CON VALORE DI CRP>5mg/L (VALORI INDIVIDUALI) |
|---|---|---|
| Controllo | 92 | 9 (9.3; 26.3; 16.3; 5.4; 7.3; 8; 8.7; 8.5; 10;10.9; 12.9) |
| Patologie tiroidee varie | 218 | 34 (5.9; 6.2; 5.1; 6.5; 8; 7; 8.5; 5.5; 6.2; 9.1; 6.2; 5.6; 10; 8.5; 6.6; 8.3; 9.1; 5.7; 5.7; 16.4; 12.8; 9; 13.7; 7.9; 5.6; 5.2; 18.8; 8.6; 31.4; 8.4; 50.1; 69; 75; 82) |
| Amiodarone: eutiroidei | 7 | 2 (7; 45.6) |
| AIT tipo I | 31 | 10 (9.4;5.6; 7.1; 8.3; 23; 60; 11; 25.1;36.8; 90.5) |
| AIT tipo II | 33 | 9 (5.9; 15.9; 6.5; 6.1; 8.7; 20.6; 74;91.2; 7.3) |

La hs-CRP è stata determinata nel siero con tecnica immunonefelometrica (DADE-BEHRING). L'intervallo di riferimento per i soggetti sani è di 0-5 mg/L.

*Risultati*

- Dei 92 soggetti normali usati come controllo, 9 avevano nel siero livelli di hs-CRP >5 mg/L.
- Dei 218 pazienti con varie patologie tiroidee, 34 avevano livelli sierici di hs-CRP >5 mg/L.
- Dei 7 pazienti eutiroidei trattati con Amiodarone, 2 avevano livelli di hs-CRP > 5 mg/L.
- Dei 31 pazienti con AIT tipo I, 10 avevano livelli di hs-CRP >5 mg/L.
- Dei 33 pazienti con AIT tipo II, 9 avevano livelli di hs-CRP > 5mg/L.

*Discussione e Conclusioni*

La presenza di valori di hs-CRP > 5 mg/L nei 218 pazienti con diverse patologie tiroidee, non differisce significativamente dalla popolazione di riferimento (p=0.39); la presenza hs-CRP nelle 2 popolazioni AIT differisce significativamente dalla popolazione di controllo (p=0.016) ma non significativamente tra di loro (p=0.51).

*Bibliografia*

- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing typr 2 diabetes mellitus. JAMA 2001: 286: 327-334.

**G-13**

## LIMITI DECISIONALI PER LA TROPONINA I E PRECISIONE ANALITICA SU ADVIA CENTAUR

Antonio Fortunato, Davide Giavarina, Giuliano Soffiati
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia – Ospedale "San Bortolo" Vicenza

**Introduzione** - Le recenti linee guida per la diagnosi di infarto della Joint European Society of Cardiology e dell'American College of Cardiology hanno riconosciuto il ruolo principale della troponina cardiaca (cTn) I o T come marcatore di danno miocardico. In un quadro clinico ischemico, tutti gli aumenti di cTn sono segnali di infarto del miocardio e derivano da un danno irreversibile. Il valore soglia decisionale deve essere posto in modo che i soggetti "normali" non abbiano valori rilevabili di cTn. Il 99° percentile di questa popolazione è scelto come soglia, purchè a quel livello si abbia un CV analitico inferiore al 10%. Recentemente è stato ipotizzato che non siano disponibili attualmente dei metodi commerciali che raggiungano questo obiettivo (J Am Coll Cardiol 2000;36:959-69).

**Materiali e metodi** - Poiché nel nostro laboratorio stiamo introducendo l'utilizzo del sistema ADVIA Centaur (Bayer, Tarrytown USA) per queste determinazioni, presentiamo i nostri dati per il calcolo del limite decisionale ed un'analisi di precisione analitica a concentrazioni prossime a tale limite. Accogliendo l'indicazione che, per superare le possibili interferenze da fibrina, è raccomandato l'uso di plasma, si è considerato solamente questo tipo di campione. Sono stati esaminati 120 campioni di plasma, di soggetti adulti (40-70 anni) 50% maschi, 100% caucasici, senza alcuna sintomatologia ischemica attuale o pregressa. Al fine di garantire la riservatezza, dopo la selezione, i campioni sono stati resi anonimi. I campioni sono stati raccolti, centrifugati ed analizzati tutti nello stesso giorno, su un unico analizzatore, secondo la metodica descritta da Armstrong (Clin Chem 2002;48:198-9). La precisione analitica è stata valutata su 10 replicati per 21 campioni, a concentrazioni decrescenti, ottenuti mediante diluizione con un pool di plasma negativo di un campione positivo. I 10 replicati di ciascun campione sono stati determinati nella stessa seduta analitica ed i 21 campioni distribuiti in 2 giorni consecutivi. Calibratori e controlli sono stati analizzati secondo quanto raccomandato nelle specifiche del produttore. Oltre ai CV relativi alle concentrazioni di troponina, sono stati calcolati anche i CV del segnale analitico espresso come Unità Relative di Luminescenza (RLU).

**Risultati** - La concentrazione media di cTn misurata è di 0,02 μg/L, la mediana di 0,00 μg/L e l'intervallo di concentrazioni 0,00 – 0,31 μg/L, il 99° percentile è risultato 0,17 μg/L. I nostri dati concordano con quelli di Armstrong e collaboratori in modo quasi perfetto ed impressionante, per quanto riguarda il limite decisionale, intervallo ed indici di centralità. Lo studio della precisione analitica conduce invece a risultati diversi. Il CV riscontrato per il livello di concentrazione corrispondente al 99° percentile (0,17 μg/L) è pari al 10%. Un valore di CV di 24% è stato riscontrato solo per una concentrazione pari a 0,08 μg/L. In realtà, a livelli di concentrazioni molto basse, anche minime variazioni, non significative clinicamente, possono produrre CV molto elevati. Se, ad esempio, si analizzano i risultati di uno dei campioni a concentrazione molto bassa (media 0,005 μg/L e DS 0,006) si ottiene un CV pari a 139%. Lo studio della variabilità del segnale analitico assume notevole importanza in questi casi. Infatti, la precisione del segnale analitico a concentrazioni molto basse, garantisce la precisione del metodo nel riconoscere minime variazioni con significato clinico. Analogamente a quanto avviene per i metodi ad elevata sensibilità per la determinazione di TSH ed PSA totale è utile definire la sensibilità funzionale. L'analisi della variazione del segnale analitico, espresso in RLU, mostra CV inferiori al 6% anche a concentrazioni pari a 0,000 μg/L (al terzo decimale).

**Conclusioni** - In accordo con Armstrong e collaboratori, i nostri dati mostrano che un limite superiore pari a 0,17 μg/L, corrispondente al 99° percentile della popolazione di riferimento, è appropriato per la definizione di danno miocardico, ma anche che la precisione analitica a questo livello rispetta quanto previsto dalle attuali linee guida. L'esame della variazione degli RLU per livelli di concentrazione inferiori a 0,17 μg/L dimostra inoltre una qualità analitica del metodo in valutazione in grado di garantire l'accuratezza del risultato anche per concentrazioni prossime allo zero.

**G-14**

## GENOTIPO DI IL1RN E PARAMETRI BIOCHIMICI NELL'ANGINA INSTABILE

**N. Covini , G. Re , L. Filippini , *C. Inserra , M. Lotzniker**
U.O Laboratorio Analisi e * U.O Cardiologia, A.O."Ospedale Civile di Legnano"

***Scopo del lavoro***

Nell'ambito delle patologie coronariche acute l'angina instabile-infarto non Q costitusce un gruppo di particolare interesse diagnostico-prognostico. Poiché anche in questo gruppo è ormai consolidata l'importanza della risposta infiammatoria locale/sistemica per la stratificazione del rischio è stato approntato uno studio del polimorfismo del gene IL1RN (che controlla sia la produzione di IL1 che l'espressione dell'antagonosta recettoriale di IL1) unitamente a parametri biochimici di utilizzo routinario quali PCR e Troponina o recentemente proposti come di possibile interesse quali NT-pro BNP.

***Materiali e Metodi***

Casistica: 74 pazienti con angina instabile (AI) arruolati con specifico protocollo di selezione e monitoraggio in cui sono stati valutati sia il polimorfismo genico che PCR, Troponina e NT-pro BNP, 60 pazienti con IMA e 66 donatori in cui è stato valutato solo il polimorfismo di IL1RN come popolazione di riferimento.

Caratterizzazione del genotipo IL1RN: amplificazione genica usando primers immediatamente fiancheggianti la regione polimorfica e analisi degli amplificati mediante elettroforesi su gel di agarosio al 2% e colorazione con etidio bromuro.

Parametri biochimici: Troponina I/T(tecnica FIA e ECLIA) valutate all'ingresso e a 8 ore, PCR ultrasensibile (nefelometria) e NT-proBNP (ECLIA) determinate solo all'ingresso.

***Risultati***

Polimorfismo del gene IL1RN: frequenze alleliche riscontrate (%)

| | AI | IMA | Donatori |
|---|---|---|---|
| Allele 1 | 89.18 | 88.33 | 87.12 |
| Allele 2 | 6.08 | 8.33 | 7.57 |
| Allele 3 | 3.37 | 2.5 | 4.54 |
| Allele 4 | 1.35 | / | 0.75 |
| Allele 5 | / | 0.83 | / |

Parametri biochimici : non si è osservata correlazione tra i parametri esaminati.

Troponina: positività del 54% all'ingresso e del 73.5% a 8 ore. PCR: positività all'ingresso del 61.6% (36.7% nell'ambito 3-10 mg/l e 26% con valori > di 10). NT-proBNP: positività all'ingresso 61.7% (36.7 nell'ambito fino a 1000 pg/ml e 25% con valori > 1000) con differenza significativa tra i pazienti con interessamento mono o plurivasale.

***Discussione e conclusioni***

La distribuzione polimorfica di IL1RN si è dimostrata differente da quella descritta in letteratura con inferiore incidenza globale dello stato di portatore dell'allele 2, indicato come possibile responsabile di una risposta infiammatoria amplificata: pertanto il genotipo non ci sembra possa costituire una reale discriminante. In AI i dati ottenuti mediante Troponina e PCR sono allineati con i riscontri della letteratura mentre la frequente positività di NT-proBNP anche in rapporto all'interessamento plurivasale ci induce a ritenere che tale parametro possa costituire una nuova finestra di osservazione con differenti implicazioni prognostiche.

Si ringrazia la FONDAZIONE POLIZZOTTO per aver reso possibile la realizzazione dello studio

G-15

# IMPLICAZIONI LABORATORISTICHE E CLINICHE DELLA RIDEFINIZIONE DI INFARTO DEL MIOCARDIO

D. Rubin, P. Cappelletti, M. Cassin*, F. Macor*, GL Nicolosi*
Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, * Unità Operativa di Cardiologia, Dipartimento di Emergenza; Azienda Ospedaliera "S. Maria degli Angeli" Pordenone

La ridefinizione di infarto del miocardio (IM) secondo ESC/ACC (1) sta determinando importanti conseguenze nella pratica di laboratorio e clinica. Il laboratorio è stato chiamato a mettere a punto metodi e livelli decisionali (LD) secondo specifiche di qualità condivise (2), mentre nella pratica clinica la nuova definizione ha determinato conseguenze epidemiologiche, terapeutiche e gestionali non ancora completamente valutate.
Abbiamo, pertanto, voluto esaminare le implicazioni nella pratica laboratoristica e clinica dell'introduzione della nuova definizione di IM nella nostra Azienda.

LD di Troponina I (cTnI) (RxL DADE Behring) per IM è stato definito con l'esame del 99° percentile di una popolazione sana (n. 102), della curva ROC per la separazione tra pazienti negativi e con Sindrome coranarica acuta (SCA) (n.230) afferenti al Dipartimento di Emergenza con dolore toracico acuto non traumatico, e della curva di imprecisione. LD IM prescelto è stato 0.13 ng/ml.
Per valutare le implicazioni cliniche sono stati rivalutati i dati dei pazienti ricoverati per SCA dell'anno 2000.
359 pazienti soddisfacevano il vecchio criterio per IM (criteri OMS con CK-MB > 5 ng/ml) (gruppo 1), mentre 125 soddisfacevano i nuovi criteri (LD cTnI 0.13 ng/ml) (gruppo 2), con un incremento del 35%. Comparato con il gruppo 1, i pazienti del gruppo 2 hanno simile distribuzione di età e sesso, una degenza ospedaliera più corta (5.4 vs 7.2 giorni, $p < 0.001$), furono sottoposti a maggior numero di coronarografie ( 53% vs 40%, $p < 0.05$) e ad un minor numero di test da sforzo (45% vs 83%, $p < 0.001$); il tasso di rivascolarizzazione ad 1 mese fu simile, mentre la mortalità intraospedaliera fu molto inferiore (7.8% vs 0.8%. $p < 0.001$).
Sotto il profilo economico, calcolando i valori tariffali attuali dei DRGs correlati alla SCA, è stato stimato un incremento di rimborso di ca.150.000 euro .

La ridefinizione di IM impone al Laboratorio una attenta valutazione del metodo e, in accordo con il cardiologo, del LD da utilizzare. Sotto il profilo clinico l'aumento della diagnosi di IM (+ 35%) comporta un incremento della stima di costo (+ 30%) e una strategia clinica differenziata per i test strumentali di conferma e le caratteristiche della degenza. Sono necessari studi prospettici per valutare l'outcome a lungo termine e le conseguenze epidemiologiche, sociali e psicologiche legate all'incremento di diagnosi di IM.

1) A consensus document of the Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the Redifinition of Mycardial Infarction. J Am Coll Cardiol 2000;36:959-69.
2) Jaffe AS, Ravkilde J, Galvani M et al. It's time for a change to a troponin standard. Circulation 2000;102:1216-20.

**G-16**

## SU DI UN CASO DI "IPERPROLATTINEMIA" DA MACROPROLATTINA

**Pellegrini PG., Alchini S., Costantini R., Papa N., Bertiato G.**
*Laboratorio Analisi, Ospedale "San Martino", ULSS n. 1, Belluno*

La prolattina umana (PRL), ormone pituitario secreto sotto il controllo dell'ipotalamo, è presente nel siero per la maggior parte sotto forma di monomero non glicosilato. Può essere presente anche in forma glicosilata di dimero e trimetro ("big prolactin") o occasionalmente in forma di complessi macromolecolari (macroprolattina o "big, big prolactin"), fisiologicamente poco attiva, ritenuta prolattina coniugata con immunoglobuline. Valori elevati di prolattina vengono correlati con la presenza di tumori ipofisari, patologie funzionali ed organiche dell'ipotalamo, ipotiroidismo, insufficienza renale e tumori ectopici.

**Caso clinico.** Nel corso del 2001-02 una donna di quaranta anni si è rivolta al nostro laboratorio per dosaggio della prolattina con risultati nell'ambito dei valori normali. Nel giugno del 2002 la paziente ci comunicò che valori di prolattina superiori alla norma erano stati riscontrati su prelievi effettuati nello stesso periodo presso strutture di laboratorio che utilizzavano altre metodologie diagnostiche. La paziente, in trattamento per gozzo non tossico, veniva ospedalizzata e dimessa con diagnosi di tireopatia e di microadenoma dell'ipofisi PRL-secernente, peraltro asintomatico.

**Materiali e metodi.** Il nostro Laboratorio esegue queste determinazioni sullo strumento Access della ditta Beckman con un'analisi immunoenzimatica sandwich, nella quale la prolattina si lega all'anticorpo monoclonale anti-PRL adeso a delle particelle paramagnetiche alle quali si complessa anche un coniugato fosfatasi alcalina-anticorpi policlonali di capra anti-prolattina. La produzione di fotoni generata dall'aggiunta di un substrato chemiluminescente viene misurata da un luminometro ed è proporzionale alla quantità di coniugato che resta legato al supporto solido dopo una separazione in campo magnetico e un lavaggio che rimuovono le sostanze non legate alla fase solida.

**Risultati.** Il dosaggio della prolattina è stato ripetuto su un ulteriore campione della paziente, con e senza trattamento con PEG, sia su Access che sugli altri strumenti interessati. Per le prove effettuate, abbiamo motivo di ritenere che i valori rientranti nei limiti di normalità da noi riscontrati fossero corretti e dovuti a forme di prolattina bioattiva, e che il riscontro di iperprolattinemia su altri strumenti fosse attribuibile alla presenza di macroprolattina; il valore della prolattina, infatti, dopo precipitazione con polietilenglicole (PEG), risultava inferiore al 30% del valore ottenuto sul campione non trattato (*Vieira, Clin Chem 44, 8, 1998*)

**Discussione e conclusioni.** Diversi Autori hanno segnalato che la macroprolattina, dotata di minima bioattività in vivo, è una causa comune di apparente iperprolattinemia. Una iperprolattinemia attribuibile a macroprolattinemia, pertanto, può causare confusione diagnostica e portare a trattamenti inappropriati.
Secondo recenti segnalazioni alcuni metodi immunoenzimatici nel determinare la prolattina reagiscono con la macroprolattina. Nella valutazione delle iperprolattinemie deve essere tenuto conto che nel 15-17% dei pazienti gli incrementi del valore sono dovuti a presenza di macroprolattina.
E' perciò importante che i laboratori che eseguono il dosaggio della prolattina caratterizzino tutte le risposte di iperprolattinemia riportando il risultato della ricerca della macroprolattina, come già suggerito da Lindstedt (*Eur J Endocrinol, 130, 1994*).

G-17

**Interferenza della macroprolattina nel dosaggio immunometrico della prolattina**

V. Marre', A. Cella, C. Giovannacci, R. Tronci, S. Sardi, G. Devoto.
Laboratorio Analisi Ospedale Lavagna, ASL 4 Chiavarese (GE).

*Scopo del Lavoro*
Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione della frequenza di campioni con sospetta macroprolattinemia, in pazienti ambulatoriali non selezionati, con concentrazioni seriche elevate di prolattina.

*Materiali e Metodi*
Sono stati studiati 35 con concentrazioni elevate di prolattina e 5 con normoprolattinemia per valutare l'impatto su questi ultimi del trattamento con PEG. La determinazione della prolattina è stata eseguita su analizzatore AIA 21 (TOSHOH) e, per conferma, con metodo R.I.A.(DPC). Tutti i campioni sono stati trattati con PEG per evidenziare la presenza di forme macromolecolari di prolattina, secondo la metodica consolidata (1), e abbiamo ripetuto i dosaggi solamente con il metodo immunometrico. Abbiamo considerato come cutt-off un recupero < al 50% quali indice di sospetta presenza di macroprolattina (2).

*Risultati*
I risultati ottenuti riportati in tabella sono i seguenti:

1) la correlazione fra i due metodi è risultata soddisfacente (r= 0.958), con una corretta classificazione dei pazienti in base alle concentrazioni di prolattina, nonostante differenze significative nei valori medi (82.2 vs 56.2; p<0,001)
2) nei 35 campioni iperprolattinemici abbiamo ottenuto dopo trattamento con PEG una normalizzazione delle concentrazioni seriche in 13 (37,5%) e un recupero <50% . in 9 (25.7%)
3) Nei 5 campioni normali, le concentrazioni di prolattina non hanno risentito del trattamento con il PEG.

Tabella

| Campioni | Valore Medio AIA | Valore Medio AIA dopo PEG | Recupero medio |
|---|---|---|---|
| Normali (5) | 12.2 | 10.8 | 89.5% |
| Patologici (35) | 82.2 | 52.3 | 68.5% |
| Patologici >50% (26) | 76.8 | 63.5 | 83.3% |
| Patologico<50% (9) | 97.9 | 19.9 | 25.7% |

*Discussione e Conclusioni*
I nostri dati confermano che i metodi immunometrici risentono della presenza di forme macromolecolari di prolattina, causando una misclassificazione nel 26% dei pazienti.
Questo comporta inevitabilmente che tutti i campioni con concentrazioni elevate di prolattina debbono essere ritestati dopo trattamento con PEG.
Riamane il problema della gestione clinica dei Pazienti, N°4 nella nostra casistica, dove non si ha un recupero <50% dopo trattamento con PEG, ma le concentrazioni plasmatiche di prolattina rientrano ampiamente nel range di normalità.

1) Vieira JGH.; et al. Clin. Chem 1998; 44,8:1758-1759
2) Gilson G.; et al. Clin. Chem. 2001;47,2:331-333.

**G-18**

## URINE MYOGLOBIN MEASUREMENTS IN PATIENTS WITH SKELETAL MUSCLE INJURY

A. Anesi[a], C. Fontanella[a], D. Baroni[a] and F. Pavesi[a]
[a]Struttura Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera della Provincia di Lodi, Lodi

***Background and objective:*** High myoglobin concentrations are implicated as a cause of acute renal failure in patients with skeletal muscles injuries. The underlying pathogenesis is still largely unknown. Prophylactic treatment of patients with myoglobinuria with mannitol and sodium bicarbonate reduces the prevalence of renal damage, presumably by minimizing precipitation of myoglobin. Immunoassays are currently available for the quantitative measurements of myoglobin in serum, but seldom are approved for use with urine. We report here the use of a serum assay for urine, and describe the clinical application of serum and urine myoglobin measurements in patients with skeletal muscle injury.
**Subjects:** We obtained serum and urine specimens from 36 patients who were admitted to the Intensive Care Unit for trauma from car accidents and from 15 apparently healthy subjects. ***Methods:*** We evaluated the myoglobin one-step enzyme immunoassay for Dimension RxL system (Dade Behring). We followed the manufacturers' recomandations for the serum assays with no modifications for urine. Serum and urine creatinine, and serum CK, were measured on a Synchron CX system (Beckman). Urine pH was measured with pH paper (Merck). Precision studies were performed using patients' pooled urine samples with pH values adjusted between 8,0 to 9,0. Within run CVs were calculated from 5 determinations and between run CVs from duplicates assayed over 3 days. For linearity we diluted a specimen with a high myoglobin concentration (15220 ng/mL) from 2 to 1024-fold with a urine sample not containing myoglobin. The recovery of myoglobin from urine was assessed by supplementation studies. A urine sample containing a trace amount was diluted with a serum sample containing 3400 ng/mL myoglobin. The dilution factors varied from 0,0 to 0,5. Hemoglobin interference was determined adding to a urine sample containing myoglobin increasing concentrations of hemoglobin from a hemolysate. To determine myoglobin stability in urine we aliquoted freshly collected urine specimens with different native pH (5-8) and stored them at room temperature and at 4°C. Aliquots of each sample were also adjusted to a pH between 8,0 and 9,0 with 0,1 mol/L NaOH before storage. Myoglobin concentrations were measured at 6, 12 and 24 hours after collection. ***Results. Analytical Study.*** The within-run CVs for urine were 8,5 and 10,5 and the day to day CVs were 10,7 and 12,2 for urine myoglobin concentrations of 490 and 2750, respectively. The linear regression curve of plotted observed vs expected myoglobin concentrations was $y = 2,38 + 0,94x$ ($r = 0,998$). These results indicate that the linearity of the assay in urine is valid to the manufacturer's specification for serum (1050 ng/mL) but also to a urine myoglobin content up to 15-fold higher. The recovery of myoglobin from urine was 85-107%. These results are within the precision for urine assay. We detected no significant difference in myoglobin concentration when urine was supplemented with up to 0,15 g/dL hemoglobin. Samples with native pH > 6,0 or adjusted to between 8,0 and 9,0 exibited good stability for at least 24 hours when stored at room temperature or refrigerated at 4°C, whilst an urine sample at pH 5,0 degraded within a few hours, even when stored at 4°C.**Clinical Study:** In normal urine, we determined a reference range of 0-15 μg myoglobin/g creatinin. The summary of median and range laboratory results in trauma patients are summarized below:

| Group | myoglobin, ng/mL | | Ur. myo, | clearance, mL/min | | Ser. crea, | CK, IU/L | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | urine | serum | μg/g crea | myo | crea | mg/dL | | |
| Injuried | 317 | 282 | 601 | 2,73 | 50,79 | 1 | 408 | 7,2 |
| | 28-19172 | 47-5998 | 22-30431 | 0,008-25 | 2,11-233 | 0,66-7,77 | 31-15151 | 5,2-8 |

Myoglobin concentrations in urine showed a poor correlation with serum CK and myoglobin values ($r = 0,29$ and 0,33, respectively). Better correlation was seen with myoglobin clearance values and clinical outcome for acute renal failure.
**Conclusion:** Myoglobin serum immunoassay for Dimension RxL offers a reliable quantitative determination of urine myoglobin levels and may be used as a tool in skeletal muscle injuried patients to determine the success of therapy in removing myoglobin. If specimens are not assayed on a stat basis or on a sample obtained from a 24-hours urine collection, accurate analysis requires alkalinization of urine.

**G-19**

## Rabdomiolisi da distress respiratorio. Caso clinico

O. Radillo, G. Tamaro, T. Vidali, °G. Sternissa, S. Parco

U.O. Laboratorio ricerche cliniche. °U.O. Servizio di Anestesia e rianimazione. IRCCS Burlo Garofolo, Trieste.

*Scopo del lavoro*

Scopo del nostro lavoro è la descrizione di un caso clinico in cui sono state studiate le isoforme della CPK e della LDH per discriminare la patogenesi di un distress respiratorio *Descrizione*

Giovane paziente di 16 anni, giunta all'osservazione del Pronto soccorso del nostro Istituto e ricoverata d'urgenza per crisi dispnoica acuta, dolore toracico ed anamnesi positiva per atopia ed asma. Trasferita al reparto di Anestesia e rianimazione dopo 24 ore, in considerazione dell'aggravarsi delle condizioni cliniche e la scarsa risposta alla terapia broncodilatativa, presenta una Proteina C reattiva positiva ed un elettrocardiogramma con tachicardia sinusale, suggestivi di un sospetto di miocardite acuta in crisi d'asma. Continua la terapia con teofillinici, cortisonici e beta 2 stimolanti ed inizia terapia antibiotica. Continua tachicardia sinusale (150 bpm) con alterazioni del ritmo e della ripolarizzazione. Vengono eseguiti emogasanalisi ed indagini delle isoforme della CPK e della LDH:

| | 1° giorno | 2° giorno | 3° giorno |
|---|---|---|---|
| pH | 7.39 | 7.42 | 7.42 |
| pO2 | 88 | 72 | 54 |
| pCO2 | 39.1 | 40.6 | 47 |
| AST | 82(U/L) | 84(U/L) | |
| ALT | 41 | 44 | |
| CPK | 1.519(U/L) | 2028 | 1857 |
| CK-MB% | | 1.8 | 1.4 |
| CK-MM% | | 97.4 | 97.5 |
| CK-BB% | | 0.8 | 1.1 |
| LDH | 641(U/L) | 849 | 905 |
| LDH1% | | 20.7 | 22.5 |
| LDH2% | | 20.7 | 22.5 |
| LDH3% | | 21.8 | 20.6 |
| LDH4% | | 11.3 | 10.2 |
| LDH5% | | 17.4 | 16.6 |

La determinazione degli isoenzimi è stata fatta su REP (Helena), l'emogasanalisi con l'ANL505 (Radiometer), gli enzimi con il Cobas Integra Roche.

*Discussione e conclusioni*

Il quadro sierologico permette di poter affermare che la paziente ha sofferto di una rabdomiolisi muscolo scheletrica (CK-MM 97.4%, LDH4>9%, AST 82 U/L), somma degli effetti del distress respiratorio, dell'azione tossica dei farmaci e della tachicardia sinusale indotta da teofillinici. Non è stato convalidato il sospetto diagnostico di miocardite (CK-MB 1.8%, LDH1 20.7%, LDH2 28.89%) in soggetto con crisi d'asma atopica. La paziente viene dimessa dopo 10 giorni con diagnosi di bronchiolite obliterante.

G-20

# UTILITA' DEL TEST PER PESI MOLECOLARI IN SDS-AGAROSIO PER LA VALUTAZIONE DELLA PERDITA PROTEICA GIORNALIERA CON LE SOLUZIONI PER DIALISI PERITONEALE: UN CONFRONTO TRA DUE DIVERSE METODICHE DIALITICHE (CAPD vs APD)

D.Innocenti*, A.Ciapini*, G.M. Caselli **, A. Mannarino **, G. Spatoliatore **, PL Tosi **, L.Doni *

*U.O. Diagnostica di Laboratorio Osp.Nuovo S.Giovanni di Dio - Firenze- ** U.O. Nefrologia e Dialisi Osp.Nuovo S.Giovanni di Dio – Firenze

***Scopo del lavoro***

Scopo del presente lavoro è quello di valutare l'influenza di due differenti metodiche dialitiche peritoneali (CAPD e APD) sulla la rimozione proteica giornaliera attraverso l'analisi qualitativa delle diverse proteine presenti nel dialisato utilizzando un test con separazione delle proteine per peso molecolare.

***Materiali e Metodi***

Lo studio è stato condotto sul dialisato giornaliero di 15 pazienti (12 maschi; 3 femmine)in trattamento dialitico peritoneale. 5 soggetti (Gruppo A) utilizzavano una metodica automatizzata (APD) e 10 soggetti (Gruppo B) una metodica ambulatoriale continua con 4 scambi giornalieri (CAPD ). Per lo studio è stato utilizzato il Kit proteinurie della Sebia con il quale le proteine vengono convertite in complessi proteine\SDS che assumono la stessa conformazione e carica elettrica per unità di massa; la successiva migrazione su supporto agarosio ad effetto setaccio, consente la separazione in base al peso molecolare.Le singole proteine sono state identificate in riferimento ad uno standard di "massa molecolare"e le relative quantificazioni sono state eseguite con lettura scanner-densitometrica (sistema Phoresis Sebia) e valutate in gr/die ed in percentuale rispetto alla perdita proteica totale.

***Risultati***

***Elettroforesi per peso molecolare: proteine specifiche con PM> Albumina (66/971 KD)***

| | Albumina | Trf | IgG | IgA | Hpt | IgM+α2M | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gruppo A | 5.74±2.6 | 0.448±0.3 | 0.914±0.45 | 0.564±0.40 | 0.42±0.39 | 0.284±0.17 | g/die |
| | 65.6 | 5.1 | 10.5 | 6.5 | 4.8 | 3.3 | % |
| Gruppo B | 8.012±4.13 | 0.695±0.47 | 1.181±0.75 | 0.7±0.57 | 0.765±0.49 | 0.667±0.70 | g/die |
| | 64.1 | 5.6 | 9.4 | 5.6 | 6.1 | 5.3 | % |

***Elettroforesi per peso molecolare: proteine specifiche con PM< Albumina (15/66 KD)***

| | Lisozima | RBP | α-1 mic. | Dim K\L | Perdita proteica totale | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Gruppo A | 0.138±0.15 | 0.03±0.02 | 0.086±0.12 | 0.13±0.15 | 8.75 ± 4.26 | g/die |
| | 1.6 | 0.1 | 1.0 | 1.5 | | % |
| Gruppo B | 0.139±0.11 | 0.07±0.05 | 0.141±0.09 | 0.129±0.10 | 12.50 ± 6.83 | g/die |
| | 1.1 | 0.6 | 1.1 | 1.1 | | % |

***Discussione e Conclusioni***

I risultati sembrano mostrare una maggior perdita proteica in CAPD in termini quantitativi per singola proteina rispetto alla metodica automatizzata; tuttavia l'analisi percentuale della rimozione dialitica per singola proteina non evidenzia alcuna differenza significativa tra le metodiche esaminate. Ciò potrebbe deporre per la scarsa rilevanza dei processi convettivo/diffusivi sul passaggio di molecole proteiche di diverso peso molecolare attraverso la membrana peritoneale.

Il metodo per pesi molecolari in SDS-agarosio, di facile impiego ed economicità, appare pertanto utile nel fornire informazioni sulle caratteristiche di selettività della membrana peritoneale, soggetta ad un'estrema variabilità individuale, e rivelarsi quindi vantaggioso anche nel follow up del paziente in dialisi peritoneale.

**G-21**

## CALCOLO DELLA MEDIANA DELLA CONCENTRAZIONE DI PAPP-A E DI CATENA LIBERA BETA DELLA HCG USANDO L'ANALIZZATORE AUTOMATICO KRYPTOR

A.Ferrari[a], V.Tinelli[b], R.Zanarotti[b], N.Melloni[a] R.M.Dorizzi[a] P.Rizzotti[a]

[a]Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, bUnità Operativa Complessa di Ostetricia e Ginecologia, Azienda Ospedaliera di Verona, Verona;

*Scopo del Lavoro*

L'esecuzione simultanea della misurazione della concentrazione della Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A), prodotta dal trofoblasto placentare [ridotta in modo significativo (MOM = 0.44) nelle donne con gravidanza Down o trisomia 18], e della subunità beta dell'HCG, glicoproteina prodotta dalla placenta [aumentata in modo significativo nelle donne con gravidanze Down] e della translucenza nucale, spazio libero di eco tra la pelle e il tessuto molle sovrastante la colonna spinale presente solo nel primo trimestre di gravidanza, costituiscono la base del "Duo-test". Questo esame combinato presenta un Initial Positive Rate e un Detection Rate per trisomia 21 rispettivamente del 4% e del 91%. Lo scopo del nostro lavoro è verificare se la mediana della concentrazione di PAPP-A e di FBHCG calcolata nel nostro laboratorio è comparabile con quella ottenuta presso il Fetal Medicine Foundation di Londra.

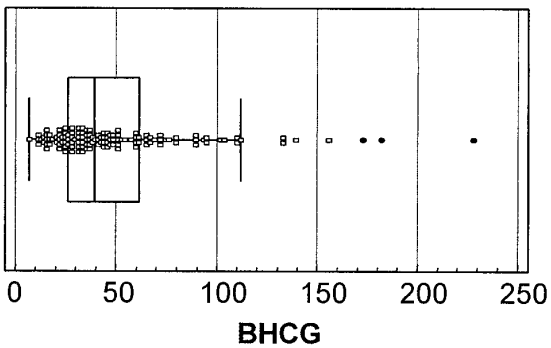
*Materiali e Metodi*

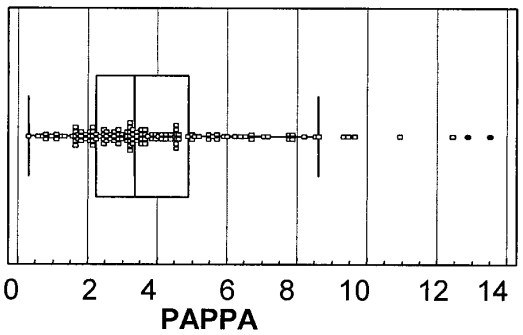
La concentrazione di PAPP-A e di FBHCG è stata misurata in 130 donne alla 12 settimana di gravidanza impiegando reagenti e strumentazione forniti dalla dita Brahms (Henningsdorf, Germany) usati secondo le raccomandazioni del produttore.

*Risultati*

La mediana della concentrazione di FBHCG è risultata 39.27 KU/L 1st IRP WHO 75/551 (Intervallo di confidenza al 95% 34.79-45.99 KU/L) mentre quella del PAPP-A dei risultati è risultata 3.34 KU/L (Intervallo di confidenza al 95 3.14-3.70 KU/L).

La figura mostra il Box plot della concentrazione di FBHCG e PAPP-A




*Discussione e conclusioni*

La concentrazione ottenuta nel nostro laboratorio e nella popolazione afferente a questo è risultata comparabile a quella ottenuta presso il Fetal Medicine Foundation. Infatti nella 12 settimana di gravidanza la concentrazione mediana di PAPP-A misurata in questo Centro di riferimento nei giorni di gestazione 84-90 è stata compresa a 2.61 a 3.87 KU/L e quella del FBHCG da 39.3 a 31.62 KU/L.

**G-22**

## DEFINIZIONE DEL CUT-OFF PER GLI ANTICORPI ANTI PEROSSIDASI TIROIDEA USANDO IL SISTEMA ADVIA CENTAUR (BAYER)

R.M.Dorizzi, Filippini M, Meneghelli S, M.Marin, A.Ferrari, I.Battilotti, P.Rizzotti

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

*Scopo del Lavoro*

La commercializzazione del metodo per la determinazione di anticorpi anti Perossidasi Tiroidea (TPO) per il sistema Advia Centaur è stato preceduta da una valutazione del metodo che ha riguardato tutti i classici parametri tra cui sensibilità analitica e funzionale, precisione e confrontabilità con il metodo manuale, specificità e studio delle interferenze. Il valore di cut-off stimato sullo studio di 254 soggetti eutiroidei e 183 soggetti affetti da malattia di Hashimoto è risultato di 60 KU/L Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di determinare il cut-off ottimale nella nostra popolazion

*Materiali e metodi*

La concentrazione di TPO è stata misurata in 133 soggetti eutiroidei e 33 soggetti affetti da malattia di Hashimoto. I campioni sono stati congelati a – 40 ° C fino all'esecuzione delle determinazioni. E' stata calcolata la curva ROC dei risultati e sono stati calcolati quoziente di probabilità positivo e nagativo e predittività positiva e negativa alla concentrazione di 60, 150 e 200 KU/L considerando una prevalenza della malatti di Hashimoto del'1, del 10 e del 50%

*Risultati*

Nella Tabella sono riportatati Quoziente di probabilità positivo (LR+) e Negativo (LR-), Valore Predittivo positivo alla Prevalenza dell'1% (PPV1), del 10% (PPV10) e 50% (PPV50), Valore Predittivo Negativo alla Prevalenza dell'1% (PPN1), del 10% (PPN10) e 50% (PPN50).

| TPO (KU/L) | LR+ | LR- | PPV1% | PV10% | PPV50% | PPN1% | PN10% | PPN50% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 58.2 | 10.91 | 0.19 | 9.9 | 54.8 | 91.8 | 99.8 | 97.9 | 85.7 |
| 156.3 | 12.79 | 0.24 | 11.4 | 58.7 | 92.7 | 99.8 | 97.3 | 80.3 |
| 208 | 17.05 | 0.24 | 14.7 | 65.5 | 94.5 | 99.8 | 97.1 | 80 |

*Discussione e conclusioni*

Sulla base dei risultati ottenuti si è adottata una modalità dei refertazione degli Anticorpi anti-TPO che prevede una area grigia compresa tra il cut-off di 60 KU/L e di 200 KU/L. La predittività di una concentrazione di 60 KU/L appare infatti, a nostro avviso, insufficiente per l'uso clinico dell'esame.

**G-23**

**Bassi livelli di trigliceridi possono influenzare il calcolo LDL-Colesterolo con la formula di Friedwald? Dati preliminari.**

**Guglielmo Carlizzi - Laboratorio Centrale di Patologia Clinica, PoliclinicoUmberto I, Roma**

**INTRODUZIONE**

L'iperlipidemia è causa di aterosclerosi e di aumentato rischio di malattie coronariche. I lipidi ematici quali il colesterolo totale,le lipoproteine ad alta densità (HDL), i trigliceridi e soprattutto le lipoproteine a bassa densità (LDL),rappresentano un sempre più importante elemento di giudizio nella diagnosi e nella terapia della coronaropatia e delle malattie ad essa correlata.

Correntemente la maggioranza dei laboratori clinici usa la formula di Friedwald per calcolare i valori delle LDL-colesterolo: la stima è sufficientemente affidabile in presenza di valori di trigliceridi > 400 mg/dl ma non è chiaro se tale formula è ancora valida in presenza di bassi valori di trigliceridi ed alti valori di colesterolo.

**MATERIALI E METODI**

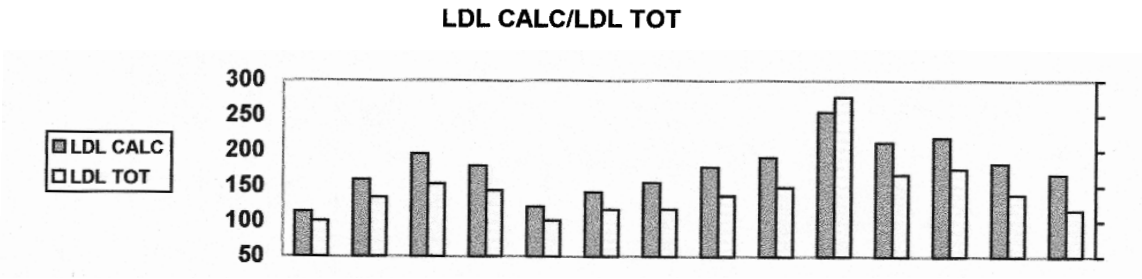
Sono stati presi in considerazione 8 campioni di siero di donatori di sangue presumibilmente non sottoposti ad alcuna terapia, e 6 di siero di pazienti provenienti dai reparti e dai servizi di preospedalizzazione e ambulatoriali, nondiabetici od affetti da problemi tiroidei.

Il dosaggio del Colesterolo-totale, Colesterolo-HDL(senza precipitazione) e Trigliceridi è stato eseguito su Aeroset (Abbott) con reagenti forniti dalla Ditta ABBOTT mentre il dosaggio dell'LDL-colesterolo-totale (omogeneo) su Dimension (DADE-BHERING) con reagenti della Ditta ALIFAX .

L'LDL-colesterolo è stato calcolato utilizzando la formula di Friedewald [LDL-col = Col tot – (Trig/5) – HDL-col.].

Valori di riferimento : Colesterolo : 120-220 mg/dl; Trigliceridi : 50-70 mg/ dl; HDL- Col. : 40-78 mg/ dl ; LDL-Col. Tot. : 130-160 mg/dl

**RISULTATI**




| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TRIGLICERIDI | *54* | **99** | **63** | **103** | *51* | **65** | **65** | **78** | **66** | **56** | 162 | 91 | **95** | **62** |
| COLESTEROLO TOT | *201* | **228** | **274** | **268** | *175* | **225** | **227** | **233** | **238** | **251** | 295 | 292 | **244** | **243** |
| LDL-TOTALE | *101* | **134** | **154** | **144** | *101* | **117** | **118** | **137** | **149** | **131** | 167 | 175 | **138** | **116** |
| LDL-CALC | *114* | **160** | **196** | **179** | *121* | **141** | **155** | **178** | **191** | **190** | 212 | 219 | **182** | **167** |

La tabella mostra che l'LDL-colesterolo calcolato secondo la formula di Friedewald in presenza di bassi valori (nell'ambito della normalità ) dei trigliceridi e di valori, sia elevati o normali di Colesterolo-totale, è nella totalità dei casi sovrastimato. In soli due casi vi è una parziale coincidenza tra i valori di LDL-Col/cal e LDL-Col-totale ( valori riportati in corsivo ) .

**CONCLUSIONI**

I nostri risultati, che necessitano di ulteriori verifiche, suggeriscono che analogamente a quanto accade per valori elevati, anche i bassi valori di trigliceridi sembrerebbero influenzare le LDL-colesterolo-calcolate con la formula di Friedewald, in accordo con quanto riscontrato da T. Y. Wang et al.(1).

Rimane da stabile quale sia il limite inferiore di riferimento entro cui le LDL-colesterolo debbano essere dosate, anziché calcolate e quale significato abbia la bassa concentrazione dei trigliceridi.

**BIBLIOGRAFIA**

(1) Teh Y. Wang, et al. Arch Pathlol Lab Med-Vol 125, Marzo 2001.

**G-24**

## VALUTAZIONE DEL BNP NELLA DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLA DISPNEA

[1]G.Candelieri, [1]V.Moscarella, [1]L.Marchetti, [2]A. Torri, [2]R.Turconi, [2]D. Sommariva
[1]Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologia Az. Osp. G.Salvini di Garbagnate Mil.; [2]Reparto Medicina Generale Az. Osp. G. Salvini di Garbagnate Milanese.

**Scopo del lavoro**
Valutazione dell'efficacia diagnostica del dosaggio del BNP nella diagnosi differenziale tra dispnee da scompenso cardiaco e dispnee da patologie respiratorie o comunque senza compromissione della funzione ventricolare sinistra. L'ormone natriuretico di tipo B è un peptide costituito da 32 aminoacidi prodotto prevalentemente nei ventricoli. Il BNP viene rilasciato in risposta alla distensione ventricolare correla con il grado di insufficienza cardiaca.

**Materiali e metodi**
Sono stati studiati 40 pazienti di età compresa tra 74 e 89 anni presentatisi al nostro Pronto Soccorso con sintomatologia dispnoica e ricoverati per accertamenti presso il reparto di Medicina. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ai comuni esami ematochimici e strumentali (ecocardiografia con calcolo della frazione di eiezione ventricolare). Il dosaggio del BNP è stato effettuato con il sistema Triage BNP (Bioside Diagnostic inc-S Diego California distribuito dalla Biomedical Service). Il campione utilizzato è stato plasma oppure sangue intero.La metodica sfrutta il principio di immunofluorescenza. Per quasi tutti i pazienti sono stati effettuati due dosaggi di BNP, uno all'ingresso e uno alla dimissione.

**Risultati**
Dei 40 soggetti analizzati 20 sono risultati affetti da scompenso cardiocircolatorio e 20 da patologie respiratorie. Il primo gruppo ha mostrato concentrazioni di BNP al ricovero compresi tra 154 e 1300 pg/mL con un valor medio di 666 pg/ml, e alle dimissioni concentrazioni tra 51 e 1300 pg/mL con un valore medio di 312 pg/ml. Il secondo gruppo ha mostrato concentrazioni di BNP al ricovero comprese tra 13 a 157 pg/mL con un valor medio di 70 pg/ml, e alla dimissione concentrazioni tra 12 e 150 pg/mL con un valore medio di 62 pg/ml.

| | **Pazienti con scompenso** | | | **Pazienti con altre patologie** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *BNP al ricovero* | *BNP alla dimissione* | *Frazione di eiezione* | *BNP al ricovero* | *BNP alle dimissione* | *Frazione di eiezione* |
| media | 666 | 312 | 39 | 70 | 62 | 50 |
| DS | 454 | 307 | 12.3 | 43.84 | 44.8 | 4.14 |
| CV | 0.68 | 0.98 | 0.31 | 0.63 | 0.72 | 0.08 |

**Discussione e conclusioni**
Dall'analisi dei dati si evidenzia una sostanziale differenza tra i due gruppi di soggetti cioè quelli con scompenso cardiaco e quelli con patologie respiratorie. I soggetti con scompenso mostrano valori superiori ai 154 pg/ml, i dosaggi di BNP nei soggetti con scompenso al ricovero hanno evidenziano alla dimissione una diminuzione del valore dopo che è stata intrapresa una terapia idonea, a parte due casi uno dei quali riguarda un paziente deceduto. Non è stata evidenziata una correlazione tra valore del BNP e frazione di eiezione anche se nella quasi totalità dei casi di pazienti con scompenso si avevano valori di eiezioni comunque patologici (valori normali $\geq$50).

**G-25**

# Proteinuria – Diagnostica ed Interpretazione mediante uso di proteine marker e di "sistemi esperti"

## *Primi risultati e Proposta di Valutazione multicentrica*

M. Ruggeri [(a)], G. Bruschetti [(b)], G. Galli [(c)], L. Massaro [(d)]
[(a)] Medicina di laboratorio 1, Azienda Ospedaliera San Giovanni Addolorata, Roma; [(b)] Dade Behring S.p.A; [(c)] Beckman Coulter S.p.A., [(d)] New Scientific Company S.r.l.

***Scopo del lavoro***

E' la valutazione preliminare della possibilità di migliorare l'uniformità della qualità analitica, dell'interpretazione e della comunicazione refertuale dello studio delle proteinurie.
Infatti, la valutazione del pattern proteico ottenuto con l'elettroforesi o con la laboriosa e per altro solo qualitativa tecnica SDS-PAGE, manca di riproducibilità ed è legata a soggettività di interpretazione, con conseguente mancanza di una uniforme qualità analitica e refertuale intra ed inter laboratorio.
Pertanto è stato valutato l'uso di un metodo sensibile per il dosaggio delle proteine totali ed il contemporaneo dosaggio immunologico dei marker proteici principali, albumina e alfa-1 microglobulina, seguito, per una completa diagnosi differenziale, dal dosaggio di poche altre proteine marker selezionate in base al primo risultato; il tutto assistito da "sistemi esperti" per l'elaborazione dei risultati, l'interpretazione e la refertazione con l'obiettivo di organizzare una valutazione multicentrica inter-regionale di cui questo lavoro costituisce il test preliminare tecnico ed organizzativo.

***Materiali e metodi***

Hanno partecipato alla sperimentazione 4 Laboratori: due con nefelometro "Immage" e "Lab-Link" e due con nefelometro "BNII" e "ProtIS". Sono stati selezionati 20 campioni di urine con proteinuria di cui: 5 pre-renale, 2 post-renale, 7 glomerulare pura selettiva, 5 glomerulare non selettiva + componente tubulare, 1 tubulare pura, che sono stati analizzati dai 4 laboratori.
Metodi analitici e protocolli di elaborazione sono quelli standard dei produttori dei nefelometri.
Il referto à quello fornito dal sistema esperto.

***Risultati***

Sui risultati dei dosaggi il massimo CV% inter-laboratorio riscontrato è stato inferiore al 15%.
I referti finali sono stati tutti sostanzialmente sovrapponibili.

***Discussione e Conclusioni***

Lo sviluppo dei dosaggi immunologici di proteine specifiche nelle urine ha portato o potrebbe portare ad un considerevole miglioramento nella rilevazione precoce, valutazione prognostica e monitoraggio terapeutico delle malattie del rene e delle vie urinarie. L'esame di base delle urine con la striscia-test e/o il microscopio dovrebbe essere integrato con la determinazione di pochi marker proteici. Questo approccio promette, rispetto all'elettroforesi e all'SDS-PAGE, un deciso miglioramento della qualità della fase analitica per la possibilità di uniformare il risultato mediante l'uso di "sistemi esperti" per l'elaborazione e la refertazione con conseguente uniforme standardizzazione dell'interpretazione e della comunicazione al clinico e dei dati storici da archivio.
In conclusione, sembrano preliminarmente verificate le ipotesi di base ed appare percorribile ed utile la proposta operativa di una valutazione multicentrica, che potrà senz'altro arricchirsi del contributo dei Laboratori che vorranno aderire all'iniziativa.