

## Riassunti delle Comunicazioni Poster, delle Comunicazioni Selezionate e delle Comunicazioni Poster Segnalate all'Editorial Board

<b>GRUPPO A1:</b>	Diagnostica ematologica	A1-01 – A1-22	128
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	A1-23	139
<b>GRUPPO A2:</b>	Diagnostica ematologica	A2-01 – A2-15	139
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	A2-16	147
	Diagnostica della coagulazione	A2-17 – A2-22	147
<b>GRUPPO B:</b>	Diagnostica immunologica	B-01 – B-20	150
	<i>Comunicazioni Selezionate</i>	B-21 – B-22	160
	Diagnostica allergologica	B-23 – B-26	161
<b>GRUPPO C:</b>	Malattie genetiche	C-01 – C-03	163
	Biologia molecolare	C-04 – C-09	165
	Malattie metaboliche	C-10 – C-11	168
	Biochimica e patologia cellulare	C-12 – C-19	169
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	C-20	173
<b>GRUPPO D:</b>	Diagnostica microbiologica	D-01 – D-16	173
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	D-17	181
<b>GRUPPO E:</b>	Indicatori di neoplasia	E-01 – E-05	182
	Indicatori di lesione d'organo	E-06 – E-16	184
	Diagnostica nelle infiammazioni	E-17 – E-19	190
	Evidence Based Medicine	E-20 – E-21	191

<b>GRUPPO F:</b>	Enzimi – Ormoni - Proteine - Lipidi - Lipoproteine	F-01 – F-11	192
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	<i>F-12</i>	198
	Qualità - Accreditamento - Certificazione	F-13 – F-21	198
	Standardizzazione - Controllo di qualità	F-22 – F-24	203
<b>GRUPPO G:</b>	Organizzazione - Gestione	G-01 – G-22	204
	Automazione	G-23 – G-25	215
	Informatica – Telematica	G-26 – G-27	217
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	<i>G-28</i>	218
<b>GRUPPO H:</b>	Valutazione metodi	H-01 – H-15	218
	<i>Comunicazione Selezionata</i>	<i>H-16</i>	226
	Valutazione sistemi	H-17 – H-21	226

## RIASSUNTI DELLE COMUNICAZIONI POSTER SEGNALATI ALL'EDITORIAL BOARD

<b>GRUPPO B:</b>	B-01
<b>GRUPPO C:</b>	C-03, C-15, C-19
<b>GRUPPO D:</b>	D-08
<b>GRUPPO E:</b>	E-04
<b>GRUPPO F:</b>	F-04, F-07, F-23

## PRESTAZIONI STRUMENTALI ED OBIETTIVI CLINICI IN EMATOLOGIA: UN BINOMIO IN SCINDIBILE

A1-01

**G. Saccani, S. Gaino, M. Vantini, S. Cerliani\*, L. Rossi\*, E. Lattuada\*, M. Caputo**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche & Microbiologia ULSS 22 Regione Veneto, Bussolengo VR;

\*Instrumentation Laboratory, Milano

*Scopo del lavoro:* Abbiamo voluto valutare nel settore Ematologia del nostro laboratorio un modello di assistenza tecnico-applicativa già sperimentato con successo nell'area della coagulazione (RIMe-IJLaM.2007;3-S1).

*Materiali e metodi:* Il settore Ematologia del Laboratorio di Bussolengo è dotato di 2 contaglobuli LH750 Coulter (Instrumentation Laboratory), operativi 24/7 con un carico giornaliero di circa 550 campioni, completato entro le 14.00 di ogni giorno in assenza di problematiche strumentali di rilievo. Il modello operativo di Web service è stato già descritto. Il collegamento si attiva attraverso un'icona presente sul desktop dello strumento. Sono state organizzate sessioni di supporto e prevenzione ed analizzato il trend mensile di alcuni parametri (Optica del laser e di Hb, Lattice di controllo, Monitoraggio delle pressioni) e le informazioni del Log eventi/errore.

*Risultati:* La sperimentazione è durata 6 mesi. L'analisi del log estrapolato durante i collegamenti ha permesso di evidenziare situazioni di valore limite critico per l'ottica del laser e valori prossimi alla soglia di allarme per la fluidica. Sulla base di queste informazioni il tecnico IL è intervenuto preventivamente. Abbiamo valutato il significato di questo nuovo approccio 'preventivo' confrontando n° e tipologia di interventi tecnici per riparazione/manutenzione registrati da novembre a maggio 2007 rispetto allo stesso periodo del 2008. Si è registrata una significativa riduzione. È stato inoltre elaborato un "rapporto Web-Service" per documentare e tracciare gli interventi secondo gli standard della certificazione ISO 9001.

*Discussione:* In base all'esperienza fatta siamo in grado di confermare la validità di questo modello di organizzazione dei servizi post vendita di assistenza tecnica e applicativa. Il sistema si è rivelato prezioso sul versante della prevenzione di eventi e situazioni in grado di portare al blocco strumentale; inoltre si monitorano insidiosi bias analitici nelle determinazioni quotidiane di parametri ematologici. Un altro vantaggio significativo è l'opportunità di sviluppare un innovativo modello di collaborazione/integrazione tra il tecnico di laboratorio e il personale di assistenza della ditta produttrice. Si tratta di elementi chiave sia per indirizzare le scelte di acquisizione della strumentazione in un'ottica di HTA sia per capitalizzare l'investimento in risorse e in personale e cercare di conseguire il difficilissimo equilibrio tra qualità delle prestazioni e contenimento della spesa che caratterizzerà sempre di più i sistemi sanitari nel prevedibile futuro.

## HAIRY CELL LEUKEMIA: PERCORSO DIAGNOSTICO ADOTTATO NEL DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO DI TRENTO

A1-02

**S. Dazzi, D. Tava, L.G. Menghini, S. Deimichei, M. Stenico, P. Dallavalle, F. Capuzzo, A. Biasioli, P. Caciagli**

U.O. Patologia Clinica, Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari, Ospedale S. Chiara, Trento

*Scopo del lavoro:* la tricoleucemia è una leucemia piuttosto rara derivante dalla proliferazione monoclonale di una piccola sottopopolazione di linfociti B della milza. Data la difficoltà di una diagnosi precoce, si propone un modello diagnostico multiparametrico che coinvolga anche il medico curante.

*Materiali e metodi:* due pazienti maschi di 75 e 63 anni sono pervenuti al nostro laboratorio nel primo trimestre del 2008, per esami di controllo. Per entrambi i casi è stato eseguito un emocromo con formula leucocitaria utilizzando l'emocitometro ADVIA 120 e successivamente lo striscio periferico. Nel sospetto di linfociti patologici è stato contattato il medico curante. L'approfondimento diagnostico è stato eseguito tramite l'analisi citofluorimetrica (FACScalibur) e la colorazione citochimica fosfatasi acida tartrato resistente (TRAP).

*Risultati:* per entrambi i casi, al primo controllo, l'esame emocromocitometrico rivela una pancitopenia, con spiccata neutropenia e monocitopenia pressoché assoluta. Al microscopio si confermano i dati strumentali della formula leucocitaria e il riscontro di elementi linfoidei sospetti aventi elementi quali nucleo ovale e citoplasma frangiato per la presenza di proiezioni villose. Viene contattato telefonicamente il medico curante per informarlo del sospetto di una patologia ematologica e per avere delle notizie cliniche. Inoltre si concorda la necessità di un secondo controllo per l'approfondimento diagnostico. Al riesame dei pazienti, dopo la riconferma del quadro ematologico e dello striscio periferico, viene impostato un pannello anticorpale per l'indagine citofluorimetrica e l'esecuzione della colorazione TRAP. Per i due casi, il dot plot morfologico mostra una popolazione con dimensioni e complessità nucleare maggiori rispetto ai linfociti normali. Prendendo poi in considerazione l'analisi immunologica SSC/CD45 tale popolazione si posiziona a fianco dei linfociti al limite della zona monocitaria. L'associazione CD19/CD14 esclude che in tale gate siano presenti monociti. Questa popolazione esprime inoltre restrizione clonale delle catene leggere oltre alla positività "bright" per gli antigeni CD11c, CD103, CD20 e CD25. La colorazione TRAP risulta positiva per ambedue i soggetti.

*Discussione e conclusioni:* la tricoleucemia di primo riscontro trattata in questo lavoro offre un quadro ideale di un percorso diagnostico ematologico composto di più fasi che, partendo dall'esame strumentale e microscopico necessita di un'attiva interazione tra il medico di laboratorio e il medico curante al fine di giungere ad una tempestiva diagnosi.

**VALUTAZIONE DELLA FRAZIONE IMMATURA DELLE PIASTRINE (IPF) COME PARAMETRO PREDITTIVO DI RECUPERO DELLA ATTIVITA' MIDOLLARE IN PAZIENTI PEDIATRICI****A1-03****S. Pipitone<sup>1</sup>, M. Mercadanti<sup>1</sup>, A. Caleffi<sup>1</sup>, A. Barone<sup>2</sup>, G.C. Izzi<sup>2</sup>, C. Monica<sup>1</sup>**<sup>1</sup>U.O. Diagnostica Ematochimica, <sup>2</sup>U.O. Oncoematologia Pediatrica -Azienda Ospedaliero Universitaria Parma

*Scopo:* Le Piastrine Reticolate, ad elevato contenuto di acido nucleico, costituiscono la quota giovane delle piastrine, vengono per prime rilasciate in circolo e sono espressione del loro turn over. Abbiamo valutato nei bambini con leucemie acute e con tumori solidi se esiste efficacia predittiva, post chemioterapia, della ripresa piastrinica, come espressione di attività trombopoietica midollare a scopo di ridurre o posporre le trasfusioni di concentrati piastrinici.

*Materiali e metodi:* Da settembre 2007 a luglio 2008 sono stati eseguiti emocromo, piastrine, frazione immatura delle piastrine IPF(%) a 34 pazienti provenienti da Oncoematologia pediatrica. Tra questi, 8 pazienti, 4 maschi e 4 femmine, di età compresa tra 4 e 13 anni, presentavano almeno 14 osservazioni ed erano stati seguiti per circa 10 mesi. I quadri clinici sono costituiti da 5 casi di leucemia linfoblastica acuta (LAL), due di tumori solidi (sarcoma muscolo deltoide e tumore cerebrale), un caso di piastrinopenia autoimmune. Gli esami sono stati eseguiti su analizzatore XE-2100 in fluorescenza con polimetina ed oxazina (RET-SEARCH™ DYE) nel canale dei reticolociti/piastrine con rilevazione di RNA cellulare.

*Risultati:* Il range di normalità per i pazienti pediatrici (ad oggi si considera sovrapponibile agli adulti) è IPF 2-7%. B.D(LAL):23 monitoraggi e cicli di chemioterapia e cortisone; non osservati significativi aumenti di IPF. B.G(LAL):68 valutazioni, chemioterapia con sovrapposte infezioni (terapia antibiotica e antiinfiammatoria). In due episodi IPF≥12% indicava ripresa midollare ma in altri due episodi IPF non aumentava. M.K(LAL):40 monitoraggi, un episodio di IPF≥12% con ripresa midollare. S.U.D (LAL): 46 valutazioni con chemioterapia, IPF non indicativo. M.P (LAL in remissione): 63 monitoraggi, IPF sempre nel range normale. T.M(tumore cerebrale): 34 referti, chemioterapia e IPF≥12-12,5% con ripresa midollare. D.P.F (sarcoma): 47 referti, IPF=10,7-12%, con ripresa midollare. F.E (piastrinopenia autoimmune): 14 monitoraggi con diminuzione delle piastrine e aumento di IPF, normalizzazione del conteggio piastrinico e rientro di IPF nel range.

*Conclusioni:* I risultati indicano che IPF si conferma utile nel monitoraggio della ripresa midollare post terapia per i tumori solidi; non risulta chiara l'interpretazione nelle leucemie acute (LAL), verosimilmente per i concomitanti quadri infettivi e la complessità delle patologie e delle terapie cortisoniche ed antibiotiche. Nel caso della piastrinopenia autoimmune si è osservato un buon risultato predittivo. Ci proponiamo di ampliarla e la casistica ai fini dell'utilizzo appropriato di questo interessante parametro.

**PIASTRINE: CONTEGGI AUTOMATIZZATI SU SACCHE DA AFERESI****A1-04****M. Gioia\*, M. Caruana\*, M. Randazzo\*, M. Nocera\*, J. Giordano\*, F. Buscemi§, E. Cillari\***

\*U.O.C. Patologia Generale; §U.O.C. Medicina Trasfusionale - A.O. "V. Cervello" - Palermo

*Scopo del lavoro:* Valutare l'accuratezza analitica del conteggio piastrinico per valori elevati, utilizzando differenti emocitometri: Horiba ABX (metodo resistivo), Siemens ADVIA 2120 (metodo elettro-ottico bidimensionale) e Sapphire- Abbott (metodo resistivo, elettro-ottico e immunologico CD61)

*Materiali e Metodi:* Sono state utilizzate 19 unità piastriniche, da raccolta aferetica, anticoagulate con ACD (acid sodium citrate-dextrose) a 2 h dalla raccolta, in condizioni di temperatura controllata, cioè a 22°C.

*Risultati:* Paragonando i dati ottenuti dalle varie metodiche con il metodo immunologico, ritenuto al momento il meno impreciso, si evidenzia che solo il metodo resistivo HORIBA non dà differenze analitiche statisticamente significative con il CD61 (1209±157 vs 1214±179; P<0,5). L'analisi dei valori assoluti medi delle grandi piastrine ("large platelet") indica che vi è una differenza statisticamente significativa (P<0,002) tra conta delle grandi piastrine eseguita, utilizzando CD61 (6±5,51) e metodo elettro-ottico ADVIA SIEMENS (48±18,6).

*Discussione e Conclusioni:* I dati ci permettono di concludere che la tecnica HORIBA, tra le metodiche non immunologiche per la conta delle piastrine nelle condizioni di studio (valori elevati), sia la più affidabile, vista la correlazione statisticamente significativa (r= 0,983; P<0,1) con il metodo che utilizza CD61. Le differenze analitiche tra le varie strumentazioni vengono discusse alla luce delle possibili interferenze legate all'uso degli anticoagulanti utilizzati. Anche la mancanza di correlazione (P<0,496) tra le large platelet immunologiche e le grandi PLT ottiche può essere spiegata ipotizzando che l'ACD, come già valutato per CPT (citrato trisodico biidrato piridossal-5-fosfato), possa causare una instabilità delle letture elettro-ottiche.

## I PARAMETRI POSIZIONALI DI COULTER LH750 UTILI PER INDIVIDUARE CAMPIONI AFFETTI DA PARASSITEMIA (MALARIA)

A1-05

### C. Ferrari

Laboratorio di Chimica e Microbiologia Istituto Nazionale Malattie Infettive L.Spallanzani - Roma

*Scopo del lavoro:* Trovare un cut-off relativo ai parametri posizionali (PP) di Monociti e Linfociti, capace di discriminare in routine i campioni con presenza di Plasmodium: (P.Falciparum, P.Vivax, P.Ovale, P.Malariae).

*Materiali e metodi:* Coulter LH750 determina la formula leucocitaria con analisi simultanea e multiparametrica di leucociti allo stato nativo. Tramite Tecnologia VCS, esegue misurazioni di (Volume), di (Conduttività- grandezza/densità nucleo, rapporto nucleo/citoplasma) e di (Scatter laser-granularità cellulare). Il sistema fornisce inoltre 24 PP, che esprimono Media (M) e Deviazione Standard (SD) di Linfociti, Monociti, Neutrofili ed Eosinofili per le misure di V C S. Variazione di PP associate alle segnalazioni di sospetto, indicano anomalie morfologiche. I PP medi di riferimento del laboratorio sono stati ottenuti analizzando campioni di sangue periferico, in EDTA, di 100 pazienti normali. Dal data base strumentale di 10.000 pazienti, sono stati individuati (1 positivo P.Vivax e 4 positivi P.Falciparum), la cui diagnosi è stata raggiunta con allestimento vetrino (Goccia spessa) e lettura al MO secondo protocollo NCCLS H20A. Durante la valutazione è stato effettuato il Controllo Qualità Interno Coulter 5C e il controllo Latron Primer e Latron Control. Statistica: MS Excel 2002, Medcalc Vers.9.0.

*Risultati:* Il valore medio di normalità relativo a SD VM<sub>0</sub> è 17.84 mentre quello relativo a SD VL<sub>y</sub> è 14.90, in linea con quanto già pubblicato (Piccinini et al). I campioni patologici hanno mostrato valori di PP aumentati rispetto ai normali, dovuti alla presenza di grandi cellule monocitarie attivate per la trasformazioni in macrofagi e linfociti reattivi. Elaborando la curva ROC del parametro MAf (SD VM<sub>0</sub> / SD VL<sub>y</sub> / 100) è stato trovato un Cut-off di 4,6 con sensibilità 100%, specificità 87.8% ed efficienza 98,7%.

*Discussione e conclusioni:* Il cut-off di 4,6 offre una buona capacità di screening morfologico su Linfociti e Monociti già nel corso della routine. Associando questo dato alla presenza di trombocitopenia e all'interferenza sull'istogramma WBC dovuta alla presenza di emazie parassitate resistenti alla lisi è possibile gestire i singoli campione, in particolare le richieste urgenti, con tempi differenti in base al superamento del cut-off o meno. Ripetendo l'analisi dei positivi, a distanza di 1-4 giorni durante la terapia anti-malarica, i PP seguono un andamento decrescente e a distanza di 4 giorni, un campione ritornato negativo alla diagnosi è passato da un cut off di 4,65 ad uno di 3,35. Tale modalità operativa riduce i tempi di approccio al MO e permette di indirizzare i casi patologici verso un percorso diagnostico adeguato. Risparmiare tempo e risorse, senza incrementare i falsi negativi (sensibilità 100%) è oggi un ottimo risultato.

## SIGNIFICATO CLINICO DELLA SEGNALEZIONE DI "FRAMMENTI ERITROCITARI" IN AUTOMAZIONE: INTEGRAZIONE DEL REFERTO EMATOLOGICO

A1-06

### A. Mileti, V. Brescia, M. Tampoia, E. Cleopazzo, A. Lopello, F. Di Serio

Patologia Clinica I, Policlinico Bari

Gli schistociti sono frammenti eritrocitari la cui presenza deve far supporre un'emolisi intravascolare. Il loro riconoscimento è urgente nei casi di sospetta microangiopatia trombotica ed utile in differenti patologie per valutarne l'andamento clinico. Gli analizzatori ematologici forniscono il conteggio degli schistociti.

*Scopo del lavoro:* è stato confermare in microscopia ottica (metodo di riferimento) il riscontro occasionale di frammenti eritrocitari in automazione nel corso di routine ematologica e valutarne il significato clinico.

*Materiali e Metodi:* Sono stati valutati i referti strumentali di n.12500 emocromi pervenuti presso il laboratorio in un tempo di osservazione di 60 giorni. L'esame emocromocitometrico è stato eseguito su ADVIA 2120 (Siemens). Gli emocromi positivi per la segnalazione in automazione di frammenti eritrocitari sono stati valutati in microscopia ottica (m.o.) in accordo alle linee guida e raccomandazioni del Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (GFHC). Il gruppo controllo era costituito da 100 soggetti sani (48M; 52F; età media 34 aa, range 22-44). La comparazione tra metodi è stata effettuata mediante Passing Bablok regression. La sensibilità e la specificità è stata calcolata mediante "receiver operating characteristic (ROC) curve".

*Risultati:* 19 emocromi (0.15%) presentavano la segnalazione di frammenti eritrocitari. La percentuale media di schistociti è stata di 3.4 (range 2.0-5.3) in automazione e di 2.9 (range 1.0-4.8) in m.o. La comparazione tra i metodi ha evidenziato un'intercetta di 0.20 (95% CI 0.57-0.77) e slope di 1.10 (95% CI 0.93-1.34) (cusum test p>0.1). La curva ROC del conteggio degli schistociti in automazione ha fornito, al cut-off > 0.66%, sensibilità e specificità 100%. Al cut-off di 0.20% in m.o. la sensibilità è stata del 100% e la specificità del 46.4%. Tutti i pazienti con l'emocromo allertato per frammenti eritrocitari presentavano una condizione clinica predisponente alla produzione di schistociti.

*Discussione:* La nostra esperienza ha evidenziato che la conta degli schistociti in automazione è riproducibile con buona sensibilità e specificità. La segnalazione di una percentuale di schistociti superiore al cut-off indica una condizione di frammentazione eritrocitaria a diverso grado di rilevanza clinica. Il cut-off decisionale da noi ottenuto in automazione (>0.66%), differente dal cut-off del metodo di riferimento microscopico (0.20%), è coerente con i dati ottenuti dalla correlazione tra le due metodologie. Pertanto il referto ematologico potrebbe essere integrato dalla conta degli schistociti in automazione con conferma in m.o. nei casi di sospetta microangiopatia trombotica per un trattamento corretto ed immediato.

## IL CONTENUTO EMOGLOBINICO RETICOLOCITARIO E LA % DI CELLULE IPOCROMICHE: INDICATORI DI DEFICIT FUNZIONALE DI FERRO IN PAZIENTI ANEMICI CON INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

A1-07

**A. Mileti, V. Brescia, M. Tampoia, A. Lopello, A. Verna, F. Di Serio**

Patologia Clinica I, Policlinico Bari

Pazienti con IRC in terapia con EPO sviluppano deficit funzionale di ferro non evidenziabile con sideremia, ferritina e TSAT. *Scopo del lavoro:* è stato di valutare l'utilità del contenuto emoglobinico reticolocitario (CHr) e della % di cell ipocromiche in questi pazienti.

*Materiali e metodi:* Sono stati valutati parametri eritrocitari (CHr e % cell ipocromiche) e parametri biochimici (sideremia, ferritina, e TSAT) in pazienti anemici con IRC (14 in terapia con EPO (pzEPO) e 13 con EPO e ferro (pzEPO+Fe)) ed in 28 soggetti normali (gruppo controllo). L'emocromo è stato eseguito su ADVIA 2120(Siemens). L'analisi statistica ha previsto test parametrici e "ROC curve"

*Risultati:* Tab. 1

	gruppo controllo n.28			pz EPO n.14			pz EPO+Fe n.13		
	Media	95%CI	DS	Media	95%CI	DS	Media	95%CI	DS
<b>Hgb (g/dL)</b>	14.8	12.5-16.8	1.5	11.0	9.6-13.3	0.9	10.7	7.5-14.1	1.4
<b>Ferritina (ng/ml)</b>	92.2	91.1-93.4	4.1	227.2	16-658	266.3	281.5	16.3-820	216.6
<b>Sideremia (µg/dl)</b>	71.0	64.3-77.8	21.1	59.9	20-171	39.9	48.1	10-86	21.6
<b>TSAT (%)</b>	33.1	30.5-35.8	9.4	31.4	11-75	20.9	25.4	8-61	14.1
<b>CHr (pg)</b>	34.8	34.5-36.1	0.7	30.9	25.3-37.5	3.2	33.2	29-35.6	1.8
<b>cellipocromiche(%)</b>	0.2	0.1-0.3	0.2	1.7	0.3-5	1.6	4.4	0.6-16.7	4.8

La differenza tra le medie del CHr era statisticamente significativa tra pzEPO vs pzEPO+Fe (p<.001). La sensibilità e la specificità del CHr era 71.4% e 100% nei pzEPO (cut-off<31.7pg); 46.2% e 85.7% nei pzEPO+Fe (cut-off<33pg). La % cell ipocromiche (cut-off>5%) presentava buona specificità (87.5% e 100%) e bassa sensibilità (<10%).

*Conclusioni:* il CHr può risultare un idoneo indicatore di carenza funzionale di ferro nei pazienti con anemia da IRC ed il suo utilizzo risulta appropriato per ottimizzare la terapia marziale

## PARAMETRI POSIZIONALI DI COULTER LH 750, NUOVI E RIPRODUCIBILI INDICATORI DI SEPSI

A1-08

**L. Atripalodi, R. Canonico, L. Savarese, L. Caravano, I. Crisai, C. Alone, L. D'Apice**

Lab.analisi Azienda Ospedaliera "D.Cotugno"

*Scopo del lavoro:* Studiare l'utilità dei parametri posizionali (PP) sui neutrofili per individuare uno stato settico e confrontare il dato con l'espressione CD64 sui leucociti.

*Materiali e metodi:* Coulter LH750 determina la formula con analisi simultanea e multiparametrica di leucociti allo stato nativo. Tramite tecnologia VCS, esegue misurazioni di Volume, Conduttività –grandezza/densità nucleo, rapporto nucleo-citoplasma e Scatter laser-granularità cellulare. Il sistema fornisce inoltre 24 PP che esprimono media (M) e deviazione Standard (SD) di Linfociti, Monociti, Neutrofili ed Eosinofili per le misure di V, C, S. Variazioni dei PP sono correlabili ad alcune patologie. I PP medi di riferimento del laboratorio sono stati ottenuti analizzando campioni di sangue, in EDTA di 100 donatori. Dal data base di 20.000 pazienti, sono stati individuati 30 sepsi, la cui diagnosi è stata fatta con emocoltura e SeptiFast LightCycler (ROCHE). Durante la valutazione è stato eseguito il controllo di CQ interno Coulter5C e il controllo Latron Primer e Control. Statistica:MS Excel 2002, MedCalc Vers.9.0. E' stato poi misurato il livello di espressione CD64 su neutrofili con citometria a flusso (CoulterFC500) dei positivi per sepsi a differenti livelli di gravità e differenti tipi di infezione e su 20 campioni di soggetti sani.

*Risultati:* Il volume medio dei neutrofili nei soggetti con sepsi è sempre superiore a 163+5.9vs140+ 7.3 dei soggetti normali. Lo scatter medio è significativamente più basso 129.7+11vs146+7.3 dei normali. Questo spesso correla con un aumento dei WBC e un aumento della % dei neutrofili anche se nello studio un campione sepsi positivo aveva bassi WBC(1.7) ed normale percentuale di neutrofili (47.5%). Il canale medio del CD64 nei positivi per sepsi è risultato 450+120vs247+45 dei negativi.

*Discussione e conclusioni:* Una rapida diagnosi di sepsi è essenziale per un'adeguata gestione del paziente. I test sino ad oggi sono emocoltura, proteina C-reattiva, CBC/DIFF, esame dello striscio, dosaggio delle citochine, dosaggio della procalcitonina, indagini di biologia molecolare(SeptFast) tutti con differenti livelli di sensibilità, specificità e difficoltà analitica. Il nostro metodo consente di evidenziare una condizione di sepsi mediante un normale test emocromocitometrico. I soggetti che presentavano VMN superiori a 158 e SMN inferiore a 130 risultavano poi positivi al sistema Septi Fast e alla emocoltura, inoltre presentavano livelli aumentati dell'espressione del CD64 sui granulociti. L'esperienza ci ha consentito di mettere in evidenza uno stato settico in assenza di elevata conta dei WBC(sepsi da Pseudomonas Aeruginosa)e di monitorare nel tempo l'andamento dell'infezione. Avere un orientamento diagnostico a costo zero è oggi un valido obiettivo del Laboratorio.

## PROTOCOLLO PER LA VALUTAZIONE DEI PROGENITORI CIRCOLANTI DELLE CELLULE ENDOTELIALI

A1-09

**L. Franchini, C. Vizziello, V. Sandi, G. Bellomo, P. Notari**

Laboratorio di Ricerche Chimico Cliniche, Università del Piemonte Orientale, Novara

*Scopo:* Sempre maggiore è l'interesse nei confronti delle cellule staminali nella prospettiva di un loro possibile utilizzo terapeutico in patologie vascolari coronariche. L'approccio metodologico riportato in letteratura è quanto mai vario e spesso comporta l'utilizzo di tecniche complesse e di lunga durata (separazione e colture cellulari) poco adatte ad un impiego clinico routinario. Scopo dello studio è stato quello di valutare se, con una metodica relativamente semplice, fosse possibile identificare, quantificare e caratterizzare le cellule staminali ad orientamento endoteliale in campioni di sangue periferico attraverso una metodica citofluorimetrica.

*Materiali e Metodi:* Sono stati indagati 11 soggetti sani di controllo, 11 pazienti con insufficienza cardiaca non ischemica e 10 pazienti con infarto acuto del miocardio (IMA) studiati a 3 tempi differenti dopo l'evento acuto. Sono stati utilizzati i seguenti monoclonali coniugati: antiCD34 FITC, antiCD133 PE, antiCD117 PerCPCy5.5, antiCD33 PECy7, antiVEGFR2 APC, antiVEGFR3 APC, antiCD45 APCCy7. Nella fase di preparazione dei campioni è stato utilizzato lo strumento BD FACS LYSE/WASH ASSISTANT (Becton Dickinson) per l'automazione di talune fasi di lisi e lavaggio. I campioni sono stati analizzati con un citofluorimetro di ultima generazione, BD FACSCanto (BD) equipaggiato con 2 laser (emissione 488nm blu e 633nm rosso) e 6 fluorescenze, utilizzando il software FacsDiva (BD).

*Risultati:* A causa di una difficoltà nella rilevazione delle staminali VEGFR2 e VEGFR3 positive che, secondo la procedura ISHAGE, si discostano per un livello minimo dalla soglia di negatività si è deciso di "sganciarsi" dai limiti imposti dal protocollo, prendendo in considerazione gli eventi CD34+ totali e non solo quelli compresi nella zona linfomonocitaria del dot plot FSC/SSC, spostando la soglia FSC al disotto dei limiti dei linfociti in modo da escludere solo gli eventi più verosimilmente attribuibili a debris. Con questa nuova strategia si è potuta osservare la comparsa di un cluster ben delimitabile di eventi CD34+/VEGFR2+ e CD34+/VEGFR3+ che presenta ridotto FSC, CD45+low e VEGFR bright come riscontrato anche in letteratura. Un ulteriore approccio volto ad identificare primariamente gli elementi VEGFR2+ e/o VEGFR3+ ha permesso di evidenziare un cluster allungato che si estende da un'area chiaramente CD34+ ad una sicuramente CD34-.

*Conclusioni:* L'applicazione di questo protocollo permette di evidenziare, in modo semplice e ripetibile, nei pazienti studiati, elementi circolanti VEGFR2+ e/o VEGFR3+ con un differente grado di espressione di CD34 a suggerire una progressiva differenziazione verso il fenotipo endoteliale maturo.

## MEAN PLATELET VOLUME E AGGREGAZIONE PIASTRINICA: TEST DI SCREENING PER LA WISKOTT-ALDRICH SYNDROME?

A1-10

**M. Diquattro, F. Gagliano, G.M. Calabrò, S. Ditta, G. Amato, A.M. Tagliavia, P. Allotta, R. Ciriminna, S. Scola, B. Palma**

Laboratorio di Patologia Clinica P.O. Civico - A.R.N.A.S. Civico-Ascoli-Di Cristina - Palermo

*Scopo del lavoro:* La sindrome di Wiskott Aldrich è una rara piastrinopenia congenita a trasmissione X-linked recessiva (1/250.000 nati maschi). E' caratterizzata da gravi infezioni ricorrenti, manifestazioni emorragiche ed eczema di grado severo ad esordio in età neonatale. Il gene difettivo, localizzato sul braccio corto del cromosoma X in regione pericentromerica (Xp 11.22), codifica per la WASp (Wiskott Aldrich Syndrome Protein), una proteina citoplasmatica che svolge un ruolo fondamentale nella ontogenesi di leucociti e piastrine. L'indagine genetica permette di effettuare una diagnosi di certezza soprattutto nei casi dubbi, ad espressività clinica incompleta o all'esordio della malattia. Non esistono a tutt'oggi linee guida per test di screening. Abbiamo valutato la possibilità di utilizzare il volume medio piastrinico e il test di aggregazione piastrinica per l'identificazione dei portatori sani.

*Materiali e metodi:* Abbiamo effettuato uno studio morfologico-funzionale delle piastrine nei soggetti sani portatori in una famiglia con alterazione del gene WASP, relativamente alle ultime due generazioni, la III e la IV. Sono stati determinati la conta piastrinica e il volume piastrinico medio (MPV, fL) con analizzatore ADVIA120 Siemens e il test di aggregazione piastrinica con metodo turbidimetrico secondo Born, la tipizzazione linfocitaria, il pattern anticorpale, i livelli sierici di C3 e C4, il test di Coombs diretto e indiretto e gli autoanticorpi ANA, ENA, antiDNA, anti cardiolipina, anti glicoproteina Beta1.

*Risultati:* Lo studio non ha rilevato nei soggetti analizzati alterazioni del pattern linfocitario, dei livelli di C3 e C4 e dei test di Coombs, che si sono rivelati nella norma. Solo uno dei portatori sani analizzati presentava una riduzione dei livelli di Ig M, senza manifestazioni cliniche associate. Nei portatori sani analizzati la conta piastrinica era nei limiti, i valori di MPV risultavano ai limiti inferiori vs campioni di controllo ed era presente un deficit di aggregazione agli agonisti ADP ed epinefrina.

*Conclusioni:* Alla luce dello studio clinico effettuato, si suggerisce la possibilità di utilizzare come test di screening per la Wiskott- Aldrich Syndrome, in presenza di una anamnesi familiare suggestiva, l'esame emocromocitometrico e il test di aggregazione piastrinica. Sui soggetti a rischio va comunque effettuata l'indagine genetica di conferma, che sebbene sia costosa, richieda tempi lunghi di esecuzione e sia eseguibile presso pochissimi laboratori in Italia, rimane il gold standard.

## TROMBOCITOSI: ALCUNE VALUTAZIONI SU DIFFERENTI PRINCIPI TECNOLOGICI PER IL CONTEGGIO DELLE PIASTRINE

A1-11

**D. Campioli, A.M. Ottomano, F. Corcetti, G. Bergonzini**

Dipartimento Integrato di Laboratori, Anatomia Patologica e Medicina Legale. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche. Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico di Modena

*Scopo del lavoro:* L'accuratezza del conteggio piastrinico è compito tra i più delicati nel laboratorio di analisi cliniche per le rilevanti conseguenze legate ai differenti livelli decisionali sia in caso di trombocitopenia che di trombocitosi. Scopo del nostro lavoro è stato valutare differenti tecnologie disponibili per il conteggio piastrinico in campioni con trombocitosi.

*Materiali e metodi:* Un primo gruppo di 25 campioni con conteggi piastrinici  $> 450 \times 10^9/L$  è stato esaminato su Toa-Sysmex XE-2100 e su Abbott Cell-Dyn Sapphire. Abbiamo quindi correlato i risultati ottenuti, assumendo come riferimento il conteggio Immuno-PLT CD61 del sistema Abbott Cell-Dyn Sapphire. Un secondo gruppo di 100 campioni con conteggi piastrinici  $> 450 \times 10^9/L$  è poi stato esaminato su Toa-Sysmex XE-2100 per confrontare i risultati forniti dal metodo impedenziometrico e dal metodo ottico e valutarne le differenze in funzione dei diversi parametri strumentali disponibili (indici piastrinici). Tutte le analisi sono state condotte su campioni raccolti in K3EDTA ed eseguite entro le ore 14 del giorno del prelievo.

*Risultati:* Il metodo che correla meglio con il conteggio CD61 è quello impedenziometrico di XE-2100 per il quale l'analisi secondo Passing & Bablock mostra una retta di correlazione praticamente sovrapponibile alla linea di identità e l'analisi delle differenze di Bland-Altman evidenzia i migliori risultati in termini di Bias e di significatività statistica.

Per quanto riguarda il sistema XE-2100 si osserva la tendenza ad una progressiva sovrastima del metodo ottico rispetto all'impedenziometrico al crescere dei conteggi PLT. Tali differenze non sono associate in modo significativo ai parametri volumetrici piastrinici (MPV, P-LCR, ecc.). Si osserva una significativa correlazione delle differenze di conteggio PLT dei due metodi XE-2100 rispetto al valore IPF: al crescere di IPF% (e ancor più di IPF#) il metodo ottico tende a fornire conteggi più elevati del metodo impedenziometrico.

*Discussione:* Nelle trombocitosi, specialmente se elevate, il conteggio delle piastrine presenta criticità legate alla loro grande variabilità per aspetti morfologici, volumetrici, funzionali, immunologici, analitici, ecc. Questa variabilità è inoltre condizionata dalla natura della piastrinosi (primitiva o secondaria), dalla evoluzione della patologia e dalla eventuale terapia somministrata. Importante è valutare il più approfonditamente possibile il referto emocitometrico dei campioni trombocitosici e disporre del maggior numero di informazioni possibile sugli aspetti dimensionali, morfologici, maturativi, per poter scegliere il metodo più accurato.

## NUOVI PARAMETRI ERITROCITARI PER LO STUDIO DELLE ANEMIE OTTENIBILI CON ANALIZZATORE COULTER LH750

A1-12

**E. Trabuo<sup>1</sup>, D. Sambo<sup>1</sup>, S. Valverde<sup>1</sup>, F. Antico<sup>1</sup>, N. Di Gaetano<sup>2</sup>, G. Gessoni<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale di Chioggia; <sup>2</sup>Instrumentation Laboratory

*Premesse:* Il laboratorio si trova quotidianamente di fronte a pazienti anemici. Le informazioni ottenute dai parametri strumentali possono essere utili per una più corretta classificazione della patologia specie se in grado di segnalare altre alterazioni biochimiche. Coulter serie LH 700 fornisce una serie di parametri quantitativi, qualitativi e maturativi dell'intera popolazione eritrocitaria (da RET a RBC). Due nuovi parametri a disposizione sono MAF e RSF nati dalla combinazione di parametri eritrocitari e reticolocitari. Nel presente lavoro presentiamo i primi dati ottenuti dallo studio su pazienti anemici di sesso femminile.

*Materiali e metodi:* abbiamo studiato e revisionato 51 campioni di pazienti affetti da varie forme di anemia, e 70 campioni di controllo appartenenti a donatrici di sangue. I campioni sono stati analizzati su Coulter LH 750 in profilo CBC/Diff/RET. È stato inoltre determinato Ferro, Ferritina e per le donatrici RsTfr.

*Risultati:* il valore medio di Hgb per le donatrici è 13,3 g/dl mentre i pazienti è di 10,2 g/dl; i valori di Hct sono rispettivamente di 40,9 e di 30,1. I valori di RSF e MAF sono rispettivamente 97,5 e 37 per le donatrici e 94 e 8,4 per le pazienti anemiche. I valori di ferro plasmatico sono pressoché identici tra i due gruppi (risp. 15,4 e 14,8  $\mu\text{m/L}$ ). Abbiamo voluto investigare quale parametro avesse la capacità di identificare i campioni con valori di ferro  $< 9,4 \mu\text{m/L}$  (ns. val rif). Dall'analisi delle curve ROC è emerso che il parametro MAF, ad un cut-off di 34,2, presenta una AUC=0.82 con sens=90.5% e spec=69,9.

*Discussione e conclusioni:* la diagnosi di anemia deve necessariamente essere basata su parametri emocromocitometrici e biochimici. Il nostro laboratorio sta focalizzando la sua attenzione sulla diagnosi dell'anemia nelle sue varie forme, e sulla possibilità di monitorare ed evidenziare gli stati pre-anemici quali carenze latenti di ferro. Di questo studio, che coinvolge in particolare popolazione di sesso femminile, abbiamo presentato i primi dati preliminari che ci mostrano come un parametro quale MAF possa essere predittivo di carenza di ferro o perlomeno di un valore di ferro plasmatico inferiore all'intervallo di riferimento. Sono in corso di raccolta i dati relativi al monitoraggio di donne in età fertile al fine di raccogliere dati sulla predittività di carenza latente di ferro che causa il persistere di valori sub-ottimali di Hb.



### IMPORTANZA DELL'ETEROGENITA' VOLUMETRICA DEI GRANULOCITI NEUTROFILI PER IL RICONOSCIMENTO DELLA DISPLASIA GRANULOCITARIA UTILIZZANDO, NELLA ROUTINE, I PARAMETRI POSIZIONALI DI COLUTER LH 750

A1-13

**C. Piccinini, D. Casotto, M. Poletto, B. Biasioli**

DAI di Medicina di Laboratorio S.C. di Patologia Clinica, Trieste

I parametri posizionali (PP) leucocitari forniti da Coulter LH 750 per ogni campione rappresentano i valori medi (M) e la deviazione standard (SD) di Volume (V), Conduttività (C) e Scatter (S) di ogni sottopopolazione leucocitaria. E' noto che la loro variazione rispetto ai valori di normalità corrisponde ad alterazioni morfologiche delle popolazioni cellulari coinvolte. Numerose esperienze dimostrano che la presenza di displasia granulocitaria (DG) di varia origine (MDS primitive e secondarie, altre malattie ematologiche e non) si accompagna a riduzione significativa di CM ed SM.

*Scopo del lavoro:* il nostro Laboratorio utilizza routinariamente alcuni PP per la validazione dei campioni. Abbiamo voluto verificare se l'introduzione di ulteriori PP, in combinazione coi primi, migliorava l'informazione relativa al sospetto di presenza di DG

*Materiali e Metodi:* abbiamo valutato 84 campioni indirizzati alla revisione microscopica per sospetta DG in base ai PP utilizzati (CM<140/SM<139). Abbiamo poi analizzato, in altre giornate, i campioni selezionati tenendo conto di un ulteriore PP (GN SD V). Analisi statistica con MedCalc.

*Risultati:* dal confronto (t-test) dei valori dei PP CM ed SM dei campioni selezionati per DG e di quelli di controllo (222 campioni normali, analizzati nelle stesse giornate) si evidenzia una netta differenza ( $p < 0,001$ ) riconfermando i dati già noti. Lo stesso risultato si ottiene per SD V ad indicare una differenza significativa di eterogeneità volumetrica. L'analisi delle curve ROC ha confermato la capacità discriminatoria di SD V (AUC=0,93 sens=86,7% spec=88,9%). Abbiamo, allora, verificato se la combinazione di questi tre PP avesse performance migliori ed è emerso che nei campioni con CM<140 ed SD V>22,50 si ha AUC=0,97% sens=85% spec=100%. Abbiamo, quindi, applicato queste combinazioni di PP (CM/SM e CM/SD V) come criterio di revisione microscopica ai campioni della routine per 4 giorni consecutivi. Su 142 vetrini 65 sono stati strisciati per sospetta DG e, di questi, 46 (71%) erano veri positivi. Il 5% di questi campioni è stato individuato dalla combinazione CM/SD V determinando un miglioramento della performance dell'8%. Il 19% dei campioni era negativo per DS ma aveva segnalato la presenza di forme immature mieloidi il che induceva, comunque, alla revisione microscopica.

*Discussione e conclusioni:* il Laboratorio moderno deve, oggi, focalizzare l'attenzione sui campioni patologici individuando nuovi algoritmi per la segnalazione del sospetto patologico. La nostra esperienza ha permesso, senza appesantire il lavoro di revisione microscopica, di affinare i criteri già in uso per il sospetto di DG.

### MONITORAGGIO DI UN CASO DI PORPORA TROMBOCITOPENICA IDIOPATICA (PTI) ATTRAVERSO IL PARAMETRO IPF

A1-14

**G. Ciancaglini\*, I. Corti\*, L. Gargiulo\*, F. Di Luca\*, L. Di Cinto\*, F. Indino\*, P. Salutari\*\*, M. Golato\***

\*Patologia Clinica O.C. Lanciano, \*\*Ematologia O.C. Pescara

*Scopo del lavoro:* La PTI acuta si manifesta bruscamente senza cause evidenti con segni clinici di petecchie ed ecchimosi per riduzione di piastrine (PLT). E' di primaria importanza distinguere se la trombocitopenia (TCP) sia determinata da ridotta produzione o da aumentata distruzione e/o sequestro di PLT. Nelle TCP da aumentata perdita si osserva l'aumento di PLT immature reticolate (ad alto contenuto RNA) equivalenti a cellule giovani della filiera dei megacariociti (MK), valutabili con il parametro IPF (Frazione di Piastrine Immature), per iperproduzione da compenso. Scopo del lavoro: monitorare la malattia e la ripresa della piastrinopoiesi tramite PLT e IPF quale indice indiretto dell'attività dei MK.

*Materiali e Metodi:* Bambina di anni 4, giunta al Pronto Soccorso per petecchie diffuse dopo episodio infettivo virale. Esame obiettivo: splenomegalia di grado modesto. Esami eseguiti all'esordio in urgenza: emocromo con Bayer Advia 120 e striscio di sangue periferico, prove coagulazione (PT, aPTT). In routine è stato effettuato un agoaspirato midollare e anticorpi (ab) antiplastrine. La diagnosi è stata di PTI acuta, che dopo una fase iniziale di remissione si è cronicizzata; è trattata con terapia cortisonica. Dopo l'introduzione in laboratorio di Sysmex XE-2100, la paziente è stata monitorata anche con IPF.

*Risultati:* I parametri ematologici al ricovero erano nei limiti dei valori di riferimento per età, tranne le PLT che erano pari a  $4 \times 10^3/\mu\text{L}$  con alto Volume Medio Piastrinico. Striscio di sangue periferico: presenza di PLT giganti. Midollo: serie eritroide e mieloide nei limiti fisiologici senza alterazioni dell'eritropoiesi né della mielopoiesi, presente iperplasia dei MK con prevalenza di forme meno mature e più basofile. Parametri coagulazione: nella norma. Ab antiplastrine: presenti. La patologia è in corso da più di un anno, si riportano i dati degli ultimi 5 controlli su Sysmex XE-2100.  $\text{PLT} \times 10^3/\mu\text{L} = 6,9, 15,4, 5$  con andamento inverso di IPF 31,4-32,7-25,6-36,8-35,9, statisticamente superiori ai valori normali (3,55;  $p < 0,0001$ ).

*Discussione e Conclusioni:* L'andamento a poussées della TPI, corrisponde al blocco seguito da ripresa di produzione di PLT da parte dei MK, pur persistendo nel caso presentato, una TCP grave. Risulta utile il monitoraggio della terapia tramite IPF, che nel nostro caso aumenta al diminuire delle PLT, fornendo indicazioni immediate della ripresa dei MK per effetto del cortisone. La semplicità di misura del parametro e l'affidabilità del dato permettono di valutare in modo indiretto l'attività midollare, evitando il ricorso sempre meno indicato dalle linee guida, all'agoaspirato, per rilevare l'andamento della megacariocitopoiesi sia all'esordio della malattia che durante la terapia.

**STUDIO DEI VALORI DI NORMALITA' DEI PARAMETRI IPF E FRC DI SYSMEX XE-2100****A1-15**

**N. Colanero, I. Bianco, V. Taddeo, L. Tosti, F. Di Luca, L. Di Cinto, F. Indino, L. Gargiulo, C. De Cola, M. Golato**  
Patologia Clinica O.C. Lanciano

*Scopo del lavoro:* L'evoluzione tecnologica degli analizzatori ematologici fornisce parametri nuovi di elevato utilizzo clinico per lo studio delle malattie ematologiche. Tali parametri, unitamente a quelli tradizionali, risultano utili nella routine, permettendo un efficace e mirato approfondimento diagnostico dei campioni patologici, concorrendo insieme alla clinica a formulare una diagnosi, capire la patogenesi e monitorare la malattia nel tempo. Sysmex XE-2100 tramite il canale dei reticolociti, ed appositi software, è in grado di determinare in automatico la Frazione delle Piastrine Immature e la percentuale dei Frammenti dei globuli rossi entrambi elementi importanti nella valutazione di diverse patologie. L'introduzione nel nostro laboratorio di Sysmex XE-2100 ha permesso di analizzare i valori di normalità dei parametri. IPF e FRC.

*Materiali e Metodi:* Abbiamo analizzato 74 campioni di donatori sani di età compresa tra 18 e 55 anni con valori ematologici nei limiti di riferimento e senza flag strumentali. La percentuale di frammenti eritrocitari (FRC) eventualmente presenti nel campione e la Frazione di Piastrine Immature (IPF) sono state analizzate con il contaglobuli Sysmex XE-2100 nel canale dei reticolociti (metodo ottico laser in fluorescenza; colorazione: coloranti polimetinici), determinando con software IPF-Master l'IPF e con software RET-Master l'FRC. I Valori di Normalità sono stati determinati con range 2,5°-97,5° percentile per i parametri IPF%, IPF#, PLT e FRC.

*Risultati:* la popolazione analizzata ha evidenziato i seguenti valori: PLT ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ): Media (M) = 235 tra 167 e 335 - distribuzione normale. IPF (%) M = 3,55 tra 1,3 e 7,3 - distribuzione normale. IPF# ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) M = 8,14 tra 3,08 e 20,34 - distribuzione normale. FRC(%) M = 0,173; mediana= 0,03 tra 0 e 0,886 distribuzione non parametrica.

*Discussione e Conclusioni:* I risultati ottenuti sovrapponibili ai dati della letteratura, ci consentono di studiare i pazienti patologici, anche con l'ausilio di parametri, precedentemente non disponibili nell'esame emocromo del nostro laboratorio. Il dato IPF risulta fondamentale nella valutazione e monitoraggio delle trombocitopenie, come ampiamente dimostrato dagli studi più recenti. FRC si aggiunge come parametro di approfondimento alla già disponibile flag di sospetto, fornendo un dato quantitativo automatico di utilizzo clinico importante. La possibilità di avere a disposizione una determinazione numerica valutata su migliaia di cellule, piuttosto che una flag, con immediatezza, precisione e standardizzazione, permette di analizzare un'ampia popolazione indirizzando approfondimenti con MO su casi mirati offrendo possibilità diagnostiche più ampie e follow-up laboratoristico/clinico del paziente nel tempo.

**UTILITÀ DELLA DETERMINAZIONE AUTOMATICA DEGLI SCHISTOCITI NEI PAZIENTI ONCOLOGICI****A1-16**

**G. Ciancaglini\*, A. Cantoli\*, V. Taddeo\*, F. Di Luca\*, L. Di Cinto\*, F. Indino\*, P. Salutari\*\*, M. Golato\***

\*Patologia Clinica O.C. Lanciano, \*\*Ematologia O.C. Pescara

*Scopo del lavoro:* Nei pazienti (pz) oncologici, soprattutto se metastatizzati ed in chemioterapia, sono comuni le alterazioni dei parametri ematologici. Occasionalmente può manifestarsi anemia emolitica microangiopatica associata a tumori (MAHA), che può indicare disseminazione e/o complicare protocolli terapeutici con più farmaci in associazione. Si ipotizza in questi pz come meccanismo patogenetico un'embolia tumorale intravascolare: il segno principale è la presenza di schistociti nel sangue periferico, con presenza variabile di trombocitopenia (TCP). Abbiamo evidenziato attraverso l'automazione la presenza di schistociti in pz con tumori (Ca) per indirizzare ad esami di approfondimento nel sospetto diagnostico di MAHA.

*Materiali e Metodi:* Abbiamo analizzato 155 pz in terapia oncologica con tumore di varia origine, di cui 22 con metastasi. Il conteggio degli schistociti (FRC) è stato eseguito in automatico con contaglobuli Sysmex XE-2100 su canale di lettura dei reticolociti (metodo ottico laser in fluorescenza), confrontati con 74 donatori sani, confermati al microscopio ottico (MO). Sono stati isolati 4 pz con anemia, FRC, reticolociti e frazione immatura (IRF) elevati. I test di approfondimento sono stati: LDH, Bilirubina, test di coagulazione e di funzionalità renale ed epatica.

*Risultati:* La media di FRC è più elevata ( $p < 0,0001$ ) nei pz oncologici (1,7%) rispetto ai donatori sani (0,26%). I primi 3 pz studiati erano affetti da Ca della mammella di cui due con metastasi, il 4° da Ca del Colon. Valori ottenuti: 1° pz FRC 6,63%, HGB 8,9 g/dL, RET#  $149,8 \times 10^9/\mu\text{L}$ , IRF 37%, piastrine (PLT)  $467 \times 10^3/\mu\text{L}$ ; 2° pz: FRC 10,21%, HGB 9,90 g/dL, RET#  $142,40 \times 10^9/\mu\text{L}$ , IRF 33,2%, PLT  $233 \times 10^3/\mu\text{L}$ ; 3° pz: FRC 8,9%, HGB 10 g/dL, RET# 86,  $3 \times 10^9/\mu\text{L}$ , IRF 43,3%, PLT  $196 \times 10^3/\mu\text{L}$ ; bilirubina ind.  $> 2 \text{ mg/dL}$ ; LDH  $> 450 \text{ U/L}$ , test coagulativi nei limiti fisiologici. I risultati per il 4° pz sono stati: FRC 2,74%, HGB 8,90 g/dL, RET#  $176,60 \times 10^9/\mu\text{L}$ , IRF 30,6%, PLT  $118 \times 10^3/\mu\text{L}$ , creatinina 1,6 mg/dL, bilirubina ind. 1,7 mg/dL, LDH 400 U/L, test coagulativi nella norma. Nel 4° pz, si è in seguito sviluppata una HUS.

*Discussione:* La determinazione di FRC nei pz oncologici in cui la malattia di base rende multifattoriale la patogenesi dell'anemia assume un ruolo fondamentale. L'incremento di FRC infatti si può associare a presenza di metastasi. La semplicità di misura automatica permette di valutarne con immediatezza la presenza e se confermati al MO, di avviare approfondimenti per una diagnosi differenziale tra le anemie da insufficienza midollare per invasione tumorale, da emolisi o da disordine cronico. Il 3° pz al momento dell'esame non presentava metastatizzazione conclamata, proprio in questi casi uno stretto follow-up comprendente FRC evidenzierà precocemente una micrometastatizzazione.

## I NUOVI PARAMETRI ERITROCITARI DI COULTER LH780: LA NOSTRA ESPERIENZA NEI DIALIZZATI

A1-17

**I. Fusco, L. Iordache, S. Aterini, M. Amato**

Lab. Analisi – Unità nefrologia – Osp. Misericordia e Dolce, ASL4 Prato

Il nostro laboratorio di ematologia è in stretto contatto con il reparto di nefrologia dove vengono seguiti costantemente non meno di 150 pazienti dializzati in terapia antianemica. Ogni paziente viene monitorato mensilmente e trimestralmente per determinare la migliore terapia (ferro, eritropoietina, folati, etc.) Abbiamo studiato un gruppo di 68 pazienti dializzati nei mesi di DIC 07 (T0) e GEN 08 (T1), analizzando i dati emocromocitometrici di Coulter LH 780, ferritina, transferrina, ferro e % di transferrina satura.

*Scopo del lavoro:* abbiamo voluto approfondire le conoscenze sui nuovi parametri forniti da Coulter LH 780 e verificare la loro significatività nel monitoraggio terapeutico e nella classificazione dei pazienti dializzati secondo le linee guida NKF-KDOQI.

*Materiali e metodi:* Abbiamo analizzato 136 campioni (68 a T0 e 68 a T1) di pazienti dializzati e 29 campioni normali su Coulter LH 780 in modalità CBC/Diff/Ret, analizzandoli statisticamente insieme ai dati di ferro, ferritina e transferrina.

*Risultati:* i campioni di controllo hanno avuto valori medi (in unità US) di Hgb=15.2±0.8 MAF(myocrocytic anemia factor)=13.8±1 RSF (red size factor)=99±4.2 LHD% (low hemoglobin density)=1.7±0.8, mentre i pazienti (T0) Hgb=11.2±1.63 MAF=10.5±1.8 RSF=99±4.2 LHD=2.3±3.2. A T1 i pazienti hanno in media mostrato gli stessi valori. I valori di % Tfr Sat, Ferro, Ferritina e Transferrina non si sono modificati in media tra T0 e T1. I pazienti anemici (Hgb<11.5) sono stati classificati secondo NKF-KDOQI in 12 carenze di ferro e 25 carenze funzionali di ferro. Dall'analisi delle curve ROC dei parametri CBC e RET è emerso LHD% ad un cut-off di 2,63 ha sens=100% e spec=88,8% con un AUC=0.95. Il parametro RSF ha mostrato SE=83.3% SP=82.9% per un cut-off di 102.2 con AUC=0.83. Entrambi questi parametri sono in grado di evidenziare carenza di ferro. Abbiamo voluto investigare l'utilità dei parametri nel monitorare la terapia antianemica, classificando 19 responders (Delta-Hgb>0.5) e 49 non responders. Il parametro più sensibile nel differenziare i responders è risultato essere MAF: un cut-off di 0.22 della sua differenza ha SE=100% e SP=94%.

*Discussione e conclusioni:* I dati mostrati, seppur preliminari, offrono molti spunti di riflessione. I nuovi parametri di Coulter LH 780 risultano in grado di discriminare e classificare i pazienti in terapia antianemica. RSF e LHD% sono utili quanto ferritina e saturazione della transferrina. MAF e delta-MAF identificano i "Responders" alla terapia antianemica. Il lavoro è tuttora in corso con l'obiettivo di ricavare dai nuovi parametri di Coulter LH 780 informazioni importanti e predittive sullo stato anemico de i nostri pazienti dializzati e sugli effetti della terapia alla quale vengono sottoposti.

## PRESENTAZIONE ATIPICA DI HCL (HAIRY CELL LEUKEMIA)

A1-18

**P. D'Altoè, P. Doretto, P. Metus, D. Rubin, D. Poz, A. Picierno, P. Cappelletti**

Patologia Clinica, DML, AOSMA - Pordenone

*Scopo del lavoro.* Presentare il caso di una paziente filippina di 46 anni con astenia da un mese, dispnea, splenomegalia e marcata leucocitosi (WBC=164x103/μL), grave anemia (Hb=1,9 g/dL), piastrinopenia (PLT=57x103/μL) e iniziale quadro di CID; pancitopenia nel 2004 seguita per 6 mesi con persistenza di piastrinopenia (da 130 a 103x103/μL), ripresa della leucopenia (da 2,7 a 3,7x103/μL) e normalizzazione dei neutrofili (da 1,0 a 1,6x103/μL).

*Materiali e Metodi.* Sono stati eseguiti lo striscio periferico, l'aspirato midollare, la biopsia ossea e la tipizzazione linfocitaria su sangue midollare.

*Risultati.* L'esame morfologico del sangue periferico ha evidenziato una marcata linfocitosi (linfociti 98%, neutrofili 2%) rappresentata da elementi di piccole-medie dimensioni con estroflessioni citoplasmatiche. All'esame dell'aspirato midollare (sangue midollare aspirato con difficoltà e privo di frustoli) la cellularità è risultata costituita per il 100% da linfociti di piccola e media taglia, nucleo eccentrico, rotondeggiante od ovalare, raramente reniforme, piccoli nucleoli poco evidenti, cromatina moderatamente addensata, citoplasma da scarso ad ampio, grigio pallido, con piccoli vacuoli, talora con estroflessioni da fini a prevalentemente tozze (morfologia "hairy"). Alla tipizzazione linfocitaria la popolazione patologica aveva il seguente fenotipo: CD19+, sIg clonali D lambda, CD20+, FMC7+, CD79b+ brillante, CD103+, CD11c+, CD25+, CD23-, CD38-, CD10-, CD43-, CD11a-, CD2-, CD5-, CD7-. La biopsia ossea evidenziava un infiltrato linfoide (80-90%) a piccoli linfociti coerente con HCL.

*Discussione e Conclusioni.* La morfologia "hairy" dei linfociti non è specifica della HCL, ma caratterizza anche il linfoma splenico a linfociti villosi leucemizzato (SLVL) e le varianti note di HCL (HCL-v e la variante "giapponese" o HCL-J) e può presentarsi nella linfocitosi policlonale persistente a linfociti B (PLBL). L'esordio di HCL è classicamente caratterizzato da pancitopenia con spiccata monocitopenia e tricoleucociti in circolo scarsi o assenti, mentre SLVL si presenta con una modesta leucemizzazione. Se la cospicua linfocitosi periferica può far pensare nel nostro caso ad una HCL variante, manca tuttavia l'aspetto "prolinfocitoide"; la morfologia dei linfociti non permette neanche di discriminare chiaramente tra HCL e SLVL, presentando aspetti intermedi o variamente combinati delle due forme. I dati della tipizzazione linfocitaria risultano più indicativi: il fenotipo è quello atteso nella HCL classica (CD103+, CD11c+, CD25+), non nelle sue varianti note HCL-v e HCL-J (CD25-) e neanche nel linfoma splenico (CD103- e solitamente CD25-). Questo caso potrebbe rappresentare, quindi, o una diagnosi tardiva di HCL oppure una nuova variante di HCL con esordio clinico e morfologia atipici.

## ANALISI QUANTITATIVA AUTOMATIZZATA DEGLI ERITROBLASTI; CORRELAZIONE DI DUE METODI STRUMENTALI CON IL METODO DI RIFERIMENTO

A1-19

**S. Valentini\***, **R. Mancini\***

Laboratorio di Ematologia, Dipartimento di Ematologia Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

*Scopo del lavoro:* Gli analizzatori ematologici di fascia alta delle ultime generazioni, oltre a segnalare l'eventuale presenza di Eritrociti Nucleati nel sangue intero periferico, offrono la possibilità di refertarne i valori sia in senso assoluto (NRBC#) che in rapporto ai Leucociti (NR/W). Per verificare la corrispondenza dei valori numerici di NR/W di due sistemi impiegati in routine nel nostro laboratorio abbiamo eseguito una valutazione di correlazione con il metodo di riferimento in microscopia ottica.

*Materiali e Metodi:* Campioni provenienti da pazienti interni, selezionati direttamente nella sezione di Microscopia Ottica del nostro centro (2 diff exp / 200 cell / 2PB MGM) con il criterio della positività alla presenza di NRBC (max 3; min 0,5; med 8,5 NR/W), sono stati esaminati con gli analizzatori Cell Dyn Sapphire® (2.4) Abbott Laboratories, impiegante un metodo diretto in FL3 su luce laser, e con il sistema ADVIA® 2120 (5.2.9) Siemens Medical Solutions, impiegante un metodo di scatter ottico sul luce laser, entro due ore dal prelievo. Per entrambi gli analizzatori la modalità di processazione ai fini dei parametri richiesti è di tipo non selettivo e contestuale all'emocromo; nessuno dei medesimi impiega reagenti aggiuntivi garantendo sia praticità di impiego che costi gestionali contenuti. I valori refertati sono stati analizzati mediante foglio di calcolo elettronico.

*Risultati:* I dati prodotti dal Cell Dyn Sapphire® (max 27,3; min 1,27 med 8,01 NR/W) e quelli prodotti dall'ADVIA 2120® (max 25,4; min 1,9; med 5,25 NR/W) hanno mostrato con il metodo di riferimento in microscopia ottica correlazioni rispettive dello 0,971 e 0,959. Entrambi i sistemi non hanno rilevato la presenza di NRBC su due campioni con NR ortocromatici /W = 2/200. In un solo caso il sistema ADVIA® ha prodotto una sovrastima superiore alle 6 cellule / 200.

*Discussione e conclusioni:* Le tecnologie messe a disposizione del laboratorio dai produttori di sistemi automatici forniscono oggi ai fini dello screening, risultati complessivamente accettabili se pur con lievi differenze dovute alle tecnologie impiegate ed agli intenti di queste (differente interesse alla maggiore sensibilità o alla maggiore specificità). Rimane fondamentale la verifica microscopica prima della refertazione del dato numerico e costituisce un valido supporto al laboratorista il poter disporre di sistemi con tecnologie differenti e complementari.

## LA CONTA IMMUNOLOGICA DELLE PIASTRINE STRUMENTO DI ACCURATEZZA PER LA VALUTAZIONE DELLE PIASTRINOPENIE

A1-20

**M. Diquattro\***, **G. Ciofalo\***, **A.M. Tagliavia\***, **G. Giaccone\*\***, **S. Scola\***, **B. Palma\***

\*Laboratorio di Patologia Clinica P.O. Civico - A.R.N.A.S. Civico - Palermo; \*\*Abbott Laboratories

*Scopo del lavoro.* Abbiamo valutato la performance del metodo immunologico in presenza di un'interferenza nella conta piastrinica di un paziente piastrinopenico.

*Materiali e metodi.* Un campione di sangue intero in EDTAK3 di un paziente con diagnosi di mielodisplasia è stato analizzato con il sistema XE2100 Sysmex, ADVIA 120 Siemens e Sapphire Abbott con cui è stata eseguita la conta immunologica delle piastrine a temperatura ambiente e dopo riscaldamento a 37°C per un'ora.

*Risultati.* L'esame emocromocitometrico evidenziava pancitopenia. Le conte impedenziometriche ed ottiche risultavano inaccurate a causa di una interferenza suggestiva della presenza di paraproteine. Il cluster piastrinico con il metodo ottico del Sapphire a temperatura ambiente si collocava di fuori del gate; dopo riscaldamento a 37°C per un'ora si posizionava nel gate. La conta immunologica identificava sia a temperatura ambiente che a 37°C il cluster piastrinico, evidenziando al di sopra di esso un cluster CD61 negativo (fig.1).

*Conclusioni.* Quando l'osservazione dei citogrammi evidenzia la presenza di interferenze plasmatiche sulla conta piastrinica è opportuno utilizzare il metodo immunologico soprattutto in caso di severa piastrinopenia.

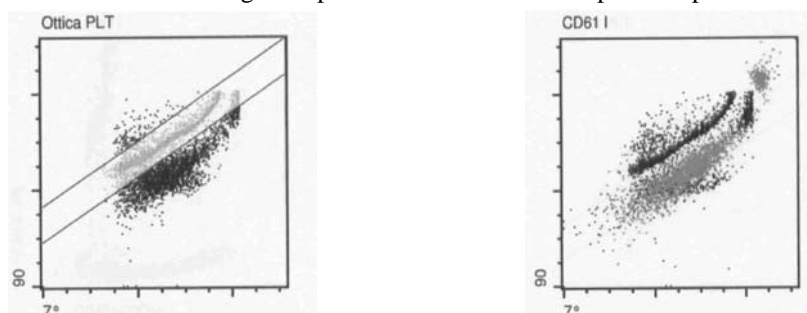


Fig.1: Sapphire, Abbott, dot plot ottico e immunologico del campione a temperatura ambiente.

## **PREDITTIVITA' DI UN PARAMETRO FORNITO IN AUTOMAZIONE SULLA VITALITÀ CELLULARE SU CAMPIONI DI CELLULE STAMINALI CD34+ PRIMA DELLA RE-INFUSIONE TERAPEUTICA**

A1-21

**S. Valentini, M. Bianchi\*, N. Piccirillo\*, P. Puggioni\*, C. Rumi\*, G. Zini**

Centro di Ricerca ReCAMH, Laboratorio di Ematologia e Servizio di Emotrasfusione\*

Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

*Scopo del lavoro.* Il sistema Cell Dyn Sapphire Abbott (CDS) utilizza un approccio citometrico a flusso con differenti fluorescenze per l'analisi del sangue periferico (SP). In aggiunta ai parametri di routine, fornisce un indice di vitalità leucocitaria (WVF) percentuale rispetto ai leucociti totali (WBC) impiegando lo Ioduro di Propidio (PI) come legante per il DNA (modalità emocitometrica). Inoltre il sistema utilizza una seconda tecnologia di tipo citofluorimetrico su campioni trattati con anticorpi monoclonali e anche con questo tipo di analisi è possibile valutare la vitalità cellulare in senso percentuale (modalità citofluorimetrica). Abbiamo analizzato la % di vitalità cellulare ottenuta con CDS con quella ottenute con 2 metodiche di routine, la determinazione citofluorimetrica (CFL) e quella microscopica (MO). Scopo dello studio è quello di valutare la possibilità di impiegare l'indice (WVF) come metodo di screening semplice, rapido e a basso costo per valutare la vitalità cellulare prima della infusione terapeutica.

*Materiali e Metodi:* Sono stati analizzati 23 campioni consecutivi di cellule staminali emopoietiche CD34+ raccolte a fini trapiantologici mediante aferesi da SP di pazienti onco-ematologici per valutare la vitalità cellulare con le seguenti metodiche:-analisi CFL mediante il citofluorimetro BDFACS utilizzando l'anticorpo (CD) anti-actinomicina D,-conteggio al MO in camera di Neubauer dopo colorazione con Tripan Blu,-analisi con il CDS. Per l'analisi CFL sono stati usati CD purificati Dako CD45 FITC e CD 34PE. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il programma MedCalc.

*Risultati.* L'analisi statistica dei dati ha evidenziato i seguenti risultati: i) un coefficiente di correlazione pari a  $r = 0,9889$  ( $p < 0,0001$ ) tra i valori di cellule CD 34+ ottenuti dal CDS e quelli ottenuti dal FACS; ii) una correlazione pari a  $r = 0,5503$  ( $p = 0,0065$ ) tra la % di cellule vitali fornita dal CDS, modalità emocromocitometrica, e il MO; iii) un coefficiente di correlazione pari a  $r = 0,5502$  ( $p = 0,0065$ ) tra la % di vitalità cellulare fornita dal CDS, modalità emocromocitometrica, e il FACS; iv) un coefficiente di correlazione pari a  $r = 0,6282$  ( $p = 0,001395$ ) tra la % fornite da CDS (modalità citofluorimetrica) e il FACS. I risultati di questo studio pilota suggeriscono la possibilità di impiegare l'indice di cellule vitali fornito dal CD Sapphire in modalità emocromocitometrica su raccolte di cellule saminali CD34+ come screening immediato e a basso costo nella fase di pre-infusione terapeutica. Una valutazione multicentrica è necessaria per validare questa metodica nella routine.

## **CONTEGGIO DEGLI ERITROBLASTI SU SANGUE PERIFERICO: CONFRONTO TRA IL METODO MICROSCOPICO E CONTEGGIO AUTOMATICO CON CONTAGLOBULI ADVIA 2120**

A1-22

**M.G. Silvestri, G. Covili Faggioli, M. Laudadio, F. Fortuna, A. Marrocchi, T.P. Papillo, E. Di Somma**

Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina di Laboratorio,

Azienda Ospedaliero-Universitaria S.Orsola-Malpighi, Bologna

*Scopo del lavoro:* Gli eritroblasti (NRBC), precursori degli eritrociti, sono presenti nel midollo osseo con grado di maturità definibile in base alle caratteristiche morfologiche, si trovano fisiologicamente nel circolo periferico in gravidanza, nel periodo fetale e neonatale tendendo a scomparire entro la prima settimana dalla nascita, al di fuori di queste condizioni la loro presenza si associa a condizioni patologiche. La laboriosità del conteggio al microscopio degli eritroblasti ha sempre ostacolato un uso clinico del dato, l'attuale disponibilità di conteggi automatici accurati e riproducibili ha consentito di acquisire ulteriori informazioni nelle patologie ematologiche. Con questo studio si è confrontata l'accuratezza del conteggio automatico con quella ottenuta al microscopio.

*Materiali e metodi:* Sono stati selezionati dalla routine 75 campioni sui quali è stato eseguito l'esame emocromocitometrico entro 8 ore dal prelievo in provette contenenti come anticoagulante K3-EDTA. Tutti i campioni presentavano allarme strumentale NRBC+, il conteggio automatico è stato ottenuto con il contaglobuli SIEMENS ADVIA 2120, espresso come percentuale e come valore assoluto; tramite elaborazioni del software si è ottenuta la correzione del valore assoluto dei globuli bianchi (WBC) e della formula leucocitaria, la sensibilità clinica strumentale è stata fissata in 2/100 WBC. Sugli stessi è stato eseguito il conteggio al microscopio secondo le linee guida NCCLS-H20A da due operatori, le stesse analisi sono state eseguite su 20 campioni di controllo senza allarme NRBC selezionati in maniera randomica dalla routine.

*Risultati:* Il metodo automatico ha dimostrato una discreta correlazione con la microscopia ( $r=0.78$ ). La sensibilità e la specificità per la presenza di eritroblasti è 95% la prima e 25% la seconda; il calo della specificità è verosimilmente dovuto all'interferenza di piastrine giganti, anisocitosi piastrinica, schistociti, il migliore rapporto sensibilità e specificità (65% e 88%) si è ottenuto elevando il cut-off di sensibilità clinica per la presenza di eritroblasti al 3.5%. I campioni senza allarme NRBC si sono confermati tutti veri negativi al microscopio.

*Discussione e conclusioni:* Il conteggio automatico degli eritroblasti si è dimostrato accurato e preciso in confronto al conteggio microscopico per un valore percentuale di eritroblasti  $>3.5\%$ , a basse conte il metodo risente delle interferenze di alcune anomalie morfologiche, inoltre è più rapido e semplice poiché non richiede la correzione manuale dei globuli bianchi.

**UTILITÀ DEL PARAMETRO IPF NELLE EPATOPATIE (EPP)****A1-23****M. Golato\*, D. Marino\*, C. Di Sciascio\*, V. Taddeo\*, F. Di Luca\*, L. Di Cinto\*, F. Indino\*, P. Salutarì\*\***

\*Patologia Clinica O.C. Lanciano, \*\*Ematologia O.C. Pescara

*Scopo del lavoro:* La trombocitopenia (TCP) è una delle alterazioni dei parametri ematologici di più frequente riscontro in corso di EPP. La TCP può essere causata da: 1) alterata distribuzione per ipersequestro da splenomegalia relativa all'ipertensione portale; 2) aumentata distruzione di PLT da autoanticorpi; 3) riduzione della piastrinopoiesi per blocco midollare dei megacariociti (MK) nelle EPP ad eziologia infettiva, alcolica, da deficit di folati e/o alterato controllo degli MK da deficit di sintesi epatica di Trombopoietina (TPO). Nelle TCP periferiche un meccanismo compensativo induce aumento di PLT immature reticolate, ricche in RNA, valutabile attraverso il parametro IPF (Frazione di Piastrine Immature); mentre nelle forme da deficit di produzione le PLT reticolate sono ridotte o normali. Abbiamo studiato IPF quale indice indiretto della megacariocitopoiesi, per monitorare la ripresa della piastrinopoiesi.

*Materiali e Metodi:* 48 pazienti (pz) epatopatici in diversi stadi e gravità di malattia GRUPPO A: 11 pz con EPP cronica alcolica ed infettiva HCV+; GRUPPO B: 25 pz con EPP cronica attiva e cirrosi compensata; GRUPPO C: 12 pz con cirrosi scompensata. Valutati: emocromo, indici di funzionalità d'organo (AST, ALT,  $\gamma$ GT), carica virale in biologia molecolare, agoaspirato midollare nel sospetto di blocco dei MK. Il monitoraggio della piastrinopoiesi è stato eseguito con l'analizzatore Sysmex XE-2100 con conteggio di PLT e IPF (metodo ottico laser in fluorescenza- coloranti polimetilici per RNA).

*Risultati:* I 3 gruppi mostravano i seguenti valori medi di PLT ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ): A=80, B=71, C=80, tutti statisticamente inferiori rispetto a 235 dei 74 campioni di donatori sani ( $p < 0,0001$ ). I valori medi di IPF in % risultavano diversificati secondo le patologie analizzate: A= 4,45 e C = 4,20 entrambi non statisticamente differenti rispetto a 3,55 dei normali (A  $p=0,0862$ , C  $p=0,0837$ ); B, invece, 10,7 statisticamente elevato rispetto ai normali ( $p < 0,0001$ ).

*Discussione:* I nostri dati dimostrano che è presente una scarsa risposta midollare alla TCP (IPF ridotto o normale), nelle forme di EPP infettive o alcoliche e nelle cirrosi scompensate, dovuta al blocco maturativo dei MK per effetto diretto di agenti tossici nel 1° caso, e anche ad un deficit di sintesi epatica di fattori di crescita per MK, nel 2° caso. Le EPP croniche attive e le cirrosi compensate mostrano invece un elevato IPF a fronte della stessa entità di TCP degli altri gruppi per una residua attività epatocellulare con relativa risposta midollare. L'IPF risulta utile per monitorare il turnover piastrinico ed avere una indicazione indiretta della compromissione midollare in particolare nelle EPP in cui possono essere presenti più meccanismi patogenetici evitando al paziente approfondimenti diagnostici invasivi.

**DOSAGGIO QUANTITATIVO DEL CD64 ESPRESSO SUI GRANULOCITI NEUTROFILI (PMN) COME MARCATORE PRECOCE DI SEPSI****A2-01****G. Lobreglio, P. D'Aversa, L. Russo, L. Leo**

U.O. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera "Card. G. Panico", Tricase

*Scopo del lavoro.* Gli attuali metodi e procedure per la diagnosi di sepsi sono gravati da bassa sensibilità e lunghi tempi di risposta, inadeguati alle necessità di instaurare un intervento terapeutico rapido, tempestivo ed efficace. Recenti studi hanno dimostrato il precoce incremento del CD64 (recettore ad alta affinità per l'Fc delle Ig) sui PMN di pazienti con infezioni sistemiche. Lo scopo di questo lavoro è di valutare l'espressione del CD64 in pazienti con sepsi/shock settico e di correlarlo con i marcatori biochimici attualmente in uso, procalcitonina (PCT), interleuchina-6 (IL-6), PCR, VES e con i risultati degli esami colturali.

*Materiali e metodi.* Sono stati analizzati 24 pazienti affetti da sepsi e 3 da infezione grave (gruppo 1) ricoverati nelle diverse U.O. di Terapia Intensiva della nostra Azienda Ospedaliera, e 25 pazienti ambulatoriali come controllo (gruppo 2). La determinazione del CD64 è stata effettuata su sangue periferico anticoagulato con EDTA con il kit Leuko64 (Trillium Diagnostics, USA) su analizzatore ematologico CELL-DYN Sapphire (Abbott Laboratories, USA) ed analisi dei dati con software FCS Express. Il test utilizza una miscela di due anticorpi monoclonali anti CD64 coniugati con FITC, un anticorpo monoclonale anti CD163 PE, e biglie calibrate per la determinazione automatica del gating dei clusters cellulari e la determinazione dell'index; è stato considerato positivo per un indice di espressione di  $\text{CD64} > 1,5$ .

*Risultati.* Un  $\text{CD64 index} > 1,5$  è stato osservato in 26/27 pazienti affetti da sepsi o infezione sistemica confermata colturalmente; in un solo paziente con esame colturale positivo il  $\text{CD64 index}$  è risultato di 1,43; in tutti i soggetti di controllo il  $\text{CD64 index}$  è risultato inferiore al cut-off, con sensibilità di 96,65%, specificità di 100%, VPP=100%, VPN=80%, superiori rispetto alle prestazioni ottenute dal dosaggio dei PCT: sensibilità=69,56%, specificità=91,66%, VPP=93,75%, VPN=27,27%. Il  $\text{CD64 index}$ , inoltre, ha mostrato bassa correlazione con gli altri parametri biochimici determinati: PCR, VES, IL-6.

*Discussione e conclusioni.* Sulla base dei risultati ottenuti il  $\text{CD64 index}$  sembra essere un marcatore precoce di sepsi, con elevati sensibilità, specificità, VPP e VPN, con prestazioni diagnostiche migliori rispetto ai parametri biochimici attualmente in uso; in considerazione della semplicità e rapidità di esecuzione del test su piattaforma ematologica/citofluorimetrica è prevedibile che questo parametro possa trovare una più ampia diffusione nella pratica clinica e contribuire ad un più rapido approccio diagnostico e prognostico-terapeutico ai pazienti settici.

## PERFORMANCE OF AUTOMATED PLATELET QUANTIFICATION BY USING EVOLVED ANALYSER IN COMPARISON WITH AN IMMUNOLOGICAL REFERENCE METHODS IN THROMBOCYTOPENIC PATIENTS

A2-02

**S. Valverde, E. Trabuio, F. Antico, G. Gessoni**

Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale di Chioggia (VE)

*Background:* rapid and accurate analysis of platelet count plays an important role in evaluating hemorrhagic status and in assess the need of platelet transfusion. Therefore the authors evaluated platelet counting performance of haematology analysers using optical impedance and immunological methods in thrombocytopenic patients.

*Materials and Methods:* We considered 99 patients with platelet count under  $50 \times 10^9$  plt/L. We compared platelet counting obtained by using ADVIA 2120 (optical method), Cell-Dyn Sapphire (optical, impedance and immunological methods with CD61), in comparison with a double staining (CD41+CD61) immunological method.

*Results:* All the considered methods showed a good correlation with the reference's one despite a overestimation in platelet quantification. The inaccuracy degree are higher at platelet count under  $20 \times 10^9$  plt/L. The use of Bland-Altman test confirmed these observation: the mean platelet quantification obtained by using the reference immunological method (CD41+CD61)  $5 \times 10^9$  plt/L lower than mean data obtained with ADVIA optical method,  $2 \times 10^9$  plt/L lower than data obtained with Cell-Dyn impedance and optical methods,  $0.3 \times 10^9$  plt/L lower than data obtained with Cell-Dyn immunological (CD61) method.

*Conclusions:* Clinicians who utilize platelet thresholds below  $20 \times 10^9$  must be aware of the limitations in precision and accuracy of cell counters at this level of platelet count. Accurate counting of low platelet numbers may create difficulties when trying to reduce the threshold below  $20 \times 10^9$

## LEUCODEPLEZIONE UNIVERSALE PRE STORAGE: VALUTAZIONE DEI LEUCOCITI RESIDUI IN CITOFLUORIMETRIA

A2-03

**S. Valverde<sup>1</sup>, A. Giacomini<sup>1</sup>, E. Trabuio<sup>1</sup>, F. Antico<sup>1</sup>, G. Ruffato<sup>2</sup>, M. Salvadego<sup>2</sup>, G. Gessoni<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Servizio di Medicina di Laboratorio; <sup>2</sup>Centro Trasfusionale A-ULS 14 Chioggia

*Premesse:* Il Servizio Trasfusionale della A-ULS 14 di Chioggia, nell'ambito di una armonizzazione delle procedure produttive in ambito Provinciale ha adottato la leucodeplezione universale pre-storage per tutti gli emocomponenti cellulari. E' stato quindi necessario implementare un sistema per la valutazione dei leucociti residui per valutare la qualità degli emocomponenti prodotti.

*Materiali e Metodi:* Per la valutazione di WBC residui è stato utilizzato un citofluorimetro Beckman-Coulter Epics XL ed un kit commerciale (LeukoSure Enumeration Kit della Beckman-Coulter) il test utilizza come marcatore fluorescente lo ioduro di propidio. Il metodo adottato comporta la lisi e permeabilizzazione del campione che poi viene trattato con ioduro di propidio ed RNAsi. Il marcatore si lega specificatamente al DNA a doppia elica riconoscendo gli elementi nucleati. Il metodo è accreditato per un range dinamico da 0 a 400 elementi microlitro. La valutazione è stata condotta in doppio utilizzando in parallelo la conta microscopica in camera di Nageotte. Le unità di sangue intero (450 mL) vengono raccolte in sacche quaduple top&bottom Fresenius (Ref T3977 con filtro in linea RCC).

*Risultati:* Dal mese di Gennaio al mese di Agosto 2008 abbiamo valutato 48 unità di emazie concentrate deleucocitate. Il volume medio delle unità era di 250 mL. Utilizzando il metodo in Citofluorimetria il numero assoluto dei leucociti residui per unità era compreso tra 15.000 ed 81.000 (28.125+16.855). Utilizzando la camera di Nageotte il numero assoluto di leucociti residui era compreso tra 10.000 e 120.000 (55.437+63.783).

*Discussione:* I risultati ottenuti nel nostro SIT sono assolutamente soddisfacenti in quanto in tutti i campioni abbiamo ottenuta una stima dei WBC residui inferiore a 200.000 per unità di GRC. La valutazione della qualità dei preparati leucodepleti tradizionalmente condotta con metodo manuale con camera citometrica di Nageotte può oggi essere implementata con strumentazione citofluorimetrica con evidenti vantaggi di accuratezza e precisione.

## A PROPOSED DIAGNOSTIC APPROACH TO MOLECULAR PATHOPHYSIOLOGY OF INHERITED DISORDERS IN HAEMOGLOBIN SYNTHESIS

A2-04

**C. Vendramin, C. Dellora, R. Portalupi, A. Appiani, R. Rolla, G. Bellomo**

SCDU Laboratorio Ricerche Chimico Cliniche, AOU Maggiore della Carità, Novara

*Aim:* The purpose of this study was to investigate a diagnostic approach to molecular pathophysiology of inherited disorders in haemoglobin (Hb) synthesis with the most appropriate screening criteria.

*Methods:* Peripheral blood samples were routinely collected into EDTA. Between November 2007 and January 2008 258 samples were processed for HbA2 quantification. The initial tests included a complete blood cell count, with the determination of Hb, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular Hb (MCH), mean corpuscular Hb concentration (MCHC) (Sysmex XE 2100, Dasit Group), and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for HbA2 and HbF quantification and identification of Hb variants (HbS, HbD, HbC) (Variant II Dual Kit program, Bio-Rad).

*Results:* Thirty-one patients (12.1%) with HbA2 concentration  $\geq 3.5\%$  were considered "positive", 69 patients (26.7%) with HbA2 concentration between 3.0% and 3.5% were identified as "grey area", in the remaining 158 patients (61.2%) the HbA2 concentration resulted  $< 3.0\%$  and they were considered "negative". In the "positive" patients mean value of HbA2 was  $5.4 \pm 1.8\%$ , of MCV was  $66.6 \pm 11.78$  fl, of MCH was  $21.4 \pm 4.24$  pg, of MCHC was  $32.0 \pm 1.61$  g/dl. Then, 258 patients were divided into two groups on the basis of the MCV: 71 patients (27.5%), showing MCV  $< 80$  fl; 187 patients (72.5%) showing MCV  $> 80$  fl. Among 71 patients with MCV  $< 80$  fl, 25 patients were "positive" (80.6%), 6 patients were in the "grey area" (8.7%), 40 patients were "negative" (25.3%). A second level molecular biology analysis has been performed for some of the patients in the "grey area" and for the ones with HbA2  $\geq 3.5\%$ . Using this analysis, 30 (73%) patients had  $\beta$  thalassemia trait, 2 (5%)  $\alpha$  thalassemia trait, 6 (15%) non specified mutations and 3 (7%) absence of mutations. From the statistical analysis emerged that MCV showed a relatively high sensitivity (80.6%) and a very high negative predictive value (96.8%).

*Conclusions:* On the basis of the results of this study we have built a diagnostic approach which leads to a more efficient request of Hb chromatography and we have also identified the better HbA2 cut-off as 3.5%.

## SPLENOMEGALY AND MILD HAEMOLYTIC ANAEMIA IN A PATIENT DOUBLE HETEROZYGOTE FOR HbC AND HbO-Arab

A2-05

**C. Vendramin, L. Zeno, M. Manzini, S. Piccotti, C. Dellora, G. Bellomo**

SCDU Laboratorio Ricerche Chimico Cliniche, AOU Maggiore della Carità, Novara

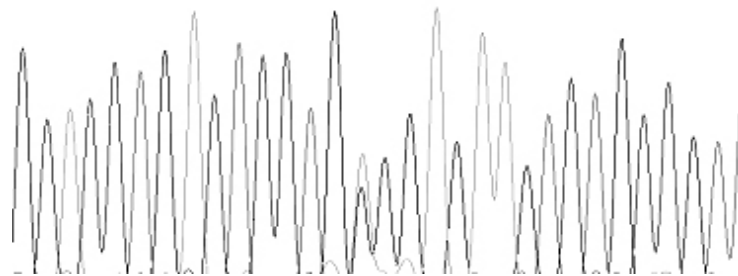
We report the case of a 35-year old Moroccan man who presented with mild haemolytic anaemia, characterized by red cells with reduced mean corpuscular volume (MCV, 71,1 fl), reduced mean corpuscular haemoglobin (MCH, 26,2 pg), increased mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC, 36,9 g/dl) and increased reticulocytes (RET,  $29,1 \times 10^3$ ) (Sysmex XE 2100, Dasit Group). The peripheral blood smear showed hypochromic microcytic red cells and target cells. The results of biochemical parameters were: serum iron 78  $\mu$ g/dl, total iron binding capacity (TIBC) 150 mg/dl, transferrin saturation (TS) 37% and serum ferritin 245 ng/ml, total bilirubin 1,81 mg/dl, indirect bilirubin 1,04 mg/dl, LDH 338 U/l (Advia 2400 and Advia Centaur, Siemens Healthcare) and aptoglobin 8 mg/dl (BN2, Dade Behring). The patient presented headache and splenomegaly. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) showed Hb variant peaks: HbF 0,6%, HbA2 4,3%, an unknown peak 43%, HbC 45% (Variant II Dual Kit program, Bio-Rad). The presence of HbC was confirmed using  $\beta$ -Globin StripAssay (ViennaLab Diagnostics GmbH). There was no evidence of mutations on the  $\alpha$ -globin gene using  $\alpha$ -Globin StripAssay (ViennaLab Diagnostics GmbH). The DNA analysis confirmed the heterozygous for HbC ( $\beta 6$  Glu $\rightarrow$ Lys) on an allele and showed the heterozygous for HbO-Arab ( $\beta 121$  Glu $\rightarrow$ Lys) on the other allele.

In our case the patient resulted double heterozygote for HbC and HbO-Arab and presented splenomegaly and mild haemolytic anaemia, in contrast with the literature where heterozygotes for either HbC or HbO-Arab were described without clinical and laboratory abnormalities. If we consider the erythrocytic pathophysiology of HbO-Arab which involves the dehydration of red cells due to the K:Cl cotransport system, we can hypothesize that this pathological activity is connected with a charge-dependent interaction of HbO-Arab and HbC with the red cell membrane and/or its cytoskeleton. This abnormality could depend upon the similarity of the charge or the similar consequences of the presence of two mutations which occur at opposite ends of the  $\beta$ -chain. This abnormality occurs early in red cell development and predisposes its carriers to an additional haemolytic risk factor, which can explain mild haemolytic anaemia and a consequent splenomegaly. In some occasions splenectomy is needed because of hypersplenism and mechanical encumbrance, as for the patients with thalassemia intermedia.



**CARATTERIZZAZIONE DI UNA NUOVA VARIANTE EMOGLOBINICA****A2-06****D. Tanca\*, G. Devoto\*, F. Deiana\*, B. Luciano\*, A. Lisi\*, G. Ivaldi\*\***

\*Laboratorio Analisi, ASL4 Chiavarese, Lavagna; \*\*Laboratorio di Citogenetica, Centro Microcitemie Osp. Galliera, Genova

*Scopo del Lavoro:* identificazione di una nuova variante emoglobinica.*Materiali e Metodi:* durante la valutazione di un cromatogramma eseguito per sospetto trait talassemico abbiamo evidenziato la presenza di un picco identificato dallo strumento come HbS (VariantII, Biorad). La negatività del test di sickling ci ha indotto ad eseguire la caratterizzazione molecolare della variante emoglobinica tramite l'analisi della sequenza nucleotidica.*Risultati:* abbiamo evidenziato a livello del codone 6 del gene beta globinico la presenza della mutazione A>G allo stato eterozigote. Tale mutazione determina una sostituzione aminoacidica GLU>GLI. Tale variante non appare instabile ai test specifici e considerando che il codone 6 è coinvolto in contatti all'esterno della struttura terziaria, si può dedurre che la mutazione non dovrebbe determinare variazioni per quanto riguarda il legame con l'O<sub>2</sub>.*Discussione e Conclusioni:* tale variante emoglobinica non è mai stata descritta ed è stata denominata Hb Lavagna. Analoga mutazione è nota e documentata sul codone 7 e corrisponde alla Hb G. St. Josè. Nulla è possibile prevedere sul piano clinico nel caso la variante Lavagna dovesse associarsi ad altro difetto delle catene beta (talassemie e/o varianti).**Analisi della sequenza nucleotidica**

Beta 6 Glu>Gly ( Adenina > Guanina)  
GAG>GGG nel codone 6 in beta

**UTILITA' DELLA CITOFUORIMETRIA NELLA DIAGNOSI PRECOCE DI RECIDIVA DI TRICOLEUCEMIA****A2-07****C. Scafuro**

Dipartimento dei servizi Sanitari, Laboratorio di Patologia Clinica, Vibo Valentia

*Premessa e scopo del lavoro:* La citofluorimetria rappresenta uno strumento rapido e potente per la definizione della linea di appartenenza di una popolazione di cellule e del loro stato di maturazione. Il GdS-E della SIMeL conferma la difficoltà, tuttora presente per tutti gli analizzatori ematologici, nella valutazione di alcune popolazioni cellulari tale per cui non riesce soddisfacente il risultato in termini di precisione ed accuratezza analitica. La citofluorimetria integrandosi con gli analizzatori ematologici colma questo gap rendendo più accurata la diagnostica ematologica.*Scopo del lavoro* è la descrizione di un caso di recidiva di HCL diagnosticato con l'ausilio della citofluorimetria.*Materiali e metodi:* un uomo di anni 69 è pervenuto alla nostra osservazione in seguito all'insorgenza di sintomi sistemici (astenia, febricola, dolori osteo-articolari); all'anamnesi unico dato significativo il riscontro di una splenectomia eseguita in corso di trattamento di HCL, successiva remissione. L'esame emocromocitometrico mostrava i seguenti dati: WBC= 3500/uL, Hb= 10,4 g/dl, PLT= 89.000/uL; linfocitosi modesta. All'esame microscopico si evidenziava la presenza di alcune cellule mononucleate con presenza di estroflessioni citoplasmatiche. Il fenotipo leucocitario è stato eseguito sul sangue intero col Citofluorimetro Epics-XI utilizzando un pannello di Abmo specifico.*Risultati:* il fenotipo delle cellule esaminate presentava il seguente quadro: CD19+, CD22+, CD5, CD10, CD103+, CD11c+, CD25+. L'esame morfologico del periferico e l'immunofenotipo confermavano la recidiva della leucemia a cellule capellute.*Discussione e conclusioni:* la leucemia a tricoleucociti è una rara forma di leucemia cronica (2% delle leucemie linfoidi) che si presenta con un pattern fenotipico specifico. La caratteristica della HCL è la presenza nel sangue periferico di cellule mononucleate di taglia medio-grande con elevato rapporto nucleo-citoplasma; delicate propaggini citoplasmatiche che simulano la presenza di villi. Nel caso in esame, il sospetto della presenza in circolo di cellule capellute è stato confermato dall'immunofenotipo, permettendo di eseguire rapidamente una corretta diagnosi. La diagnostica delle neoplasie ematologiche rappresenta uno dei più avanzati campi di applicazione della citofluorimetria a flusso.

## RUOLO DELLA CITOMETRIA A FLUSSO NELLA DIAGNOSI DI EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA (EPN)

A2-08

**C. Arfini<sup>o</sup>, M.M. Ciriello<sup>o</sup>, T. Callegari<sup>o</sup>, L. Calcagno<sup>o</sup>, A. Bellora\***

<sup>o</sup> Dipartimento Patologia Clinica, \*SOC Ematologia. Azienda Ospedaliera S.S. Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria

*Scopo del lavoro.* L'EPN è una rara forma di anemia emolitica caratterizzata da emolisi intravascolare, insufficienza midollare e tendenza alla trombosi, la cui patogenesi è legata alla mutazione somatica del gene PIG-A (braccio corto cromosoma X) nella cellula staminale che dà origine al clone cellulare patologico. Tale alterazione determina un deficit parziale o totale di tutte le proteine legate alla membrana attraverso l'ancora GPI (glicosilfosfatidilinositolo), per esempio il CD55 (DAF) e il CD59 (Protectina o MIRL). Con questo lavoro vogliamo evidenziare come l'analisi immunofenotipica in citometria a flusso di proteine GPI-ancorate (GPI-AP) su eritrociti e leucociti, sia un test rapido, sensibile e specifico per lo screening e la diagnosi di EPN.

*Materiali e Metodi.* Immunofenotipo in citometria a flusso con metodo diretto e pannello anticorpale: CD59PE su eritrociti e granulociti, CD66bFITC su granulociti, CD48PE su linfociti, CD14FITC/CD33PE e CD48PE/CD33APC su monociti. Il test è positivo quando si evidenzia carenza o assenza di almeno due GPI-AP su due linee cellulari.

*Risultati.* Dal 1999 il nostro laboratorio ha testato il sangue periferico di 82 pazienti con sospetto clinico di EPN, riscontrando presenza di clone EPN in 4 pazienti. Per 3 di essi abbiamo evidenziato la presenza di un clone EPN tipo III (deficit completo di proteine GPI-AP), mentre il IV è risultato portatore di un clone EPN tipo II (deficit parziale). In tutti i casi si trattava di EPN primitiva, con evidenza clinica di emolisi intravascolare.

*Discussione e Conclusioni.* L'analisi immunofenotipica delle GPI-AP su emazie e leucociti è il test specifico per la diagnosi di EPN. La dimostrazione di carenza o assenza di alcune GPI-AP permette di classificare il tipo di EPN (II o III). Recentemente il test viene utilizzato in trial clinici per valutare la risposta alla terapia con Eculizumab, un anticorpo monoclonale diretto contro la frazione C5 del complemento, che riduce l'emolisi intravascolare in pazienti affetti da EPN.

## NEW RETICULOCYTE PARAMETERS AS POTENTIAL MARKERS OF IRON AVAILABILITY IN HAEMODIALYSIS PATIENTS DURING IRON AND ERYTHROPOIETIN THERAPY

A2-09

**G. Bellomo, R. Serino, G. Bertani, S. Tota, C. Navino, A. De Mauri, C. Dellora, C. Vendramin**

SCDU Laboratorio Ricerche Chimico Cliniche, AOU Maggiore della Carità, Novara

*Aim:* Our aim was to evaluate iron availability in haemodialysis patients during iron and erythropoietin (EPO) therapy.

*Methods:* This study included 82 patients (50 men and 32 women) with a mean age of 68 years (range, 33-86 years) who were receiving regular haemodialysis three times a week. Patients had been treated with iron and EPO. Haematological parameters were assayed on Sysmex XE 2100 (Dasit Group). Biochemical and immunochemical parameters were assayed on Advia 2400 and Advia Centaur (Siemens Healthcare). The tests included complete blood count, reticulocyte parameters, serum iron, total iron binding capacity (TIBC), transferrin saturation (TS) and serum ferritin.

*Results:* At first, iron status was evaluated in all the patients: serum iron was 51.11 (10 - 127) mg/dl, TIBC was 156.58 (78 - 261) mg/dl, TS was 23.91 (5 - 50) %, serum ferritin was 339.27 (26 - 1374) mg/dl, haemoglobin (Hb) was 11.50 (8.9 - 14.6) g/dl and red blood cells were 3.87 (2.59 - 4.91) ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ). There was no correlation between Hb and serum iron or TIBC or TS or serum ferritin. MCH values were correlated with serum ferritin ( $r=0.228$ ,  $p=0.004$ ). MCHC values were related to serum iron ( $r=0.399$ ,  $p=0.001$ ) and TS ( $r=0.323$ ,  $p=0.003$ ). Some patients resulted iron deficient. Then, in a second step the new red cells parameters were analysed to determine iron availability: in all the patients mean value of reticulocyte haemoglobin equivalent (RET-He) was 32.42 (24.4 - 38.4) pg. We considered the value of 30.5 pg for RET-He to determine patients needing iron supplementation, as reported in literature. Patients were divided into two groups according to RET-He, but the cut-off value of RET-He did not differentiate the two groups in iron-deficient or iron-sufficient. Then we considered delta-He (D-He), which is the difference between the average haemoglobin equivalents for red blood cells and reticulocytes, respectively. It is a sensitive indicator for changes in the haemoglobin content of reticulocytes. The mean value of D-He resulted 2.55 (-1.9 - 6.0) pg.

*Conclusions:* In the patients here investigated, RET-He did not seem to differentiate between patients who need iron and/or EPO therapy. Haemodialysis patients were characterized by several clinical changes. In this study we found patients with low TS and normal serum ferritin and patients with normal TS and low serum ferritin. D-He was positive in the large majority of the patients, thus suggesting an iron-sufficient condition. We also have to consider the effect of previously administered iron and EPO therapy.

**EMOGLOBINA S ETEROZIGOTE E GRAVIDANZA****A2-10****M. Mercadanti, A. Caleffi, C. Monica**

U.O. Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Parma

*Introduzione:* L'emoglobina S è la variante strutturale più frequente nel mondo ed in Italia.

L'appropriatezza della richiesta per la determinazione dell'assetto emoglobinico assume particolare rilevanza in gravidanza, condizione in cui sono preminenti i risvolti eugenetici. Il nostro lavoro si prefigge di valutare se nelle gravide portatrici di Hb S esistono alterazioni degli indici eritrocitari suggestive per emoglobinopatie e se la percentuale della variante è influenzata dalla gravidanza.

*Materiali e metodi:* Sono stati valutati gli indici eritrocitari (RBC, Hb, MCV) e l'assetto emoglobinico in 23 gravide portatrici di Hb S eterozigote. Per gli indici eritrocitari è stato utilizzato il contaglobuli XE-2100 Dasit. Lo screening per emoglobinopatie è stato condotto in HPLC (Variant II Bio-Rad, Milano), la conferma della Hb S è stata eseguita mediante test di falcizzazione e migrazione elettroforetica alcalina. I parametri valutati sono stati confrontati con quelli di un gruppo di controllo costituito da portatrici Hb S non gravide: per ogni caso è stato scelto un controllo con pari valore di Hb. Sono state escluse dalla casistica 4 gravide con coesistente difetto alfa talassemico, una con grave anemia sideropenica ed una in crisi malarica, per le evidenti alterazioni eritrocitarie. In 6 gravide sono stati confrontati i parametri in valutazione con quelli di controlli precedenti alla gravidanza, le gravide con anemia sideropenica e crisi malarica sono state rivalutate un anno dopo la gravidanza.

*Risultati:* Nelle gravide portatrici, età media 32 anni, una paziente italiana e le rimanenti provenienti per lo più dal Nord Africa, il valore medio di RBC era  $4,151304 \pm ds 0,43$ , di Hb  $11.5 \text{ gr/dl} \pm 1.03$ , di MCV  $81.48 \text{ fl} \pm 5.38$ , la percentuale di Hb S  $37.56\% \pm 3.11$ , Hb A2  $2.99\% \pm 0.18$ , Hb F  $0.89\% \pm 0.55$ . I valori degli stessi parametri nel gruppo di controllo (età media 35.6 anni) erano sovrapponibili: RBC  $4.170435 \pm 0.47$ , Hb  $11.5 \text{ gr/dl} \pm 1.04$ , MCV  $82.26 \text{ fl} \pm 6.19$ , Hb S  $36.46 \pm 2.54$ , Hb A2  $2.84 \pm 0.22$ , Hb F  $0.74 \pm 0.50$ . I parametri pregravidanza mostravano un lieve aumento della Hb, andamento variabile di RBC e MVC, invariata la percentuale di Hb S. Gli indici eritrocitari delle pazienti con sideropenia e crisi malarica rientravano nella norma dopo terapia marziale, la percentuale di Hb S aumentava del 12.6 e del 11.8%.

*Conclusioni:* Dai nostri risultati si evince che la normalità degli indici eritrocitari in gravidanza non esclude la presenza di una Hb S eterozigote, quindi l'appropriatezza dell'indagine non può essere valutata solo sulla base dei parametri eritrocitari, ma anche sulla valutazione anamnestica comprensiva della provenienza da zone ad elevato rischio per queste patologie. La percentuale della Hb S non sembra modificata dalla gravidanza, quindi non è necessario rivalutare una portatrice nota.

RiMeL/IJLaM 2007; 3: 256-261

**CITOGENETICA CONVENZIONALE E MOLECOLARE SU 100 PAZIENTI CON LEUCEMIA LINFATICA CRONICA****A2-11****C. Consoli, G. Ferranti, V. Fiocco, F. Mauro, M. Mancini, M. Nanni**

Lab di Citogenetica, Dip di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, La Sapienza Università di Roma

*Scopo del lavoro:* Tra i disordini linfoproliferativi la leucemia linfatica cronica a cellule B (B-LLC) è uno dei più frequenti nella popolazione occidentale oltre i 60 anni. Il decorso clinico è variabile, da forme asintomatiche a forme aggressive. La citogenetica convenzionale (CC) e molecolare (FISH) insieme allo stato mutazionale della regione variabile delle immunoglobuline, ha assunto un ruolo fondamentale a livello predittivo prognostico. Per il basso indice mitotico delle cellule B leucemiche, la FISH è diventata la tecnica d'elezione per valutare le aberrazioni cromosomiche classiche. Recenti evidenze hanno rivalutato il ruolo della CC per la ricerca di nuove anomalie a significato prognostico. Scopo del lavoro è stato quello di confrontare queste metodiche e valutarne il valore prognostico su 100 pazienti.

*Materiali e metodi:* Nell'ambito di protocolli terapeutici, in corso presso il nostro Istituto, è stata eseguita l'analisi citogenetica e la FISH su colture stimolate con mitogeni a 72 ore di sangue periferico di 100 pazienti, 71 maschi e 29 femmine di età mediana 54 anni all'esordio o con malattia stabile. La diagnosi di B-LLC è stata effettuata in accordo con i criteri morfo-immunofenotipici standard su sangue periferico. I cariotipi sono stati allestiti mediante le tecniche citogenetiche standard, per la FISH è stato utilizzato un pannello di 6 sonde: 17p13;11q22;alfa 12;13q14;6q21;14q32

*Risultati:* Il successo diagnostico è stato del 99% in FISH e del 65% in CC. Anomalie clonali del cariotipo sono state riscontrate nel 45% dei casi valutabili, mentre la FISH ha evidenziato anomalie nel 78% dei casi. I risultati della CC sono stati confrontati con i dati della FISH. "Nuove" anomalie hanno riguardato un caso di trisomia 7, un caso di delezione 9q, alcune traslocazioni (3 casi) e tre casi con cariotipo complesso. In tutti i casi con cariotipo complesso, in FISH è stata evidenziata la delezione di p53, indice di prognosi altamente sfavorevole. Riguardo all'analisi FISH, le anomalie più frequenti riscontrate sono state: del(13q) nel 48% dei casi, tris 12 nel 10%, del(11q) nel 8%, del(17p) nel 7%, del(6q) nel 4%, del(14q), nel 39%, in linea con la letteratura.

*Discussione e conclusioni:* Nella valutazione clinica della LLC la citogenetica contribuisce con importanti informazioni prognostiche, il dato che emerge da questo studio è l'importanza di utilizzare entrambe le metodiche CC e FISH interfascia in quanto risultano essere complementari e possono aggiungere dati rilevanti. La loro applicazione su più ampie casistiche potrà consentire di individuare nuove anomalie ricorrenti che contribuiranno a chiarire la patogenesi di questa malattia così diffusa nel mondo occidentale.

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

A2-12

**B. Milanesi<sup>o</sup>, E. Ascari\*, P. Barbieri\*, E. Bonera\*, F. Busi\*, M. Calarco\*, G. Montini\*, M. Morandi\*, L. Orsini\*, V. Pasotti\*, A. Regazzoli\*, E. Zola\***

<sup>o</sup>Dip.Med. di Laboratorio A.O.Desenzano del Garda, \*Lab.Analisi A.O.Spedali Civili Brescia

*Scopo del lavoro:* da circa tre anni ricerchiamo con metodica FISH alcune alterazioni cromosomiche in pazienti affetti da LLC, dato che è stato messo in evidenza che la loro presenza può essere correlata con una diversa prognosi e con una possibile resistenza al trattamento con fludarabina. L'utilizzo della FISH permette di analizzare anche cellule in interfase e quindi può essere applicata anche su cellule che entrano difficilmente in replicazione (come è il caso dei linfociti della LLC) e dalle quali è difficile ottenere metafasi analizzabili mediante tecniche di citogenetica convenzionale; inoltre la metodica può essere eseguita anche su sangue periferico e non necessariamente su midollo. Le alterazioni cromosomiche che abbiamo ricercato sono: 1) la delezione del gene p53 (regione 17p 13.1), 2) la delezione del gene ATM (regione 11q22.3), 3) la delezione della regione 13q14.3, 4) la trisomia del cr.12.

*Materiali e metodi:* sono stati esaminati 132 pazienti affetti da LLC; le cellule sono state prima trattate con una soluzione ipotonica di KCl e poi fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1), prima di essere dispensate su un vetrino. Le sonde utilizzate per l'esecuzione della FISH, prodotte dalla ditta Vysis, sono le seguenti: LSI p53, che ibridizza in regione 17p13.1; LSIATM, che ibridizza in regione 11q22.3; LSI D13S319, che ibridizza in regione 13q14.3; CEP 12, che ibridizza in regione 12p11.1-q11. L'analisi FISH è stata eseguita seguendo la metodica consigliata dalla ditta produttrice.

*Risultati:* dei 132 pazienti analizzati 38 (29%) sono risultati negativi per tutte e quattro le alterazioni che abbiamo ricercato, mentre gli altri 94 (71%) hanno presentato una o più anomalie; in particolare 17 (13%) la delezione del gene p53, 15 (11%) quella del gene ATM, 56 (42%) la delezione in regione 13q14.3 e 27 (21%) la trisomia del cr.12; in 21 pazienti (16%) si è osservata la presenza di una doppia alterazione.

*Discussione e conclusioni:* la ricerca di alterazioni cromosomiche nei linfociti di pazienti affetti da LLC sta acquisendo importanza sia da un punto di vista prognostico, essendo alcune di esse associate ad un andamento peggiore o migliore della malattia, sia da un punto di vista terapeutico, dato che la presenza di particolari anomalie (specie la delezione del gene p53) correlano con una resistenza al trattamento con fludarabina. Nel nostro studio abbiamo utilizzato la FISH per l'analisi di quattro alterazioni cromosomiche in 132 pazienti ed è risultato che un'elevata percentuale di essi (71%) presenta almeno una delle anomalie ricercate.

## COMPARAZIONE FRA ELETTROFORESI SU GEL DI AGAROSIO E CAPILLARYS PER LA RIVELAZIONE DI COMPONENTI MONOCLONALI

A2-13

**F. Bruno\*, F. Bonanni\*, M. Ruggeri<sup>o</sup>, G. Dicuonzo\***

\*Policlinico Universitario Campus Biomedico Roma; <sup>o</sup>A.O. San Giovanni Addolorata Roma

*Scopo del lavoro:* Comparare la sensibilità e la specificità della metodica in gel di agarosio e in Capillarys nella individuazione delle componenti monoclonali.

*Materiali e metodi:* 405 sieri inviati per elettroforesi proteica di routine sono stati sottoposti a elettroforesi su gel di agarosio e elettroforesi capillare contemporaneamente (Sebia). I ferogrammi sono stati valutati indipendentemente da due operatori diversi; tutti i sieri con sospetta componente monoclonale sono stati sottoposti a immunofissazione (IFE) (SEBIA).

*Risultati:* Sono state accertate 76 componenti monoclonali. Per elettroforesi su gel la sensibilità è stata 0.79, la specificità 0.95, LR+15.94 e LR- 0.221; per capillarys sono state rispettivamente: 1.0, 0.90, 9.774, 0.00.

*Discussione:* Le differenze riscontrate sono notevoli, in parte dovute alla concentrazione proteica necessaria per mettere in evidenza la monoclonalità; infatti la capillarys riconosce le componenti monoclonali piccole significativamente di più dell'agarosio (P<0,001).

## IMMATURITA' MIELOIDE: CONFERMA CITOFUORIMETRICA IN CYTODIFF PER TRE CASI CLINICI

A2-14

**A.M. Cenci, M. Blasi, A. Coco, P. Ferrari, R. Ritzcallah**

Laboratorio NOCSAE, AUSL Modena

Il significato clinico dei parametri posizionali (PP) dei sistemi Coulter LH è ampiamente dimostrato in letteratura. Essi rappresentano i valori medi (M) di deviazione standard (DS) di Volume (V), Conduttività (C) e Scatter (S) delle sottopopolazioni WBC, la cui variazione dai valori di normalità indica anomalie morfologiche riscontrabili al microscopio ottico. Con immaturità mieloide (MyIm) si hanno valori elevati di NeVM e NeVSD; se presente displasia, anche di NeSM e NeCM.

*Scopo del lavoro:* casi clinici scelti dalla routine (circa 2000 test/gg) con regole PP, conferma in citofluorimetria con CytoDiff, valutazione di sincretismo tecnologico nella validazione di campioni patologici.

*Materiali e metodi:* 3 campioni fermati da Coulter LH 750 (allarmi di sospetto, valori anomali di PP), avviati a microscopio per MyIm per i criteri in uso e ad analisi citofluorimetrica con Coulter FC500 dopo incubazione con cocktail di 6 marcatori, CD36-FITC/CD2-PE+CRTH2-PE/CD19-ECD/CD16-Cy5/CD45-Cy7\*.

*Risultati:* campione PZ1: WBC=24.1 NE#=22.1; allarme Gran-Imm1 e Gran-Imm2. Scatterplot: granulociti a dimensioni eterogenee e scarsa granularità: NeVM (166,6) e NeVSD (30,8) nettamente aumentati. A revisione, una quota di neutrofili presenta ipogranularità. La citofluorimetria conferma granulociti divisi in due cluster per espressione di CD16: una matura, a più alta intensità, una con graduale diminuzione di intensità per progressiva immaturità. Campione PZ2: WBC=7.5 NE#= 6.6; allarmi di sospetto di MyIm con valori anomali di NeVM (171.8) e NeVSD (28). La revisione microscopica evidenzia elementi immaturi (promielociti, metamielociti). La citofluorimetria conferma dati strumentali e presenza di immaturi (6%); lo scatterplot segnala eterogeneità di espressione di CD16, come da eterogeneità di maturazione sopra descritta. Campione PZ3: WBC=4.8 NE#=2.6; non allarmi morfologici per NE, ma PP compatibili con ipogranularità (NeSM=135.9) e volume eterogeneo (NeVSD=26.2).

*Discussione e conclusioni:* nella nostra esperienza, microscopio e citofluorimetria concordano nella conferma dei risultati in campioni fermati da algoritmi di sistema. Nell'attuale assetto del laboratorio e per certi allarmi si può ipotizzare l'utilizzo della citofluorimetria con CytoDiff in un livello successivo a quello dello screening, e prima del microscopio. A questo livello, per campioni come quelli riportati, si può proporre anche la validazione con rilascio dei risultati senza passaggi ulteriori. Altre volte può esserci un rapido completamento utile per inquadramenti clinici. La possibilità di sincretismi di tecnologie legate da algoritmi fornisce una notevole miglioria organizzativa nella gestione delle risorse del settore.

\*Faucher et al., Cytometry Part A, 71A: 934-944, 2007

## HEMATOFLOW: UN NUOVO APPROCCIO ALLA VALIDAZIONE EMATOLOGICA

A2-15

**A.M. Cenci**

Laboratorio NOCSAE, AUSL Modena

*Scopo del lavoro:* valutazione dell'impatto sulla gestione della routine ematologica e significato diagnostico di un percorso a tecnologie integrate con conferma citofluorimetrica (metodica Coulter Cytodiff).

*Materiali e metodi:* sistema in completa automazione Coulter LH1500 (3 analizzatori Coulter LH755 integrati dal gestionale IL Hematology Manager); citofluorimetro Coulter FC500 con pannelli Coulter Cytodiff, 6 marcatori CD36-FITC/CD2-PE+CRTH2-PE/CD19-ECD/CD16-Cy5/CD45-Cy7; campioni per emocromo.

*Risultati:* le performance dell'insieme tecnologico di gestione del dato ematologico permette il rilascio in completa automazione dell'83% della routine. Del restante 17%, il 25% genera richiesta ed esecuzione automatica del vetrino. La gestione della routine è affidata a 2.5 validatori esperti nell'arco della giornata lavorativa. Il presente studio ha valutato la revisione a microscopio di un operatore (validazione di 36 vetrini) con un produttività media di 1 vetrino ogni 3'. Il sistema ha permesso di validare a video 10 campioni utilizzando le informazioni storicizzate (dati, commenti, grafici e immagini digitalizzate). I restanti 26 campioni, allarmati per importanti anomalie morfologiche dei leucociti, sono stati analizzati sia morfologicamente che in citofluorimetria con un cocktail precostituito di monoclonali in grado di fornire una diff a 14 parametri. La produzione del dato citofluorimetrico è risultata parallela al processo di validazione fornendo risultati in tempo utile alla validazione completa del dato analitico. Dall'analisi dei dati ottenuti risulta che il sistema così integrato permette di ottenere le seguenti performance: 28% di campioni validati grazie ad informazioni storiche, 25% di campioni con metodica Cytodiff, 28% di vetrini analizzati ai quali associare le informazioni da Cytodiff, 18% di vetrini analizzati per la determinazione morfologica degli eventi.

*Discussione e conclusioni:* la gestione di routine impegnative richiede sistemi di validazione e percorsi diagnostici adatti ad ottimizzare le risorse umane garantendo alta qualità alle risposte diagnostiche. Il sistema testato permette di recuperare circa 50' di tempo-uomo (51% = vetrini non più da rivedere). Il ruolo della morfologia classica viene confermato per un 18% dei casi con richiesta di un'attenta verifica microscopica. Un dato positivo è costituito dalle notizie aggiuntive di cui può venire arricchita una quota di campioni particolari, con preziose informazioni diagnostiche di secondo livello, in tempi rapidi e sullo stesso campione (rapporto linfociti B/T, verifica diff, conteggio e tipologia di blasti) con l'esecuzione del pannello Coulter Cytodiff. La possibilità di usufruire anticorpi monoclonali di facile esecuzione con metodiche standard facilmente gestibili e protocolli fissi consente l'utilizzo del pannello sia come approfondimento che come conferma diagnostica.

## LIVELLI SIERICI DI DICKKOPF-1 NEI SOGGETTI AFFETTI DA GAMMOPATIE MONOCLONALI DI SIGNIFICATO INDETERMINATO

A2-16

**G. Lobreglio, R. Cardinali, D. Fiorentino, P. Capuani, L. Pappaccogli**

U.O. Medicina di Laboratorio, A.O. "Card G. Panico", Tricase (LE)

*Scopo del Lavoro.* Dikkopf-1 (DKK-1) è una proteina di 28.672 Da prodotta da osteoblasti ed osteociti che riveste un ruolo fondamentale nella differenziazione e crescita degli osteoblasti e nella regolazione del metabolismo osseo, controllando i meccanismi di segnalazione di WNT e LRP5 (Diarra et al., Nature Medicine 2007). In alcuni soggetti con gammopatie monoclonali di significato indeterminato (MGUS) si verifica, con un meccanismo non ancora del tutto noto, un incremento del riassorbimento osseo ed un' aumentata prevalenza di fratture vertebrali (Minisola et al., New England Journal of Medicine, 2007). Lo scopo di questo lavoro è di valutare se i livelli sierici di DKK-1 svolgano un ruolo nello sviluppo della compromissione scheletrica nei pazienti con MGUS.

*Materiali e metodi.* I Livelli sierici di DKK-1 sono stati dosati in 128 pazienti affetti da MGUS (61 IgGk, 35 IgGL $\lambda$ , 9 IgAk, 13 IgA $\lambda$ , 8 IgMk e 2 IgM $\lambda$ )(51 femmine, 77 maschi; età media 71 $\pm$ 16 anni) e in 48 soggetti comparabili per sesso ed età. Il dosaggio del DKK-1 è stato eseguito con metodica immunoenzimatica a sandwich su micropiastra (Biomedica Medizinprodukte, Wien) con CV intra-assay del 7%. Nessuno dei pazienti con MGUS e dei soggetti di controllo presentava fratture vertebrali o evidenze radiologiche di osteolisi.

*Risultati.* I risultati hanno evidenziato una concentrazione sierica di DKK-1 significativamente più bassa nei pazienti affetti da MGUS (8.6  $\pm$  7.9 pmol/l) rispetto ai soggetti di controllo (27  $\pm$  13.1 pmol/l); p<0.001.

*Discussione e conclusioni.* Recenti studi suggeriscono che un aumento dell'attività osteoclastica sostenuto da vari fattori attivanti (RA NK-L, parathyroid hormone-related protein, interleuchina-1 e macrophage protein 1-alfa) svolge un ruolo determinante nella compromissione scheletrica che si sviluppa in molti pazienti con mieloma multiplo e in alcuni soggetti con MGUS (Politou et al., British Journal of Haematology, 2004). La riduzione dei livelli sierici di DKK-1 che fisiologicamente svolge un ruolo di inibizione dell'attività degli osteoblasti, da noi osservata nei soggetti con MGUS, potrebbe essere determinata da un meccanismo di feed-back per contrastare l' aumentato riassorbimento osseo con un incremento dell'attività degli osteoblasti.

## IL D-DIMERO NELLA DIAGNOSI DELLE TROMBOSI VENOSE PROFONDE

A2-17

**D. Gigante, C. Mazzone, M. Laneve, B. Grossi**

Laboratorio di Patologia Clinica del P.O. Occidentale (Mottola-Castellaneta) AUSL Taranto

*Scopo del lavoro:* Il tromboembolismo venoso acuto si manifesta clinicamente con trombosi venosa profonda (TVP) ed eventuale embolia polmonare (EP) e presenta sia fattori di rischio ereditari che acquisiti. Il dosaggio del d-dimero (prodotto di idrolisi della fibrina), se negativo, esprime un alto valore predittivo nell'escludere TVP e EP. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare la frequenza di richiesta del dosaggio del d-dimero nei pazienti ricoverati, suddivisi per reparto, e nei pazienti ambulatoriali esterni, osservando il numero dei soggetti a rischio di TVP.

*Materiali e Metodi:* Il dosaggio del d-dimero è stato ottenuto su plasma, dopo prelievo del sangue in provette con citrato di sodio. Abbiamo utilizzato l'analizzatore VIDAS (bioMerieux), principio ELFA (Enzyme Lynked Fluorescent Assay), che impiega anticorpi monoclonali in grado di riconoscere gli epitopi non esposti del fibrinogeno o dei suoi prodotti di degradazione.

*Risultati:* Nel periodo compreso tra giugno 2007 e giugno 2008, presso il nostro Laboratorio di Patologia Clinica, è stata condotta l'indagine su un totale 750 pazienti di cui 692 interni, 80 della Cardiologia, 40 della Chirurgia, 98 della Medicina, 394 della Ginecologia, 72 del Pronto Soccorso, 6 dell'Ortopedia, 2 della Pediatria, e 58 pazienti esterni. Concentrazioni di d-dimero inferiori a 500 ng/ml sono considerati normali, in gravidanza anche fino a 2000 ng/ml; valori tra 2000 e 10.000 ng/ml fanno sospettare TVP. Tra tutti i reparti studiati la maggior parte dei pazienti, che ha presentato un alta percentuale di sospetto di TVP, è stata quella della Ginecologia con il 22%, seguito dall'8% dei pazienti esterni, 4,5% della Medicina, 3,5% della Cardiologia, 3,2% del Pronto Soccorso, 2,4% della Chirurgia, 0,8% dell'Ortopedia e 0,2% della Pediatria.

*Conclusioni:* La Ginecologia, nell'ambito della prevenzione del rischio di episodi tromboembolici in gravidanza, ha richiesto il maggiore numero di dosaggi del d-dimero, il 52%, con una percentuale di pazienti a rischio di TVP del 22%. L'indagine condotta in questo studio evidenzia l'importanza strategica del dosaggio del d-dimero nella diagnosi precoce del rischio di TVP.

**VALUTAZIONE DI LABORATORIO DEI FATTORI DI TROMBOFILIA IN CHIOGGIA****A2-18****G. Gessoni, S. Valverde, E. Trabuio, F. Antico**

Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale di Chioggia (VE)

*Premesse:* La trombosi venosa è spesso il risultato della interazione di molteplici fattori di rischio, congeniti od acquisiti, con un evento scatenante. In questo studio gli autori riportano la loro esperienza in una coorte di pazienti Italiani con pregressa trombosi.

*Materiali e Metodi:* Sono stati considerati 292 pazienti consecutivi. Ciascun paziente è stato valutato utilizzando con il seguente pannello di test funzionali e genetici per ricercare i fattori di rischio trombofilico più rilevanti: PT, aPTT, TT, Fibrinogeno, D-Dimero, AT III (AT3), Proteina C (PC), Proteina S (PS), resistenza alla PC attivata (APCR), anticoagulante lupico (LA), Mutazione G1691A del FV (FVL), mutazione G20210A della protrombina, mutazione C677T del gene MTHFR, anticorpi anti protrombina (PR) IgG ed IgM, anticorpi anti B2GP1 IgG ed IgM, anticorpi anti cardioplipina (CL) IgG ed IgM, Omocisteina.

*Risultati:* Nei 292 pazienti considerati abbiamo evidenziato 7 deficit di AT3, 4 di PC, 2 di PS, 3 mutazioni G20210A della protrombina, 124 FV Leiden (11 omozigoti), 164 mutazioni MTHFR (30 omozigoti). 62 pazienti erano positivi ad almeno un test per la ricerca degli auto anticorpi anti fosfolipidi con il seguente pattern di positività: 50 per LA, 25 per anti-CL (14 IgG e 11 IgM), 27 per anti GPIIb/IIIa (17 IgG e 10 IgM), 10 per anti PR IgG. 33 soggetti presentavano livelli plasmatici di omocisteina elevati.

*Conclusioni:* Nella coorte di pazienti esaminati il singolo più frequente fattore di rischio trombofilico era la resistenza alla PC attivata legata alla presenza del FV Leiden. I test per gli auto anticorpi anti fosfolipidi erano positivi in 62 pazienti, quasi la metà dei quali presentava reattività multiple (da 2 a 6). Il pannello di test prescelto permetteva di evidenziare la presenza di un fattore di rischio trombofilico nella grande maggioranza dei pazienti (80%). In 124 soggetti (44%) era possibile dimostrare la presenza di molteplici fattori di rischio (da 2 a 4).

**EVALUATION OF A PROTHROMBIN TIME BASE TEST FOR DETECTION OF ACTIVATED PROTEIN C RESISTANCE****A2-19****G. Gessoni, S. Valverde, E. Trabuio, F. Antico**

Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale di Chioggia (VE)

*Background:* Factor V Leiden mutation (FVL) is the more common cause on inherited thrombophilia in western Countries and usually in Clinical Pathology Laboratories the approach to diagnosis of FVL is based upon functional tests that allowed the revelation of an activated protein C resistance (APCr) phenotype by using aPTT based assay. In this study the authors evaluated efficiency of two functional assays in comparison with to genetic diagnosis.

*Materials and Methods:* We considered 292 patients send to our Laboratory to investigate the presence of thrombophilia after an episode of deep venous thrombosis. These subjects were evaluated by using routine protocol adopted in our Laboratory. Moreover all these samples we re tested by using beside the routine aPTT based assay (Diagen APC-R), with a new PT based test for revelation of APCr (Pefakit APC-R).

*Results:* Among the considered 292 patients the genetic study identified 124 (42.5%) FVL carriers: 111 heterozygous and 13 homozygotes. In discrimination between normal subjects and FVL carrier the aPTT based assay had a SE 1.00 and SP of 0.99, in discrimination between homozygous the performance was less satisfactory (SE=0.93, SP=0.96). In discrimination between normal subjects and FVL carrier the PT based assay had a SE 1.00 and SP of 1.00, in discrimination between homozygous the performance also very good (SE=1.00, SP=0.99). The heterozygous subject classified as homozygous by both methods, showed a FV deficiency and was considered as a "pseudo-homozygote".

*Conclusions:* Usually aPTT based test showed a satisfactory performance to discriminate normal subjects from FVL carriers but are less useful to discriminate between heterozygous and homozygous patients. Moreover these tests are subjected to some interfering factors even iatrogenic (i.e. anticoagulant therapy) even due to the concomitant presence of other thrombophilia risk factors (i.e. protein C deficiency or anti phospholipids auto antibody). In our experience this PT based APC resistance assay provides improved discrimination between normal subjects and FVL carriers compared with classical aPTT based methods, moreover this new assay allowed a good discrimination between homozygous and heterozygous FVL patients.

## VELENO DI VIPERA DI RUSSEL DILUITO NELLA DIAGNOSI DI LAC: CONFRONTO DI REAGENTI

A2-20

**D. Giavarina, B. Faresin, U. Pizzolato, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "San Bortolo" – Vicenza

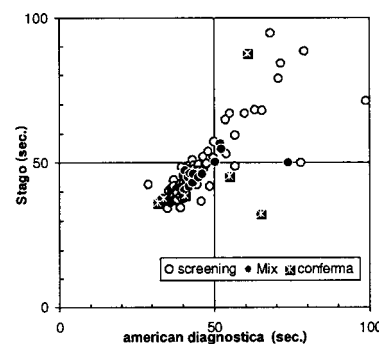
*Scopo del Lavoro:* Il Veleno di Vipera di Russel Diluito (DVVR) è uno dei reagenti maggiormente utilizzati nella diagnostica del Lupus anticoagulante (LAC), per la sua somiglianza alla trombina associata all'insensibilità all'eparina. La correzione dell'allungamento del tempo mediante mix con plasma fresco esclude la presenza di anticorpi antifosfolipidi, mentre la mancata correzione al mix e la correzione con eccesso di fosfolipidi conferma la diagnosi. E' noto che i reagenti per i test coagulativi presentano ampie variabilità di sensibilità. Scopo di questo lavoro è verificare se tale variabilità è presente anche tra i reagenti per test con DVVR, con e senza eccesso di fosfolipidi

*Materiali e Metodi:* sono stati valutati i reattivi Staclot® DRVV Screen and Staclot® DRVV Confirm (Diagnostica Stago, Asnières sur Seine, France) (Stago) e DVVtest® e DVV confirm® (american diagnostica inc. Stamford, CT, USA) (AD) su 95 soggetti indagati per ricerca di LAC, in 14 dei positivi allo screening, con test di mix ed in 7 positivi al mix con test di conferma. Il cut-off per la positività era 50 secondi. La concordanza è stata valutata con test K di Cohen.

*Risultati:* Nel test di screening la concordanza è stata di 88 su 95 Nel mix di 14 su 14, mentre il test di conferma ha dimostrato 5 positivi per Stago, contro solo 2 per AD. (figura e tabella)

*Discussione e conclusioni:* La bassa numerosità dei test di conferma non permette conclusioni definitive, per la parte finale del test. Stago pare avere maggiore sensibilità rispetto ad AD nei test di conferma, minore nei test di screening. Tuttavia i 5 positivi in screening per Stago, non riconosciuti da AD, sono risultati tutti negativi al test di mix. Ottima è la concordanza nei test di mix e buona nei test di screening, insufficiente la numerosità per esprimere un parere sui test di conferma.

		American diagn.	
		neg	pos
Screening	Stago	neg 75	pos 5
	AD	neg 2	pos 13
	k	0,74 (95%CI 0,56-0,93)	
Mix	Stago	neg 10	pos 0
	AD	neg 0	pos 4
	k	1,00 (95%CI 1,00-1,00)	
Conferma	Stago	neg 2	pos 2
	AD	neg 0	pos 3
	k	0,46 (95%CI 0,00-1,00)	



## UTILIZZO DI MULTIPLATE PER IL MONITORAGGIO DELLA TERAPIA ANTIAGGREGANTE (TA) CON ACIDO ACETILSALICILICO (ASA)

A2-21

**C. Rizzo, P. Pergolini, R. Rolla, G. Bellomo, E. Franchi\***

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche; \*Unità Operativa Cardiologia 1, Azienda Ospedaliera-Universitaria "Maggiore della Carità", Novara

*Scopo del lavoro:* La TA piastrinica costituisce uno dei più efficaci sistemi di prevenzione secondaria delle patologie cardiovascolari acute e croniche. Tra i farmaci usati, l'acido acetil salicilico (ASA), inibendo irreversibilmente la COX1 delle piastrine, rappresenta uno dei sistemi più semplici e diffusi per il controllo dell'emostasi dei pazienti a rischio trombotico. Tuttavia è difficile monitorare questo trattamento e individuare eventuali resistenze al farmaco. Abbiamo quindi voluto monitorare i pazienti in trattamento con ASA, con dosaggi differenti, mettendo a confronto due diverse metodiche di studio della funzionalità piastrinica.

*Materiali e Metodi:* Campione: (c)127 pazienti del reparto di Cardiologia trattati con ASA (75 mg, 100 mg, 160 mg, 300 mg) di cui:

c1: 37% in trattamento esclusivo con ASA

c2: 55% in trattamento con ASA e clopidogrel 75 mg

c3: 6% in trattamento con ASA, clopidogrel 75 mg, eparina

c4: 2% in trattamento con ASA, clopidogrel 75 mg ed anti GP IIb/IIIa.

*Metodi.* PFA 100 (Dade Behring): test di funzionalità piastrinica su sangue intero che valuta il tempo di ostruzione del flusso impiegando cartucce contenenti CoEpi e CoADP. Multiplate (Dasit): test di aggregazione piastrinica su sangue intero per impedenza, multicanale, che utilizza come test di stimolazione ac.arachidonico (ASPI test), ADP (ADP test), collagene (COL test).

*Risultati:* Nel gruppo c1 tutti i pazienti esaminati sono positivi ad ASPI test, mentre soltanto il 35% è positivo a CoEpi; nel gruppo c2 il 97% è positivo ad ASPI test, il 96% è positivo ad ADP, mentre il 59% è positivo a CoEpi; nel gruppo c3 tutti i pazienti sono positivi ad ASPI test, 85% positivi ad ADP test mentre solo il 14% è positivo a CoEpi; nel gruppo c4 tutti i pazienti sono positivi ad entrambi i test del Multiplate ed il 66% è positivo al CoEpi

*Discussione e Conclusioni:* Nella casistica esaminata, i tests di aggregometria impedenziometrica utilizzati su Multiplate (Dasit), si sono rilevati in grado di evidenziare l'efficacia della terapia antiaggregante con acido acetil salicilico, indipendentemente dal dosaggio impiegato, a differenza del test CoEpi si PFA che, al contrario, ha evidenziato una sensibilità decisamente inferiore.



**EFFETTO DELL'APLOTIPO HR2 SUL TEST PER APC-R PRO-C GLOBAL****A2-22****R. Rolla, R. Portalupi, G. Bellomo**

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche; Dipartimento di Patologia Clinica; Azienda Ospedaliera- Universitaria "Maggiore della Carità", Novara

*Scopo del lavoro:* La resistenza alla proteina C attivata (APC-R) rappresenta il più comune fattore di rischio genetico associato alla predisposizione alla trombosi venosa. Nell'80% dei casi con fenotipo APC-resistance è presente la mutazione puntiforme Leiden del gene del fattore V. Nel restante 20% altre mutazioni sembrano responsabili della resistenza alla APC, tra queste l'aplotipo HR2 (H1299R). Diversi studi hanno riconosciuto HR2 come un fattore di rischio protrombotico confermabile sia da una significativa riduzione dei valori di APC-ratio in vitro, che da un aumentato rischio protrombotico, in quei soggetti che ereditano l'aplotipo HR2 e la mutazione FV Leiden. Si è quindi deciso di indagare l'effetto dell'aplotipo HR2 sul test ProC Global della Dade-Behring, utilizzato nel nostro laboratorio.

*Materiali e Metodi:* Sono stati inclusi nello studio 84 pazienti (pz) consecutivi, afferenti al laboratorio analisi con richiesta di APC-R e indagine genetica per il FV Leiden, selezionati per la presenza dell'aplotipo HR2. Per la determinazione di APC-R è stato utilizzato il test ProC Global della Dade-Behring in combinazione con plasma carente di FV, su BCS XP. Per l'indagine genetica è stato utilizzato il "trombofilia strip assay" della Nuclear Laser Medicine, che permette di studiare con una sola reazione multiplex-PCR diverse varianti del gene FV, tra cui il FV Leiden e l'aplotipo HR2.

*Risultati:* Tutti gli 84 pz. analizzati erano negativi per la mutazione di Leiden. Sia gli eterozigoti che gli omozigoti per l'aplotipo HR2 sono risultati negativi al test APC-R ProC Global della Dade-Behring (cut-off ratio 0.7). In particolare i 79 pz eterozigoti ed i 5 omozigoti presentavano valori medi di APC ratio rispettivamente di 1.0 (sd 0.17; range 0.71-1.84) e di 0.89 (sd 0.054; range 0.8-0.94). Inoltre nessuna differenza significativa nei livelli di APC ratio è stata riscontrata tra eterozigoti e omozigoti per l'aplotipo HR2 e una popolazione di controllo.

*Discussione e conclusioni:* Nella nostra esperienza laboratoristica, con un limite decisionale pari a 0.7 di ratio normalizzata, il ProC Global/FV è in grado di evidenziare la presenza del FV Leiden con una sensibilità del 98% ed una specificità del 99%. Tuttavia lo stesso test non permette di identificare i pz. negativi per FV Leiden e portatori dell'aplotipo HR2, sia in eterozigosi che in omozigosi.

**CORRELAZIONE TRA PATTERN IMMUNOISTOCHEMICO IN FLUORESCENZA E TEST SPECIFICI PER AUTOANTICORPI ANTI-gp210 E ANTI-Sp100 IN PAZIENTI CON CIRROSI BILIARE PRIMITIVA****B-01****F. Pesente, F. Cucchiario, M. Forgiarini, N. Bizzaro**

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile di Gemona del Friuli (UD)

*Scopo del lavoro.* La diagnosi di cirrosi biliare primitiva (PBC) si basa sulla contestuale presenza di criteri biochimici, istologici e di anticorpi anti-mitocondri (AMA). Tuttavia, un 5% circa dei soggetti con PBC non presenta positività per AMA, rendendo più difficile la diagnosi della malattia. Recentemente è stato dimostrato che autoanticorpi diretti verso le proteine gp210 e Sp100 hanno un'elevata specificità per PBC. La presenza di queste due specificità anticorpali si manifesta nel test per anticorpi anti-nucleo (ANA) con i quadri di fluorescenza rispettivamente di tipo membrana nucleare e nuclear dots. Nell'ambito di uno studio nazionale sulla prevalenza e sull'accuratezza diagnostica di questi nuovi marcatori autoanticorpali, abbiamo verificato la corrispondenza tra i pattern immunoistochimici osservati in immunofluorescenza indiretta (IFI) e la specificità autoanticorpale corrispondente ottenuta con metodi ELISA.

*Metodi.* Il siero di 251 pazienti con diagnosi clinica e istologica di PBC (di cui 98 AMA-negativi e 153 AMA-positivi) e di 110 controlli (38 epatite autoimmune (AIH) di tipo 1, 12 AIH tipo 2, 12 colangite sclerosante, 25 cirrosi epatica HCV-correlata, 9 cirrosi epatica HBV-correlata e 14 epatite cronica attiva) è stato studiato con metodo IFI su cellule HEp-2 (Inova Diagnostics, S. Diego, CA) e con metodi ELISA per anticorpi anti-gp210 e Sp100 (Inova).

*Risultati.* In IFI 13/251 campioni sono risultati positivi per lamina nucleare e 21/251 per nuclear dots. In ELISA i positivi per gp210 sono stati 12 e 21 per Sp100. La correlazione gp210/lamina nucleare è risultata del 99% e quella Sp100/nuclear dots del 92%. Di notevole rilievo il riscontro che anticorpi anti-gp210 e anti-Sp100 sono risultati positivi nel 12% e nel 21% dei sieri AMA-negativi. Nel gruppo di controllo, solo 2 pazienti sono risultati positivi per anti-gp210 (specificità 98%) e 4 per Sp100 (specificità 96%).

*Conclusioni.* È stata evidenziata un'ottima correlazione tra il quadro osservabile in IFI e la specificità anticorpale in ELISA e un'elevata specificità diagnostica per ambedue i pattern anticorpali. Pertanto, quando nel test ANA-screening in IFI si osserva un pattern lamina nucleare o multiple dots è opportuno confermare il dato con un test per l'anticorpo specifico, in grado, se positivo, di fornire al clinico informazioni di grande importanza ai fini diagnostici e prognostici.

## DETERMINAZIONE DI AUTOANTICORPI NEL SIERO DI PAZIENTI CON PATOLOGIE CRONICHE DEL FEGATO

B-02

**B. Porcelli<sup>1,2</sup>, C. Scapellato<sup>2</sup>, M. Rubino<sup>3</sup>, L. Terzuoli<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Scienze-Endocrino Metaboliche e Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena; <sup>2</sup>U.O.C Laboratorio Analisi Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena; <sup>3</sup>U.O.C. Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

*Scopo del lavoro.* Verificare la presenza e la prevalenza degli anticorpi anti-mitocondrio (AMA), anti-muscolo liscio (ASMA), anti-microsomi epatici e renali (LKM) e anti-cellule parietali gastriche (PCA) in soggetti con patologie croniche del fegato. *Materiali e Metodi.* Sono stati analizzati 230 pazienti (107 femmine e 123 maschi) con malattie croniche del fegato, di età compresa tra 20 e 90 anni. 193 pazienti presentavano epatite cronica, mentre 37 pazienti erano affetti da cirrosi epatica. Per la ricerca degli auto-anticorpi AMA, ASMA, LKM e PCA nei campioni di siero è stato usato un metodo a immunofluorescenza indiretta (ImmuGlo Autoantibody Test System COMVI-III Mouse liver/kidney/stomach, Immco Diagnostics).

*Risultati.* La positività autoanticorpale era presente nel 19,1% (44/230) dei 230 soggetti analizzati: tra i pazienti affetti da virus epatotropici (HBV, HCV) con patologie croniche del fegato, questa era presente nell'88,6% (39/44) dei casi, mentre nei pazienti con malattie croniche del fegato ad eziologia non infettiva la positività autoanticorpale era osservata nell'11,4% (5/44) dei casi. In particolare, tra i pazienti affetti da patologie croniche del fegato ad eziologia infettiva, risultavano positivi gli autoanticorpi ASMA (32/39, 82%), e gli autoanticorpi PCA (7/39, 18%), mentre tra i pazienti affetti da patologie croniche del fegato ad eziologia non infettiva, risultavano positivi solo gli autoanticorpi ASMA (5/5, 100%).

*Discussione e Conclusioni.* Rispetto ai numerosi lavori presenti in letteratura che hanno analizzato il profilo autoanticorpale di soggetti affetti da epatite cronica HCV correlata, in questo studio abbiamo focalizzato la nostra attenzione sulla presenza e prevalenza degli autoanticorpi in pazienti con patologie croniche del fegato. Avendo quindi adottato dei criteri diversi e più ampi di selezione della popolazione di pazienti da studiare, abbiamo rilevato una prevalenza di positività autoanticorpale più bassa (19,1%) di quella riportata in letteratura. Al contrario, i dati da noi ottenuti confermano il consenso generale, secondo cui gli autoanticorpi sierici sono comunemente trovati in pazienti con epatite ad eziologia infettiva, con un positività per gli ASMA compresa tra il 5 e il 91% dei casi, a seconda dei diversi approcci metodologici utilizzati. Questa positività autoanticorpale rappresenterebbe una manifestazione secondaria del danno epatocellulare favorita dal background genetico dell'agente infettivo.

## ANA SCREENING CON METODICA DI IMMUNOFLUORESCENZA INDIRETTA: RISULTATI DI DUE ANNI DI ATTIVITA' DIAGNOSTICA

B-03

**C. Mazzone, M. Laneve**

Laboratorio di Patologia Clinica del P.O. Occidentale (Mottola) AUSL TARANTO

*Scopo del lavoro:* Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare l'incidenza della presenza degli anticorpi antinucleo (ANA) nei pazienti afferenti al nostro laboratorio. Il dosaggio degli ANA rappresenta il test di I° livello nella diagnostica delle malattie autoimmuni sistemiche (MAIS), pur essendo talvolta presenti anche in patologie infiammatorie e neoplastiche. Le MAIS sono caratterizzate dalla presenza di autoanticorpi diretti contro numerosi costituenti del nucleo cellulare.

*Materiali e metodi:* Abbiamo esaminato 866 pazienti (pz), ricoverati e ambulatoriali, afferenti da giugno 2006 a giugno 2008 al nostro laboratorio con il sospetto clinico di MAIS. Il dosaggio degli ANA è stato effettuato con il metodo dell'immunofluorescenza indiretta (IFI) su linee cellulari Hep 2 (SCIMEDX – CORPORATION) con una diluizione(dil) dei campioni di 1:40 e, in caso di positività, 1:80, 1:160 e così via.

*Risultati:* Dei pz studiati ne sono risultati positivi (dil >1:80) 82 (10%), 68 femmine(83%) e 14 maschi(17%), con i seguenti pattern fluoroscopici: speckled 40, omogeneo 24, centromerico 14, nucleolare 4. Sono risultati dubbi (dil >1:40 e ≤ 1:80) 80 pz (9%); in questi casi si suggeriva un ulteriore controllo a distanza di alcune settimane. Negativi sono risultati i restanti 704 pz (81%).

*Conclusioni:* Il 10% della popolazione studiata è risultata positiva agli ANA, il 9% si trova in una zona overlap tra la popolazione sana e quella affetta da MAIS, inoltre, come già segnalato in letteratura, tra i positivi, prevalgono le femmine con l'83%. Nei due anni di attività abbiamo rilevato un incremento progressivo di richieste di dosaggio degli ANA, probabilmente per una maggiore attenzione dei clinici alla diagnostica delle malattie autoimmuni, tuttavia questo dato non corrisponde ad un aumento significativo dell'incidenza di tali malattie. I suddetti risultati confermano l'importanza strategica del Laboratorio di Patologia Clinica nella diagnosi e nel monitoraggio delle MAIS.

## VALUTAZIONE MARCATORIA AUTOIMMUNITÀ IN SOGGETTI CON INFEZIONE CRONICA DA HCV

B-04

**P. Minchella, R.A. Leone, A. Borelli, V. Caruso, S. Piccioli, D. Caruso, M. Camerino, M.I. Carlei, M. Piccoli, C. Di Leo, C. Folino, B. Gagliardi, A. Nicolazzo, A. Luciano**

U.O. Microbiologia e Virologia, Azienda Sanitaria Provinciale di Catanzaro, Lamezia Terme (CZ)

*Introduzione.* L'infezione cronica da HCV è talvolta associata a disfunzioni del sistema immunitario come malattie con produzione o depositi di complessi immuni o patologie francamente autoimmuni con presenza di autoanticorpi organospecifici o non organospecifici. Il linfotropismo di HCV può suggerire l'ipotesi di un legame tra infezione virale cronica ed insorgenza di disordini di tipo autoimmunitario.

*Scopo del lavoro.* Valutare l'eventuale positività di alcuni marcatori di autoimmunità (ANA, AMA, ASMA, LKM, anti-PR3, anti-MPO) in un gruppo di pazienti con infezione cronica da HCV, monitorati periodicamente presso l'U.O. di Microbiologia e Virologia del P.O. di Lamezia Terme (Azienda Sanitaria Provinciale di Catanzaro), durante l'arco di un anno.

*Materiali.* Sono stati presi in considerazione n. 181 pazienti (118 maschi e 63 femmine, età media di circa 40 anni) con infezione cronica da HCV, con viremia compresa tra 19.000 e 8.100.000 UI/mL, non ancora sottoposti a terapia farmacologica, monitorati nel periodo gennaio-dicembre 2007.

*Metodi.* A) HCV-RNA: metodo PCR Real-Time, test COBAS TaqMan HCV (Ditta Roche Diagnostics); B) Marcatori autoimmunità ANA, AMA, ASMA ed LKM: Metodo IFI su vetrini con substrato di cellule HEP2 per ANA e sezioni di fegato, rene e stomaco di ratto per AMA, ASMA, LKM (ditta Alifax); i campioni sono stati analizzati con diluizione 1:40; i sieri positivi sono stati successivamente valutati con diluizioni scalari fino alla determinazione del titolo; è stato utilizzato un microscopio a fluorescenza (ditta Nikon) e l'osservazione è stata eseguita al riparo dalla luce. C) Marcatori autoimmunità Anti-PR3 e Anti-MPO: Metodo EIA (ditta Alifax).

*Risultati.* N. 8 pazienti sono risultati positivi per ANA con un titolo 1:80 (n. 1 con fluorescenza granulare diffusa, n. 5 finemente granulare e n. 2 omogenea); n. 4 pazienti sono risultati ANA positivi con un titolo 1:160 (n. 3 con fluorescenza finemente granulare ed n. 1 omogenea); n. 1 paziente è risultato positivo per LKM; n. 1 paziente è risultato positivo per ASMA.

*Discussione e Conclusioni.* Dai risultati ottenuti si evidenzia come su 181 pazienti solo n. 12 hanno presentato positività per ANA (7%), n. 1 positività per LKM (0,5%), n. 1 positività per ASMA (0,5%), mentre ben 167 (92%) non hanno dimostrato alcuna positività. Si può pertanto concludere che nella popolazione pervenuta all'osservazione è stata riscontrata una percentuale bassa di positività ai marcatori di autoimmunità, che indica assenza di correlazione tra marcatori ed infezione cronica HCV, ma pur sempre una situazione di iperattività del sistema immunitario.

## RUOLO DEL LABORATORIO NELLA DIAGNOSI DI GASTRITE AUTOIMMUNE

B-05

**A. Antico, R. Bertolo, F. Siviero, G. Scuccato, A. Cappelletti, M. Pandin, P. Sartore, L. Bacelle**

Dipartimento di Patologia Clinica U.L.S.S. 15-Regione Veneto, P.O. Cittadella (PD)

*Scopo* del nostro studio è stato definire i sintomi di laboratorio presenti precocemente nella gastrite autoimmune (GAI) che rendono indicata l'esofagogastroduodenoscopia (EGDS) in un paziente clinicamente asintomatico.

*Materiali e metodi:* sono stati sottoposti a EGDS 36 pazienti, età compresa tra 25-87 anni, che mostravano anemia da carenza di vitamina B12 e ferropriva resistente alla terapia per os, risultati positivi per anticorpi anti cellule parietali gastriche (APCA) in immunofluorescenza (IFI) a titolo significativo (EUROIMMUN); 7 presentavano anche anticorpi anti fattore intrinseco (anti FI) (Immunoblotting ALIFAX). Nei 36 soggetti abbiamo dosato anche gastrinemia (MEDICAL SYSTEM) e grelinemia (IBL), marcatori biochimici di GAI e gli anti tireoperossidasi (aTPO, ROCHE) predittivi di tiroidite.

*Risultati:* 15 pazienti con età media 53 anni, assenza di anti FI e gastrinemia 10 volte il cut-off mostravano quadro istologico di GAI e presenza di aTPO nel 44% dei casi. 7 di età media 70 anni con anti FI e gastrinemia 15 volte il limite decisionale presentavano atrofia metaplasica della mucosa gastrica e positività per aTPO nel 40% dei casi. 5 soggetti, età media 71 anni, senza anti FI e normogastrinemia erano affetti da gastrite multifocale da *Helicobacter pylori*; nessuno presentava aTPO. 9 di età media 46 anni con assenza di anti FI e normogastrinemia evidenziavano all'esame biptico flogosi linfocitaria e aTPO nel 40% dei casi. I valori di grelina risultavano significativamente ridotti nei 36 pazienti APCA positivi ( $x=16$  fmol/mL) rispetto alla popolazione sana (95 fmol/mL), senza correlazione con gastrinemia, anti FI e quadro istologico.

*Discussione:* dai nostri dati emerge che titoli  $> 1:160$  di APCA e ipergastrinemia hanno elevato valore predittivo di GAI e la presenza di anti FI correla con danno istologico più severo. Il titolo APCA presenta evidente overlap tra pazienti con GAI e atrofia gastrica; il calo della grelinemia si associa con la presenza di APCA, non con uno specifico quadro istologico. Il 40% dei pazienti con GAI evidenzia aTPO. Studi prospettici servono per valutare il significato clinico di APCA nei pazienti con meno di 40 anni e flogosi linfocitaria della mucosa, normogastrinemia e assenza di anti FI.

*Conclusioni:* La ricerca di APCA, anti FI e il dosaggio della gastrina sono indicati nei soggetti che presentano all'esame obiettivo di laboratorio anemia sideropenica resistente alla terapia per os, anemia da carenza di vitamina B12 o tiroidite autoimmune. L'efficacia clinica di tali sintomi di laboratorio consentono un'appropriata selezione del paziente asintomatico da sottoporre a EGDS.

**ANTI TNF $\alpha$  ED AUTOIMMUNITA' IN 75 PAZIENTI REUMATICI****B-06****L. Bettoni, P. Perini, B. Milanesi**

Dip. Medicina di Laboratorio, A.O. Desenzano del Garda (BS)

*Scopo dello studio.* Il trattamento con farmaci biologici diretti contro il TNF $\alpha$  ha portato a grandi progressi e successi nella terapia delle malattie reumatiche infiammatorie. Peraltro, qualsiasi agente biologico può indurre la formazione di autoanticorpi. Lo studio si propone di valutare nei nostri pazienti l'induzione di autoimmunità esercitata dagli anti-TNF $\alpha$  e gli effetti clinici.

*Pazienti e metodi.* Sono stati valutati 75 pazienti (28 maschi e 47 femmine) afferenti all'ambulatorio reumatologico negli anni 2002-2008, i cui esami immunologici, eseguiti prima di essere trattati con anti-TNF $\alpha$ , erano risultati tutti negativi. L'età media era di 48,6 anni (range 36-65). I pazienti che hanno ricevuto Infliximab sono stati 26, Etanercept 43 ed Adalimumab 6. La maggior parte di essi era affetta da artrite reumatoide (65 pazienti), 9 da artrite psoriasica ed 1 paziente da spondilite anchilosante. Dopo 12 mesi dall'inizio della terapia biologica è stato rivalutato l'assetto immunologico e, nei positivi per autoanticorpi, è stato attuato un monitoraggio dei segni clinici per 36 mesi.

*Risultati.* I pazienti che hanno ricevuto Infliximab, anticorpo chimerico, umano-murino, monoclonale IgG1, hanno presentato una positivizzazione degli anticorpi anti-nucleo nel 34,6% dei casi (9/26 pazienti) e degli anti ds-DNA nell'11,5% (3/26); Etanercept, dimero di proteina chimerica geneticamente preparata tramite fusione del dominio extracellulare del recettore 2 del TNF $\alpha$  umano (TNFR2/p75) responsabile del legame con la frazione Fc dell'immunoglobulina IgG1, ha indotto positività per anti-nucleo nel 11,6% dei casi (5/43 pazienti) e per anti ds-DNA nel 6,9% (3/43); Adalimumab, anticorpo monoclonale ricombinante IgG1 umano specifico per il TNF $\alpha$  umano, ha indotto solo formazione di anti-nucleo nel 16,6% dei pazienti (1/6), senza evidenza di anti ds-DNA. In nessun caso è stato riscontrata la formazione di auto-anticorpi organo specifici. Si è inoltre osservato che la positivizzazione per autoanticorpi è stata riscontrata solo nella quota di pazienti affetti da artrite reumatoide. Infine, in nessun paziente con segni sierologici di autoimmunità indotta dagli anti-TNF $\alpha$  si è rilevata, nel periodo di osservazione, la comparsa di sindromi lupiche o patologie autoimmuni.

*Conclusioni.* I farmaci biologici bloccando il TNF stimolano la produzione di autoanticorpi, alterando i meccanismi di controllo dell'organismo sull'autoimmunità. Tale induzione anticorpale è direttamente correlata alle caratteristiche del farmaco impiegato. La presenza di auto-anticorpi (anti-nucleo ed anti dsDNA), benchè frequente in corso di terapia con farmaci biologici, nella nostra casistica non ha determinato segni clinici nel lungo termine. Si rileva, quindi, una sostanziale analogia del buon profilo di sicurezza e di efficacia dei farmaci biologici.

**SIGNIFICATO CLINICO DEGLI ANTI MIDBODY****B-07****L. Bettoni, P. Perini, B. Milanesi**

Dip. Medicina di Laboratorio, A.O. Desenzano del Garda (BS)

*Scopo dello studio.* Nella diagnostica fluoroscopica delle patologie autoimmuni sistemiche la presenza di quadri mitotici è abbastanza rara e con una correlazione clinica non ancora esattamente definita. Lo studio si propone di analizzare le caratteristiche cliniche di pazienti con positività per anticorpi anti midbody.

*Pazienti e metodi.* Sono state valutate clinicamente e prospetticamente 7 pazienti di sesso femminile. L'età media era di 33,2 anni (range 29-39). Tutte le pazienti presentavano una positività per anticorpi anti-nucleo a pattern midbody, confermata in almeno 2 distinti controlli, con titolo uguale o maggiore a 1:160.

*Risultati.* Le pazienti, al momento della prima valutazione, presentavano le seguenti caratteristiche cliniche: Raynaud alle mani (7/7 pazienti), dita edematose o "puffy fingers" (5/7), artralgie (5/7), astenia (5/7), disfagia (1/7). Nessuna di esse presentava lesioni trofiche acroposte. Non sono emerse a livello anamnestico patologie o farmaci di rilievo. Tutte le pazienti sono state sottoposte ad approfondimento diagnostico con: capillaroscopia periungueale ed esami ematici. La capillaroscopia ha documentato in 5/7 pazienti alterazioni aspecifiche, mentre 2/7 pazienti presentavano uno "scleroderma pattern slow type"; gli esami di routine ed ormonali erano in tutte nella norma, l'assetto immunologico era alterato in 6/7 pazienti con una lieve riduzione del C3, lo studio dell'autoimmunità evidenziava solo la persistente positività per anti midbody. In assenza dei necessari criteri non si è potuto diagnosticare una connettivite differenziata (CTD) in nessuna paziente. A tutte è stata consigliata terapia con Idrossiclorochina 200 mg/die, monitorando semestralmente il campo visivo. Nel corso del "follow up" (36 mesi) si è evidenziata una normalizzazione dei valori di C3 in tutte le pazienti. In un caso si è notato uno "shift" fluoroscopico da anti midbody ad anti Scl-70, senza peraltro associate variazioni cliniche. Il quadro capillaroscopico è evoluto in tutte le pazienti verso uno "scleroderma pattern slow type". Infine, dal punto di vista clinico, al termine del monitoraggio, le pazienti presentavano le seguenti caratteristiche: Raynaud alle mani stabile (7/7 pazienti), "puffy fingers" (7/7), astenia (5/7). Le pazienti continuano, dopo 36 mesi, ad essere clinicamente inquadrate come affette da connettivite indifferenziata (UCTD) "ad impronta sclerodermica".

*Conclusioni.* La presenza di anti midbody, nella nostra casistica, si correla ad uno stato pre-sclerodermico, senza significative evoluzioni verso una forma differenziata, nell'arco di 36 mesi. Ulteriori studi chiariranno se tali evidenze sono caratteristiche di questo "subset" di pazienti o se la capacità immunomodulante dell'Idrossiclorochina può aver giocato un ruolo nella stabilizzazione di malattia.

## INDAGINE SULLA PREVALENZA DELLE IgE SPECIFICHE E DEGLI ANTICORPI ANTITRANSGLUTAMINASI IgA NELLA PROVINCIA DI MODENA

B-08

**A.T. Scacchetti, A. Fortuna, A. Melegari**

Serv.Lab.An.Ch-Cliniche, Az.Osp.-Universitaria, Policlinico-Modena

*Scopo del lavoro:* Il tratto GI, rappresenta un luogo di elezione per le reazioni di ipersensibilità: in primo luogo esso costituisce una delle più vaste superfici dell'organismo, inoltre esso viene stimolato da migliaia di antigeni di fonte alimentare come proteine. Secondo la recente classificazione, US FDA-CFSAN 2006, la patologia celiaca e l'allergia alimentare IgE mediata, sono accomunate nella definizione di ipersensibilità immunologica. Il lavoro che presentiamo è volto ad osservare, attraverso uno studio di prevalenza, i pz con sospetto di ipersensibilità gastrointestinale, che sono risultati positivi e/o sensibilizzati rispettivamente alla ricerca degli Ab antitransglutaminasi IgA e/o delle IgE Specifiche.

*Materiali e metodi:* Abbiamo esaminato, dal 2007 al 2008, un campione costituito da 9484 pz (5681 femmine, 3803 maschi, età compresa tra 8 mesi e 88 anni) con diverse tipologie di richiesta: tTG IgA, tTG IgA ed IgE specifiche, IgE specifiche. I pazienti appartenenti alla provincia di Modena, presentavano le seguenti sintomatologie: perdita di peso nell'adulto, ritardo di crescita nel bambino, atopia, nausea postprandiale, vomito, dolore addominale, meteorismo, steatorrea, diarrea, malassorbimento, sanguinamento intestinale occulto. La determinazione dell tTG IgA è stata fatta con metodo Elisa Eu-tTG IgA New-Eurospital su strumentazione TeK 4 – Alifax. La ricerca delle IgE specifiche è avvenuta con il sistema Specific IgE FEIA-Immucap 250(Phadia).

*Risultati:* 312 pz sono risultati positivi al test della tTG IgA con una prevalenza del 3,2%. La pop.pediatrica, (4099 pz=43%), ha mostrato una vistosa positività (177 pz=56%). La prev. di sensibilizzazione delle IgE Specif. vs almeno un allergene alimentare, è risultata del 12% (maggiore frequenza di sensibilizzazione per gli allergeni di origine vegetale, minore sensibilizzazione vs allergeni di origine animale); 22 pazienti sono risultati positivi ad entrambi i markers indagati. Una sub popolazione (590 pz, appartenenti a diverse etnie) ha mostrato una prevalenza di positività e sensibilizzazione rispettivamente al test tTG IgA e IgE Specifiche del 2.5% e del 5%.

*Conclusioni:* I risultati positivi al test della tTG IgA sono stati tutti confermati con EMA in IFA. In accordo con i dati della letteratura, abbiamo riscontrato una maggiore frequenza di sensibilizzazione verso gli allergeni di origine vegetale (probabili fenomeni di cross-reattività con i pollini). Per quanto riguarda gli allergeni di origine animale, sicuramente il latte e l'albume (pz.pediatrici prevalenti) mostrano una frequenza superiore rispetto alle carni di pesce, maiale e vitello. La scarsa sensibilizzazione presente nella sub-popolazione potrebbe essere dovuta alla componente ambientale e allo stile di vita occidentale: ipotesi Igienica

## VALUTAZIONE DI UN PATTERN DIAGNOSTICO DELL'ARTRITE REUMATOIDE IN UNA POPOLAZIONE SELEZIONATA DELLA REGIONE TOSCANA

B-09

**S. De Cesaris, S. Del Bontà, A. Buggiani, A.M. Mori, G. Lupi, P. Costagli**

Laboratorio Analisi Ospedale - Azienda USL 11 - Empoli - Toscana

*Scopo del lavoro:* Abbiamo valutato i risultati dell'utilizzo di un pattern di esami per la diagnosi di Artrite Reumatoide (AR) in una popolazione selezionata.

*Materiali e metodi:* Sono stati presi in esame 100 Pazienti (28 M, 72F) consecutivi che erano stati indirizzati al nostro laboratorio con la richiesta di esami, fra i quali era compresa la determinazione del Fattore Reumatoide (FR) e/o degli anticorpi anti peptidi citrullinati (CCP). A tutti sono stati determinati comunque FR (Immunonefelometria), CCP (Immunofluorimetria), ed ANA (Immunofluorescenza indiretta). È stato possibile contattare fino ad oggi 51 medici curanti, che ci hanno fornito la diagnosi definitiva di 56 pazienti.

*Risultati:* Di 100 pazienti esaminati: 91 sono FR positivi, 9 sono FR negativi; tra i FR positivi ci sono 54 CCP positivi e 37 CCP negativi; tra i FR negativi ci sono 7 CCP positivi e 2 CCP negativi. Tra i 56 pazienti con diagnosi acclarata, 31 hanno AR, 25 hanno altre patologie. Dei 31 pazienti con AR, 25 hanno FR positivo e 6 FR negativo; tutti i FR positivi sono risultati positivi anche al CCP. Tra i 6 pazienti con AR con FR negativo, 4 sono positivi al CCP. Dei 25 pazienti senza AR, tutti e 25 sono risultati positivi per il FR e solo 1 positivo per il CCP. Gli ANA sono positivi in 19 soggetti con AR. Complessivamente dei 31 soggetti con AR, 27 hanno FR positivo, 29 CCP positivo. Dei 25 soggetti con diagnosi diversa da AR, quelli con FR positivo sono 25, quelli con CCP positivo 1.

*Discussione e conclusioni:* Seppur con una casistica limitata si possono effettuare alcune valutazioni preliminari: nei soggetti con AR, il FR è positivo nell'86%, il CCP è positivo nel 93%. Nei soggetti con patologia diversa dall'AR, il FR è positivo in tutti i casi, mentre gli anticorpi anti CCP sono presenti solo in un caso. Si può quindi concludere che:

- 1) la determinazione dei CCP è sicuramente più specifica della determinazione del FR per la diagnosi di AR;
- 2) la determinazione degli ANA non aggiunge informazioni utili nella diagnosi di AR.

## ANTICORPIANTI-RECETTORE DEL TSH (TRAb): CONFRONTO TRA METODO IMMUNORADIOMETRICO E METODO IMMUNOELETTROCHEMILUMINESCENTE

B-10

**E. Toffalori, F. Dal Bosco, A. Casagrande, E. Maggioni, A. Briani, P. Caciagli**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica Pergine Valsugana-APSS Trento

*Scopo.* Attualmente nel nostro laboratorio viene eseguita la determinazione dei TRAb con metodo manuale Immunoradiometrico (RIA). Abbiamo ritenuto utile confrontare il metodo in uso manuale con un nuovo metodo automatizzato Immunoelettrochemiluminescente (ECLIA).

*Materiali e metodi.* Campioni n. 74 richiesti in routine sono stati congelati a  $-20^{\circ}\text{C}$  e analizzati in due sedute analitiche con metodo RIA kit TYBIA DIASORIN e contemporaneamente anche con metodo ECLIA kit Anti-TSHR ROCHE Diagnostics utilizzando l'analizzatore automatico Modular E170. Caratteristiche metodo manuale RIA: competitivo in fase liquida (miscela di recettore TSH porcino e siero paziente, aggiunta di TSH bovino marcato iodio 125 e precipitazione recettore TSH); lettura con gammacounter; valori negativi  $<9$ , zona grigia 9-14, positivi  $>14$  U/L; dichiarato calibrato con MRC standard LATS-B 65/122 e con TSAb WHO 90/672. Caratteristiche metodo ECLIA: competitivo in fase liquida (miscela di recettore TSH porcino e Ab murino biotilinato e siero paziente, aggiunta di Ab monoclonale umano M22 antirecettore TSH marcato con rutenio e microparticelle con streptoavidina); immobilizzazione magnetica e rivelazione fotonica; valori negativi  $<1,75$  IU/L; dichiarato calibrato con IS 90/672 dell'NIBSC. Come concentrazione minima sono stati utilizzati i valori di sensibilità analitica: RIA 2.4 -ECLIA 0.3 IU/L

*Risultati.* Le concentrazioni sono state valutate per ogni metodo in relazione al cut-off di normalità indicato dalla ditta produttrice, 1.75 IU/L per i dosaggi ECLIA e 14 U/L per i dosaggi RIA (conc/cut-off %). La retta di regressione con i valori ECLIA sull'asse x e RIA in y è risultata  $y=0.32x + 17.27$  con  $R^2=0.92$ ; togliendo i tre valori con titolo anticorpale molto elevato in entrambi i metodi la retta risulta  $y=0.20x + 23.06$  con  $R^2=0.57$ . Dalla valutazione dei singoli valori si rilevano concordanti 67/74 = 90.5% (63 negativi, 4 positivi), discordanti 7/74 = 9.5% (7 positivi solo con ECLIA di cui però 4 in zona grigia RIA).

*Discussione e conclusione.* Complessivamente le due metodiche sono ben correlate, il basso coefficiente di regressione risultato senza i valori molto elevati è spiegabile dalla differenza di concentrazione rilevata nei valori normali. La metodica RIA ha sottostimato rispetto al metodo ECLIA il 9% dei campioni che si riduce al 4% considerando positivi quelli con concentrazione in zona grigia. Per poter affermare con sicurezza le valutazioni fatte sarebbe necessario verificare la clinica dei pazienti o avere un metodo di riferimento. Il metodo ECLIA ha il vantaggio di essere più veloce, completamente automatizzato ed utilizzabile con Elecsys 2010, Modular Analytics E170, Cobas e411, Cobas e601.

## DETERMINAZIONE DEGLI AUTOANTICORPIANTI-BP230: NUOVO TEST PER LA DIAGNOSI ED IL MONITORAGGIO DEL PEMFIGOIDE BOLLOSO

B-11

**M. Tamponia<sup>1</sup>, A. Zucano<sup>1</sup>, V. Lattanzi<sup>2</sup>, R. Filotico<sup>2</sup>, M.C. Petrelli<sup>1</sup>, A. Fontana<sup>1</sup>, G.A. Vena<sup>2</sup>, F. Di Serio<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio Patologia Clinica I, Ospedale Policlinico di Bari, Italia; <sup>2</sup>Dermatologia Clinica Universitaria, Ospedale Policlinico di Bari, Italia

*Scopo del lavoro.* Il Pemfigoide Bolloso (PB) è una malattia autoimmune della cute, caratterizzata dalla presenza di autoanticorpi tessutali e circolanti, diretti contro strutture della membrana basale dell'epidermide, in particolare le proteine BP180 e BP230. Scopo del lavoro è stato valutare l'accuratezza diagnostica di un nuovo test ELISA nella determinazione degli autoanticorpi anti-BP230 in pazienti affetti da PB.

*Pazienti e Metodi.* Sono stati studiati 36 pazienti (15 maschi, 21 femmine; età media 76 anni, range 71-85) affetti da pemfigoide bolloso, consecutivamente arruolati presso la Clinica Dermatologica, Università di Bari, da dicembre 2007 a luglio 2008. 15 pazienti presentavano fase attiva di malattia. Sono stati valutati inoltre 25 pazienti affetti da altre malattie bollose (pemfigo volgare e foliaceo, lichen ruben planus, lupus eritematoso discoide, epidermolisi bollosa) e 40 soggetti sani, cross-matched per sesso ed età. Il dosaggio degli anticorpi anti-BP230 è stato eseguito con un nuovo test ELISA che utilizza proteine umane ricombinanti anti-BP230 (MBL, Nagoya, Giappone). Su tutti i pazienti è stato eseguito anche il dosaggio degli anticorpi anti-BP180 (MBL, Nagoya, Giappone).

*Risultati.* Al valore di cut off 8.9 U/mL, ottenuto mediante l'analisi delle curve ROC, la sensibilità e la specificità del test anti-BP230 è stata dell'80% e del 97.8%, rispettivamente. Al valore di cut off 7.2 U/mL, la sensibilità e la specificità del test anti-BP180 è stata dell'80% e del 95.6%, rispettivamente. Se associati, i due test hanno mostrato una specificità diagnostica del 98.3%. Nei pazienti in remissione clinica il dosaggio dei due test ha presentato differenze significative: 6/21 (28.6%) sono risultati positivi ai soli autoanticorpi anti-BP180 ( $P=0.008$ ).

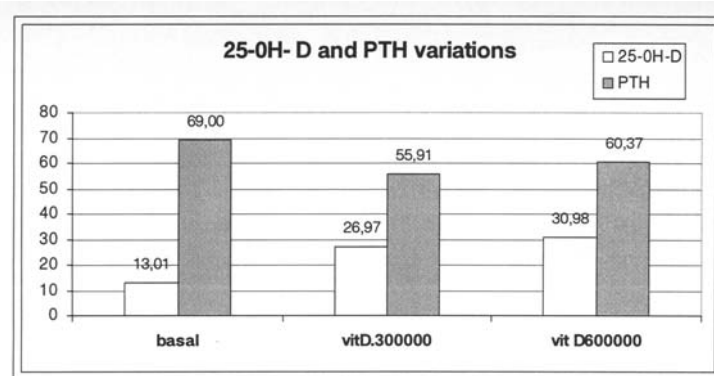
*Conclusioni.* Il nuovo test ELISA per il dosaggio degli autoanticorpi anti-BP230 ha mostrato un'elevata specificità clinica. Il test attualmente disponibile e completamente automatizzabile è utile in associazione al test anti-BP180 ELISA nella diagnosi e nel follow up dei pazienti con PB.

**25-OH-D AND PTH AFTER A HIGH SINGLE DOSE OF VITAMIN D3****B-12**

**F.M. Lattanzio\***, L. Vianale, A. De Remigis, G. Di Biase\*, S. Matera\*, B. De Laurentiis, P. De Remigis  
Endocrine Unit-Clinic Pathology; \*General Hospital Chieti

Vitamin D plays a significant role on bone health and even on extraskeletal targets. In our region a severe deficit of vitamin D was found in subjects older than 65 yr (25-OH-D less than 10 ng/ml). We planned a vitamin D profilaxis. Here preliminary results are reported after three months. 80 subjects (65 to 85 yr, 70% female) were administered on January with ergocalciferol single high dose per os as two different formulations (Dibase 300.000 and 600000 U.I). Blood sample was collected to assay serum 25-OH-D, PTH (commercial tests Diasorin and AIA Pack TOSOH). Figure shows results: 25-OH-D increased and PTH decreased significantly, but with no significant differences between two doses.

The first target is to look at time-course of 25-OH-D and PTH. As first effect 25-D concentrations reached fine levels as indicated by guidelines; conversely, PTH levels demonstrate a negative correlation with 25-OH-D, showing compensation of secondary hyperparathyroidism. As first result it was shown the positive effect and the safety of this prophylaxis, that compensated a severe vitamin D deficit. We are looking forward to appreciate till when the beneficial effect of one single high dose will extend.

**THYROID ANTIBODIES PREVALENCE BETWEEN IN ITALIAN REGIONS****B-13**

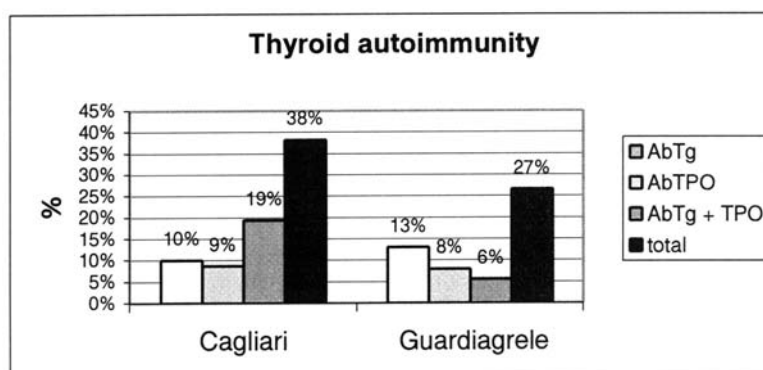
**M.F. Lattanzio**, G. Mulas\*, G. Meloni\*, L. Vianale, A. De Remigis, S. Matera, P. De Remigis  
Endocrine Unit\* and Clinic Pathology\*\* Brotzu Hospital Cagliari; General Hospital - Chieti

From epidemiological point of view Sardinia represents an intriguing model for low-migration population and ethnicity. A high incidence of some diseases related to autoimmunity was shown. Comparative study was performed in the two regions for thyroid antibodies (TABs).

Subjects, referred on the last year to labs to get biochemical tests and made TABs. The two groups included 1155 subjects (503, 69.9% female, 30.1% males from Sardinia and 652 from Abruzzo, 57% males and 43% females) aged 19 to 85 yrs.

The results show the prevalence of TA is significantly higher in Sardinia group than in Abruzzo one (see figure), 38% versus 26%. Significant differences were found in relationship to gender, every age classes we considered, with higher concentrations in Sardinia population at any age, and type of TA; in the last case we selected three kind of subjects: with only TgAb or TPOAb positive, and with both positive.

The levels of Tab were higher in all groups, but for the first one (TgAb positive). This evidence may reflect from one side different genomic patterns, but even environmental factors that have to be investigated.



## IL DOSAGGIO SIMULTANEO DELLE CITOCHINE PRESENTA SIGNIFICATO DIAGNOSTICO NELLE MALATTIE AUTOIMMUNI DELLA TIROIDE: MITO O REALTÀ?

B-14

**R. Tozzoli\***, **G. Kodermaz\***, **D. Villalta\*\***, **E. Tonutti\*\*\***, **N. Bizzaro\*\*\*\***

\*Laboratorio di Analisi Chimico-cliniche, Ospedale Civile di Latisana; \*\*Allergologia ed Immunologia Clinica, Azienda Ospedaliera di Pordenone; \*\*\*Immunopatologia e Allergologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Udine; \*\*\*\*Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile di Tolmezzo

*Scopo del lavoro.* Le malattie autoimmuni della tiroide (AITD) sono malattie caratterizzate istologicamente da una infiltrazione linfocitaria dell'organo bersaglio, che porta a distruzione tissutale e perdita di funzione. Dato che le citochine e in particolare le chemochine svolgono un ruolo importante nell'orchestrare il movimento dei linfociti e la formazione delle strutture linfoidi, lo scopo di questo studio è stata l'analisi dell'associazione tra variazioni delle concentrazioni circolanti delle citochine e l'insorgenza e la progressione delle AITD, per evidenziare un ruolo patogenetico e/o diagnostico al dosaggio di queste molecole.

*Materiali e metodi.* Sono stati studiati complessivamente 125 soggetti, 59 dei quali erano affetti da AITD, cioè 29 da morbo di Basedow-Graves (MG) e 30 da tiroidite di Hashimoto (TH), mentre 66 erano soggetti sani, di pari età, che rappresentavano il gruppo di controllo. Il dosaggio simultaneo delle citochine IL1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, VEGF, IFN $\gamma$ , EGF, TNF $\alpha$  e delle chemochine IL-8 e MCP-1 è stato eseguito con un metodo immunometrico a determinazione multipla (Randox Laboratories, Cruclin, UK), che utilizza una tecnologia proteomica costituita da un microarray planare (biochip) ed un tracciante chemiluminescente; la lettura dei risultati è stata effettuata mediante l'impiego dell'analizzatore Evidence Investigator.

*Risultati.* Rispetto ai soggetti di controllo, le concentrazioni di IL1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-10, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  non sono risultate modificate nei pazienti affetti da AITD. I livelli di VEGF, EGF, MCP-1 (CCL2) sono apparsi significativamente aumentati nei pazienti affetti da MG, mentre le concentrazioni di IL-6 e IL-8 (CXCL8) sono risultate aumentate nei pazienti affetti da HT.

*Discussione e conclusioni.* Le citochine VEGF, CCL-2 e CXCL8 appaiono svolgere un importante ruolo patogenetico nelle AITD e il loro dosaggio presenta utilità diagnostica, anche se ulteriori studi sono necessari, in particolare analizzando i pazienti nelle diverse fasi della storia naturale delle AITD.

## ANTICORPIANTI-CARDIOLIPINA E ANTI-B2 GLICOPROTEINA I IN CORSO DI APS: METODIA CONFRONTO

B-15

**P. Sabatini\***, **A. Sorrentino\***, **R. Iervolino\***, **Z. Senatore\***, **L. Clemente\***, **I. Soriente\***

\*UOC Patologia Clinica, D.E.A.II Umberto I-Nocera Inferiore-A.S.L.SA1

*Scopo del lavoro:* La sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (APS) o sindrome di Hughes è un disordine protrombotico multi-sistemico, associato alla presenza di autoanticorpi diretti contro varie proteine leganti fosfolipidi. Per l'eterogeneità delle sue manifestazioni la diagnosi di APS è spesso ritardata anche di anni comportando disabilità e aumento della morbilità e della mortalità. Pertanto è sembrato interessante verificare l'efficienza di kit diagnostici per il dosaggio di anticorpi anti-cardiolipina IgG/IgM e anti- $\beta$ 2 glicoproteina I IgG/IgM, basati su metodica EIA e FEIA allo scopo di consentire una diagnosi precoce e garantire una terapia adeguata.

*Materiali e metodi:* Il siero e il plasma di 113 pazienti, di cui 63 con sospetto clinico di APS e 50 sani, in età compresa tra 20-70 anni, è stato sottoposto al dosaggio dei tre test-criterio secondo le linee guida di Sydney 2004. Per le prove coagulative sono stati utilizzati i kit ed apparecchiatura forniti dalla ditta Instrument Laboratory (IL). Il dosaggio degli anticorpi anti-Cardiolipina IgG/IgM e anti- $\beta$ 2 glicoproteina I IgG/IgM è stato eseguito con metodica EIA utilizzando kit diagnostici della ditta Grifols e Alifax, e in FEIA con reattivi della Phadia.

*Risultati:* lo studio condotto, per il dosaggio degli anticorpi anti-Cardiolipina IgG/IgM e anti- $\beta$ 2 glicoproteina I IgG/IgM, ha mostrato che il valore predittivo positivo (VPP) è pari al 61% per la ditta Alifax, al 65% per la ditta Grifols e al 71% per la Phadia. In termini di valore predittivo negativo (VPN) i risultati mostrano un valore del 94% per la ditta Alifax, del 95% per la ditta Grifols, e del 91% per quelli della ditta Phadia. Per quanto riguarda il coefficiente di incidenza (CI) esso risulta pari al 78% per l'Alifax, all'80% per la Grifols e all'86% per la Phadia.

*Conclusioni:* Nel sospetto clinico di APS la diagnosi precoce si avvale dei tre test-criterio di laboratorio. Infatti per la diagnosi di APS è sufficiente, oltre ad un criterio clinico, la positività anche di uno solo dei tre test. I risultati ottenuti dal nostro studio evidenziano che i dosaggi eseguiti con il metodo FEIA hanno una maggiore performance rispetto al metodo EIA.



**ANTICORPIANTI-CITRULLINA: GENERAZIONI A CONFRONTO****B-16****P. Sabatini\*, A. Tedesco, Z. Senatore\*, L. Clemente\*, I. Soriente\*, R. Marchitello\***

\*UOC Patologia Clinica, D.E.A. II Umberto I-Nocera Inferiore-A.S.L.SA1

*Scopo:* L'Artrite Reumatoide (AR) è una patologia autoimmune che richiede una diagnosi precoce. Il dosaggio degli anticorpi anti-CCP sembra essere, per la elevata specificità e l'alto valore predittivo positivo, un buon marcatore nella diagnosi di questa patologia. Inoltre, vi sono evidenze in letteratura che gli anti-CCP possano comparire nel sangue molti anni prima delle manifestazioni cliniche e della diagnosi di AR. E' sembrato pertanto interessante valutare la performance di differenti kit diagnostici per il dosaggio degli anticorpi anti-CCP.

*Materiali e metodi:* Sono stati valutati, 144 pazienti, di cui 49 con sospetto di AR, 15 con diagnosi di artrite reumatoide e 50 sani. I test utilizzati per lo studio sono CCP 2, CCP 3 (Inova Diagnostics, San Diego, United States of America) e EliA CCP (Phadia, Freiburg, Germany). I test CCP 2 ed EliA CCP utilizzano lo stesso antigene (CCP di seconda generazione), mentre il test CCP 3 utilizza un differente antigene definito di terza generazione.

*Risultati:* Nel gruppo di pazienti con AR conclamata si è osservata una positività del 93.3%, del 66.7% e dell' 80.0% rispettivamente nei test CCP2, CCP 3 ed EliA CCP. La specificità osservata nel gruppo di pazienti con sospetta AR è stata dell' 84.1%, del 90.9% e del 93.2%. C'è una maggiore discordanza tra Inova CCP 2 ed EliA CCP che tra Inova CCP 3 ed EliA CCP, nonostante i primi due utilizzino lo stesso antigene. Infatti i 7 campioni, di cui 3 con diagnosi di AR e 4 con sospetto di AR, sono risultati positivi con il test Inova CCP 2 e negativi con CCP 3, si sono confermati negativi con EliA CCP che usa lo stesso antigene di 2nd generazione del test CCP 2. Soltanto un campione risultato positivo con i kit di 2nd generazione, è invece risultato negativo con quello di 3rd generation (CCP 3).

*Conclusioni:* Il test di 3rd generazione (CCP 3) non mostra un evidente incremento di sensibilità e specificità. Il test Inova CCP 2 produce dei risultati falsi positivi, ma questo è dovuto probabilmente ad un legame aspecifico potenzialmente creato nei pozzetti per il dosaggio ELISA, dal momento che l'antigene dei due test di 2nd generazione è identico.

**DETERMINAZIONE DEGLI ANCA: ESPERIENZE DEGLI ULTIMI 2 ANNI****B-17****C. Marinelli, M. Liguori, A. Lubelli, M. Angius**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio. Azienda Ospedaliera "G. Brotzu". Cagliari

*Scopo del lavoro:* Analizzare i dati ottenuti in tale periodo nella determinazione degli anticorpi anti citoplasma dei neutrofilici (ANCA) per la diagnosi di sospetta vasculite, alla luce delle nuove conoscenze e metodologie di ricerca.

*Materiali e Metodi:* Secondo le più recenti linee guida abbiamo utilizzato la metodica IFI come screening, l'ELISA per il dosaggio autoanticorpale e per richieste particolari. Dal marzo 2006 all'agosto 2008 sono stati eseguiti in totale 1512 test in ELISA e 5594 in IFI per determinare rispettivamente MPO e PR3 (ELISA) e pANCA (IFI). Per l'IFI è stato utilizzato il kit Mosaic Granulociti 4 (Euroimmun, Germania). Per l'ELISA lo strumento Unicap 100 con metodica Elia (Phadia, Svezia), utilizzando i cut-off proposti dal produttore.

*Risultati:* ELISA MPO: i negativi totali sono stati 697 (92.19%), 468 (82.2%) calcolati per singolo paziente. I test positivi totali sono stati 59 (7.8%) mentre per singolo 26 (4.6%). Per i PR3: negativi 669 (88.4%) in totale e 478 (84%) per singolo, i positivi totali 87 (11.5%), 21 (3.7%) calcolando i singoli. IFI: pANCA 2687 (96%) negativi totali, 95% per singolo. Positivi totali 110 (3.9%), 4.86% nei casi singoli. cANCA totali negativi 2704 (96.6) per singolo 95.88%, totali positivi 93 (3.3%) e 4.11% singolarmente. Tra i casi particolari segnaliamo: 1) test border-line: 14 MPO e 9 PR3 tutti risultati positivi in IFI con titoli tra 1:10/1:40 e che in seguito hanno tutti sviluppato positività anche in ELISA. 2) 1 caso: positività MPO ma cANCA in IFI. 3) In 4 casi: doppia positività in ELISA (ma solo 1 paziente con alti valori) con pattern IFI concordanti solo in 3 pazienti. 4) Un caso: alta positività per MPO ma cANCA positivo in IFI. 5) Nei casi ritenuti urgenti è stata richiesta la doppia metodica: il dato ottenuto in IFI è stato sempre confermato dall'ELISA.

*Discussione e conclusioni:* Dai dati ottenuti si possono trarre le seguenti considerazioni: 1) Le discrepanze tra IFI ed ELISA per test e singoli pazienti sono verosimilmente da attribuirsi al fatto che i test ELISA sono ripetutamente richiesti per i positivi già noti, probabilmente per ottenere il titolo autoanticorpale, che peraltro spesso si osserva restare invariato per lunghi periodi. 2) Sarebbe opportuna una maggiore appropriatezza delle richieste dei clinici e la determinazione di propri cut-off, specie per i border-line. 3) Lieve maggiore positività dell'IFI rispetto all'ELISA, con conseguenti dubbi sull'effettiva utilità della doppia metodica IFI+ELISA se non in casi clinicamente selezionati. E' nostra intenzione confrontarci con i colleghi clinici per chiarire meglio il significato dei numeri riferiti e calcolare indici epidemiologico-statistici più significativi al fine di adottare soluzioni per un migliore utilizzo del test.

**UN INTERESSANTE CASO DI POLIENDOCRINOPATIA AUTOIMMUNE DI TIPO IV****B-18****P. Sabatini\*\*\*\*, S. Esposito, M. Agrusta\*\*, A. Pepe\*\*\*, P. Amato\***

\*Dipartimento di Medicina A.S.L.SA1- Nocera Inferiore (SA); \*\*U.O.C. Endocrinologia A.S.L.SA1- Nocera Inferiore (SA);

\*\*\*Dermatologo Specialista A.S.L.SA1- Nocera Inferiore (SA); \*\*\*\*U.O.C. Patologia Clinica A.S.L.SA1 Nocera Inferiore (SA)

*Scopo:* La sindrome polighiandolare autoimmune (SPA) è una malattia autoimmune caratterizzata dalla presenza di due o più endocrinopatie più frequente in pazienti maschi (rapporto 3:1) di età compresa tra i 30 e 40 anni. La SPA I è trasmessa con modalità autosomica recessiva e non ha associazione con gli aplotipi HLA. Le SPA II, III e IV hanno una trasmissione familiare e in esse alcuni alleli HLA-DR3 e DR4 aumentano la suscettibilità alla malattia. Nei tipi III e IV si possono associare a patologie autoimmuni organo specifiche e non organo specifiche (celiachia, anemia perniciose, vitiligine, artrite reumatoide etc) secondo una qualsiasi sequenza. La diagnosi è resa complessa dalla natura aspecifica dei sintomi e dalla varietà delle patologie associate per cui l'integrazione tra clinico e laboratorio risulta indispensabile. Un ritardo diagnostico può mettere in pericolo la vita del paziente.

*Materiali e metodi:* Un soggetto di sesso maschile di 45 anni giungeva all'osservazione reumatologica per una periartrite scapolo-omeroale sx resistente alla terapia medica. Familiarità per gozzo tiroideo e celiachia. Ipoacusia in età infantile bilaterale più spiccata a sx per sclerosi della membrana timpanica. Nel 1996 in ambiente endocrinologico veniva posta diagnosi di diabete mellito autoimmune tipo I. Dopo circa quattro anni, sempre presso la stessa struttura, veniva diagnosticata una celiachia per la positività degli anticorpi anti endomisio, e anti trans-glutaminasi della classe IgA e IgG, e di una biopsia gastro-intestinale. Dopo altri sette anni veniva evidenziata una tiroidite autoimmune senza alterazione della funzionalità tiroidea. Nello stesso anno comparivano all'improvviso chiazze ipocromiche e acromiche al volto, al torace ed agli arti superiori. Veniva consultato un dermatologo che poneva diagnosi di vitiligine. Le chiazze acromiche comparivano a gittate continue coinvolgendo gran parte del viso con risparmio solo delle zone periorbitarie e perilabiale e inoltre una modesta alopecia. Venivano richiesti ulteriori esami a) per la ricerca di marcatori biomorali di malattie autoimmuni organo e non organo specifiche che mostravano un lieve aumento degli anticorpi antitireoperossidasi tiroidei (TPO Ab) e un aumento significativo degli antinucleo (ANA), senza una positività specifica per i biomarker di patologia reumatica, da seguire nel tempo, b) per investigare un eventuale anemia da malassorbimento, che non evidenziavano nessuna alterazione.

*Risultati:* Il quadro clinico supportato dal profilo diagnostico biomorale consentivano di porre diagnosi polispecialistica di SINDROME POLIENDOCRINOAUTOIMMUNE TIPO IV.

*Conclusioni:* Evidenze scientifiche sostengono che, fino ad un quarto dei pazienti affetti da una patologia autoimmune possono svilupparne un'altra o più di una nel corso della vita. Il caso clinico riportato evidenzia come la casualità di una patologia associata ha permesso di porre diagnosi di malattia autoimmune a carattere multidisciplinare consentendo un migliore outcome sul paziente.

**PROPOSTA DI UN NUOVO ALGORITMO DIAGNOSTICO PER LA DIAGNOSI E IL FOLLOW UP DELLA MALATTIA CELIACA (MC)****B-19****P. Piergrosso<sup>1</sup>, M. Infantino<sup>1</sup>, R. Saporito<sup>1</sup>, S. Salatino<sup>1</sup>, C. D'Asero<sup>1</sup>, M. Ruggeri<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale S. Pietro-Fatebenefratelli, Roma;<sup>2</sup>Azienda Ospedaliera S. Giovanni Addolorata, Roma

*Scopo dello studio:* Dimostrare l'utilità diagnostica di un test di screening sensibile e specifico per la celiachia che permette di proporre un nuovo algoritmo per la diagnosi e per il follow up della malattia celiaca (MC). Il presente algoritmo fornirebbe inoltre una riduzione dei costi ospedalieri in realtà medio-grandi scremando così l'alto numero di richieste che ad oggi è presente nei laboratori di analisi cliniche in virtù di una maggiore conoscenza fisiopatologica, clinica e laboratoristica della malattia e di una maggiore sensibilizzazione alla malattia da parte dei medici specialisti e dei medici di base.

*Materiali e metodi:* Sono stati analizzati 74 campioni di sieri afferenti all'Ospedale S. Pietro FBF (Roma) e all'Azienda Ospedaliera S. Giovanni Addolorata (Roma) con la richiesta di anticorpi antitransglutaminasi IgA e IgG e di anticorpi antigliadina IgA e IgG e positivi ad almeno uno di questi anticorpi. Come campioni negativi sono stati utilizzati 26 sieri di pazienti donatori. Per valutare infine l'interferenza di altri autoanticorpi è stato inserito un terzo gruppo di campioni positivi a titolo alto per altri autoanticorpi. Per il dosaggio immunoenzimatico degli anticorpi IgA-IgG contro la transglutaminasi tissutale umana (htTG) e contro i peptidi sintetici della gliadina (DPG) è stato usato il Quanta Lite htTG/DPG screen Inova fornito dalla ditta IL. Per il dosaggio immunoenzimatico dei singoli anticorpi sono stati usati i kit Quanta Lite h-tTG IgA e IgG e Quanta Elisa DPG IgG e IgA Inova, forniti dalla ditta Menarini.

*Risultati:* Percentuale di accordo positivi: 32/34 (94%); Percentuale di accordo negativi: 38/38 (100%); Accordo totale: 72/74 (97.9%)

*Discussione e conclusione:* Gli anticorpi anti-gliadina tradizionali si riscontrano anche in altre patologie al di fuori della MC; in realtà però gli anticorpi anti-gliadina correlati alla MC riconoscono un numero limitato di epitopi della gliadina; si è pensato così di passare a una gliadina sintetica, deamidata da parte della tTG, specifica di MC e che aumenta in modo significativo la sensibilità e la specificità "storica" di questo test (DPG=deamidated gliadin peptides). E' indubbia ormai nella popolazione pediatrica l'utilità diagnostica degli anticorpi anti-gliadina deamidata rispetto agli anticorpi anti-gliadina classici e rispetto agli anticorpi anti-tTG, in considerazione della tardiva comparsa sierologica di questi ultimi. Diversi studi hanno infatti dimostrato che gli anticorpi anti-DPG sono di notevole aiuto nel follow up dei bambini celiaci a dieta priva di glutine scomparendo sierologicamente più precocemente degli anticorpi anti-tTG. La combinazione degli anticorpi anti-DPG e degli anticorpi anti tTG offre una migliore sensibilità senza perdita di specificità nella diagnosi di MC e l'uso nel kit di screening di un coniugato anti IgG e anti IgA umane consente di rilevare inoltre la malattia anche in presenza di deficit di IgA.

## PRESENZA DI ANTICORPI ANTI-CCP ( CITRULLINA) IN PAZIENTI CON INFEZIONE DA EPATITE C

B-20

**R. Saporito, M. Infantino, P. Piergrossi, C. D'Asero**

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale S.Pietro-Fatebenefratelli, Roma

*Scopo del lavoro:* Una delle manifestazioni extraepatiche di natura autoimmune più frequenti associate ad epatite C cronica è una peculiare forma di artrite, il cui quadro clinico è sovrapponibile a quello di esordio dell'artrite reumatoide classica. Attualmente è difficile distinguere le due forme di artrite, soprattutto perché i test sierologici finora disponibili per diagnosticare l'artrite reumatoide, come il fattore reumatoide RF, sono poco specifici. Recentemente è stato messo a punto un nuovo test diretto contro la ricerca degli anticorpi anti-CCP (citrullina) che presenta una maggiore specificità e sensibilità per la diagnosi dell'artrite reumatoide. Lo scopo del nostro studio è stato quello di studiare se vi è correlazione tra la presenza degli anticorpi anti-CCP e l'artrite associata all'HCV.

*Materiali e metodi:* Sono stati analizzati 45 sieri di pazienti ricoverati all'Ospedale S.Pietro FBF(Roma) HCV positivi e 30 donatori HCV negativi come gruppo di controllo. I campioni per la rilevazione degli anticorpi anti-HCV sono stati testati mediante un test ELISA "MONOLISA HCVAg -Ab-ULTRA"(BIORAD). La positività dei campioni agli anticorpi anti-HCV è stata confermata con riba-test ricerca RNA virale mediante tecniche di biologia molecolare(PCR). I campioni per il test anti-citrullina sono stati testati utilizzando il kit IMMUNOSCAN RA anti-CCP prodotto da Euodiagnostica e distribuito da Diasorin.

*Risultati:* Nessun paziente HCV positivo e HCV negativo è risultato positivo agli anticorpi anti-CCP. Lo 0% dei pazienti maschi HCVnegativi e' positivo al fattore reumatoide, il 18% dei maschi HCVpositivi è positivo al fattore reumatoide, il 13% delle donne HCVnegative è positivo al fattore reumatoide, il 26% delle donne HCVpositive è positivo al fattore reumatoide.

*Discussione e conclusione:* L'HCV può essere responsabile anche di manifestazioni cliniche extraepatiche essenzialmente legate a disturbi del sistema immunitario indotti dallo stesso virus; tali manifestazioni comprendono la crioglobulinemia mista, le patologie tiroidee, la sindrome di Sjogren, le glomerulonefriti e le artriti. Gli anti-CCP sono anticorpi IgG diretti contro peptidi citrullinati ciclici (ccp) nel siero umano. Sono anticorpi altamente caratteristici della AR (Artrite reumatoide), malattia autoimmune sistemica molto diffusa che colpisce l'1-2 % della popolazione mondiale e la cui eziologia è sconosciuta. Nella diagnostica di laboratorio della AR la determinazione combinata del FR e dell'anti-CCP migliora il valore predittivo positivo per la diagnosi di AR portandolo a oltre il 90%. L'anti-CCP rappresenta un parametro di laboratorio che già in uno stadio precoce della AR ci permette di avallarne la diagnosi. Inoltre, contrariamente al FR, è già di per sé informativo dal punto di vista prognostico e come marker più predittivo permette di prevedere un decorso erosivo in molti ma non in tutti i pazienti colpiti. Sebbene è in prospettiva confermare le nostre conclusioni con un numero maggiore di campioni, i risultati ottenuti nel nostro studio dimostrano che gli anticorpi anti-CCP non sono presenti nei sieri dei pazienti HCV positivi dove è frequente trovare la presenza di fattore reumatoide soprattutto nei sieri di pazienti femmine; questo dimostra quindi che tra le manifestazioni extraepatiche dell'HCV ci sono forme artritiche simili ma non associabili ad Artrite Reumatoide (AR).

## RICERCA DEGLI AUTOANTICORPI IN PAZIENTI IN TERAPIA CON ANTAGONISTI DEL TNF- $\alpha$ : UN CASO DI DILE

B-21

**L. Cinquanta**

Servizio di Patologia Clinica Az. Osp. S. Giovanni di Dio e Ruggi D' Aragona Salerno

*Scopo del lavoro:* Una risposta autoimmune (incremento o comparsa di autoanticorpi in assenza di manifestazioni di malattia) significativamente aumentata è ben documentata in pazienti in terapia con antagonisti del TNF- $\alpha$  da studi randomizzati controllati nel corso dei quali, però, un solo paziente ha sviluppato una sindrome simil-lupus. Altri studi osservazionali hanno confermato l'aumento del titolo e/o la comparsa di autoanticorpi specialmente nei pazienti trattati con Infliximab, tale incremento correlerebbe con la comparsa degli effetti collaterali. Nel riportare un caso di Lupus eritematoso indotto da Adalimumab (DILE), si evidenzia l'opportunità di ricercare periodicamente gli autoanticorpi nei pazienti trattati con farmaci antagonisti del TNF- $\alpha$ .

*Materiale e metodi:* Una donna di 25 anni (A.C.), nel Marzo 2008 si rivolge all'ambulatorio di Medicina per la comparsa di eritema rilevato al volto, mialgie e malessere generalizzato; all'anamnesi risultò che in precedenza le era stata diagnosticata Artrite Reumatoide Giovanile e che assumeva Adalimumab dall'Aprile 2006 alla dose di 40 mg. fiale s.c. ogni 14 giorni in associazione a Leflunomide. Veniva effettuata, insieme agli esami di routine la ricerca degli ab-antinucleo (ANA) e successivamente, data la positività di questi ultimi, valutata la presenza di ab anti-DNA nativo e di ab anti-antigeni nucleari estraibili (ENA).

*Risultati:* I test impiegati hanno evidenziato aumento della VES, lieve consumo delle frazioni C3 e C4, positività degli ANA ad alto titolo (1:1280) con pattern omogeneo, nonché degli ab anti-istone e negatività per gli ab anti-dsDNA e degli ab anti-ENA. Dopo due mesi dalla sospensione della terapia con Adalimumab e inizio della terapia corticosteroidica per os. la paziente stava meglio e gli esami ematochimici si normalizzavano, mentre restava invariato il titolo degli ANA.

*Discussione e Conclusioni:* La diagnosi di DILE è stata posta per i seguenti motivi: a)assunzione di farmaco in grado d'indurre la malattia, b)anamnesi negativa per LES prima d'iniziare il farmaco, c)quadro clinico compatibile, d)positività degli ab anti-istone ed assenza degli ab anti-dsDNA ed anti-ENA. Non è stato chiarito cosa provoca una risposta autoimmune in corso di terapia con anti TNF- $\alpha$ , ma è nota la possibilità di sviluppare una seconda malattia autoimmune nei soggetti già affetti da una. La positività degli ANA e i risultati ottenuti dai successivi approfondimenti hanno reso possibile, insieme al quadro clinico, l'inquadramento della patologia autoimmune (DILE). Il monitoraggio trimestrale degli autoanticorpi è opportuno in questi pazienti, nonostante la rilevanza clinica di essi rimane incerta, per le segnalazioni di casi di malattie autoimmuni che migliorano dopo sospensione della terapia.

## **RUOLO PREDITTIVO DEGLI ANTICORPI ANTI-CELLULE PARIETALI GASTRICHE NELLA SINDROME TIREO-GASTRICA: STUDIO PROSPETTICO QUINQUENNALE IN PAZIENTI CON TIREOPATIE AUTOIMMUNI**

B-22

**R. Tozzoli\*, G. Kodermaz\*, A.R. Perosa\*, M. Tampoia\*\*, A. Antico\*\*\***

\*Laboratorio Analisi Chimico-cliniche, Ospedale di Latisana (Udine); \*\*Laboratorio di Patologia Clinica, Policlinico Consorziale di Bari; \*\*\*Laboratorio Analisi Chimico-cliniche, Ospedale di Cittadella (Pd)

*Scopo del lavoro.* Le tireopatie autoimmuni (AITD) costituiscono le più frequenti forme di patologie autoimmuni, dato che colpiscono circa il 10% della popolazione. In questi pazienti spesso si associano altre patologie autoimmuni, tra le quali la gastrite autoimmune (ABG), a costituire la sindrome tireogastrica nell'ambito della sindrome poliendocrina autoimmune (SPA) di tipo 3B. La reale frequenza di queste associazioni non è conosciuta, ma si ritiene che sia sottostimata.

In questi pazienti la gastrite autoimmune evolve spesso in forma asintomatica o paucisintomatica, con minimi segni ematologici o dispeptici, spesso misconosciuti, e può sfociare nell'anemia ferropriva e/o perniciose e nel cancro gastrico. Scopo del presente studio è stato la valutazione del ruolo predittivo di malattia gastrica degli anticorpi anti-cellule parietali (PCA) in un vasto gruppo di pazienti con AITD studiati prospetticamente nel corso di 5 anni.

*Materiali e metodi.* Sono stati esaminati complessivamente 40 pazienti, risultati positivi alla ricerca dei PCA con metodo immunoenzimatico (ELISA in fase solida per la ricerca di autoanticorpi rivolti contro la H-K-ATPasi delle cellule parietali gastriche), all'interno di un gruppo iniziale di 210 pazienti affetti da AITD (169 con tiroidite di Hashimoto e 41 con morbo di Basedow-Graves). Nel corso di cinque anni questi pazienti sono stati studiati prospetticamente per evidenziare la comparsa di ABG, mediante studio sierologico-biochimico [dosaggio di PCA/H-K-ATPasi, di anticorpi anti-fattore intrinseco (IFA), gastrina e grelina] e gastroscopio-bioptico.

*Risultati.* Nel corso del quinquennio le concentrazioni circolanti di PCA sono aumentate significativamente nel 78% dei pazienti, mentre i livelli di IFA sono aumentati nel 32%. Tra i soggetti PCA positivi, l'80% presentava ipergastrinemia e/o ipogrelinemia. Tra questi ultimi il 50% mostrava un quadro di infiltrazione linfocitaria o di atrofia della mucosa all'esame bioptico, che consentiva di confermare la diagnosi di ABG.

*Discussione e conclusioni.* Il dosaggio degli autoanticorpi anti-H-K-ATPasi nel siero con metodo immunoenzimatico è in grado di predire la comparsa di ABG a distanza di 5 anni nel 40% dei soggetti affetti da AITD, dimostrando l'elevata prevalenza delle SPA nella popolazione italiana.

## **VALUTAZIONE PRELIMINARE DELL'UTILIZZO DEL MICROARRAY PROTEOMICO NELLA DIAGNOSTICA ALLERGOLOGICA IN VITRO**

B-23

**D. Villalta, S. Stella, M. Da Re, P. Martelli**

Allergologia e Immunologia Clinica, DML, A.O. "S. Maria degli Angeli", Pordenone

*Scopo del lavoro.* Il primo sistema di diagnostica allergologica molecolare tramite utilizzo di microarray proteomico, è ora disponibile sul mercato. Esso permette la determinazione simultanea di 90 specificità anticorpali rivolte verso altrettante molecole allergeniche appartenenti a pollini, epiteli animali, acari, insetti, muffe, lattice, alimenti. Con il presente studio si è voluto confrontare i risultati ottenuti con tale metodo, relativamente ad alcune importanti molecole allergeniche, con quelli ottenuti con un metodo convenzionale.

*Materiali e metodi.* I sieri di 20 pazienti allergici, selezionati in base alla clinica e al risultato dei test cutanei, sono stati valutati con il metodo proteomico (ISAC, VBC GENOMICS; Vienna) e con il metodo ImmunoCAP (Phadia; Svezia). Le molecole valutate sono state Bet v 1, Bet v 2, Ole e 1, Phl p 1, Phl p 5, Pru p 3, Bos d 4 ( $\alpha$ -lattoalbumina), Bos d 5 ( $\beta$ -lattoglobulina), Bos d 8 (caseina), Gal d 1 (ovomucoide), gal d 2 (ovoalbumina).

*Risultati.* Tra il metodo microarray e ImmunoCAP c'è stata una assoluta concordanza di risultati, in termini qualitativi, per quanto riguarda le specificità IgE rivolte verso Ole e 1 (5/5), Bet v 1 (5/5), Bet v 2 (4/4), Phl p 1 (7/7), Phl p 5 (7/7). Dei quattro pazienti che manifestavano reazioni sistemiche in seguito ad ingestione di pesche, solo due sono risultati positivi per Pru p 3 al microarray (50%), mentre tutti sono risultati positivi con l'ImmunoCAP. Due pazienti con clinica suggestiva per allergia al latte e positività all'ImmunoCAP per  $\alpha$ -lattoalbumina,  $\beta$ -lattoglobulina e caseina, sono risultati positivi al microarray per Bos d 4, Bos d 5 e Bos d 8; un terzo soggetto positivo solo alla caseina è risultato negativo per Bos d 8. 3 soggetti che presentavano positività all'ovomucoide e all'ovoalbumina all'ImmunoCAP sono risultati positivi per Gal d 1 e Gal d 2 al microarray.

*Discussione e conclusioni.* Anche se la casistica è limitata, i dati preliminari indicano che il metodo proteomico ISAC, per alcune fra le principali molecole polliniche, fornisce risultati sovrapponibili a quelli ottenuti con ImmunoCAP, mentre sembra essere meno sensibile per Pru p 3 e Bos d 8. Tali dati dovranno essere verificati su casistiche più ampie, nelle quali dovrà essere valutata anche l'efficienza diagnostica di altre importanti molecole allergeniche. In ogni caso la possibilità di definire in un'unica analisi e con soli 20  $\mu$ l di siero un ampio profilo allergenico, rende tale metodica estremamente interessante, in particolare qualora si desideri definire l'allergogramma in soggetti polisensibilizzati. Per il momento, però, esso non può sostituire completamente il metodo tradizionale, in quanto non in grado di identificare tutte le principali molecole allergeniche.

## VALUTAZIONE DI NUOVI ALLERGENI MOLECOLARI NELLA DIAGNOSTICA IN VITRO DELLA SENSIBILIZZAZIONE AD ALIMENTI

B-24

**A. Ferrari, B. Caruso, N. Melloni, N. Nicolis, M. Rocca, C. Cocco, G.E. Senna\*, P. Rizzotti**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, \*Unità Operativa di Allergologia Ospedale Civile Maggiore Borgo Trento, Azienda Ospedaliera di Verona

*Scopo del Lavoro:* Attualmente la diagnostica allergologica in vitro si sta orientando verso l'utilizzo di allergeni altamente purificati anche ottenuti da tecniche di biologia molecolare che siano in grado di identificare la risposta IgE verso epitopi dimostrati responsabili di reazioni allergiche di grado elevato.

*Materiali e Metodi:* Sono stati presi in considerazione tre allergeni molecolari: 1. Omega-5 gliadina (f416, CAP Phadia) legato alla reattività alla farina di grano e che sembrerebbe in grado di far sviluppare asma da sforzo o shock nei soggetti che hanno IgE verso questo allergene. E' stata valutata la reattività IgE (da luglio 2007 ad agosto 2008) in 86 soggetti positivi alla farina di grano (f4) per titoli superiori a 1 KU/L eseguendo come test riflesso le IgE per l'omega5gliadina (ImmunoCAP 250 Phadia); 2. Pru p 3 (LTP) (f420, CAP Phadia) legato alla sensibilizzazione alimentare alla frutta appartenente alla famiglia delle rosacee. E' stata valutata la reattività IgE (da giugno 2008 ad agosto 2008) in 33 soggetti positivi alla mela (f49) per titoli superiori a 0.5 KU/L eseguendo come test riflesso le IgE per Prup p 3 (ImmunoCAP 250 Phadia); 3. Ara h 2 (f423, CAP Phadia) legato alla sensibilizzazione alimentare alle leguminose. E' stata valutata la reattività IgE (da giugno 2008 ad agosto 2008) in 10 soggetti positivi alle arachidi (f13) per titoli superiori a 2.0KU/L eseguendo come test riflesso le IgE per Ara h 2 (ImmunoCAP 250 Phadia).

*Risultati:* 1. In 86 soggetti f4 con valori superiori a 1 KU/L sono stati identificati 4 pazienti (5%) con valori di IgE per Omega-5 gliadina superiori a 0.5 KU/L. La storia clinica in questi soggetti ha confermato la sensibilizzazione alla farina fino alla sintomatologia grave dell'asma da sforzo complicata in un caso anche dallo shock; 2. In 33 soggetti positivi a frutta appartenente alla famiglia delle rosacee 19 (22%) hanno dimostrato IgE positività per Pru p 3 per valori superiori a 0.5 KU/L, ma solo in 9 soggetti (10%) si è riusciti a identificare una storia clinica di sintomatologia grave all'assunzione di frutta appartenente alle rosacee; 3. Nei 10 soggetti positivi alle arachidi solo 2 hanno dimostrato una reattività per Ara h 2 superiore a 0.5 KU/L ed entrambi presentavano una storia clinica significativa di reazione grave alle arachidi

*Conclusioni:* L'utilizzo degli allergeni molecolari per la sensibilizzazione ad alimenti attualmente può approfondire e confermare la storia clinica di allergia alimentare ed essere un valido ausilio per impostare una corretta dieta alimentare e valutare l'opportunità di fornire al paziente.

## ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DEL TEST DI ATTIVAZIONE DEI BASOFILI IN PAZIENTI CON IPERSENSIBILITÀ ALIMENTARE E PRESENTAZIONE CLINICA DA COLON IRRITABILE

B-25

**I. Brusca, A. Carroccio, P. Mansueto, M.L. Lo Spalluti, G. Pirrone, M. Barrale, V. Cantisano, S.M. La Chiusa, G. Iacono**  
Ospedale Buccheri La Ferla, Università degli Studi di Palermo, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina Palermo

*Background:* La diagnosi differenziale fra sindrome del colon irritabile (IBS) e ipersensibilità alimentare (IA) è difficile e, data la carenza di tests di laboratorio con dimostrata accuratezza diagnostica, basata, su criteri clinici: dieta di eliminazione (DE) e challenge in doppio cieco con l'alimento sospetto (DBC).

*Scopo del lavoro:* Valutare l'accuratezza diagnostica del test di attivazione in vitro dei basofili (flow-CAST) in pazienti con IBS e auto-riferita IA.

*Materiali e Metodi:* 120 pazienti consecutivi (85 F, 35 M, range 17-61a, mediana 46) con diagnosi di IBS secondo i criteri di Roma III. sono stati osservati per 4 settimane, e poi sottoposti per 4 settimane a DE priva di latte, frumento, uovo, pomodoro, cioccolato e alimenti positivi all'anamnesi. Trentasei (GRUPPO A) riferivano IA, ottantaquattro non riferivano IA (GRUPPO B). All'ingresso: esami di routine, H2-breath test, sierologia per celiachia, IgE totali, RAST e flow-CAST (Bühlmann) per alimenti. Durante lo studio la valutazione sintomatologica è stata effettuata tramite score. I soggetti con miglioramento in DE, sono stati sottoposti a DBC.

*Risultati:* Nel gruppo A si è osservato un miglioramento dello score ( $P < .01$ ) con scomparsa dei sintomi in 21/36 (58%) pazienti. Nel gruppo B si è avuta una riduzione dello score non significativo e risoluzione dei sintomi in 8/84 casi (9%) (VS gruppo A:  $P < .0005$ ). 24 dei 29 pazienti (21/21 gruppo A + 3/8 gruppo B) con remissione sintomatologica sono risultati positivi al DBC confermando la diagnosi di IA. Il confronto dei test allergologici mostra

	<i>Ipers. alimentare (n=24)</i>	<i>Colon Irritabile (n = 96)</i>	<i>P</i>
IgE totali elevate	4/24	4/96	N.S.
RAST alim. Positivo	5/24	6/96	N.S.
Flow-CAST positivo	21/24	8/96	.001

La sensibilità e la specificità del flow-CAST nella diagnosi di IA sono state rispettivamente del 87% e del 92%; l'accuratezza diagnostica del 91%.

*Conclusioni:* Questi dati evidenziano l'utilità del flow-CAST nella valutazione dei pazienti con IBS e sospetta IA.

## VALUTAZIONE DELLA EFFICACIA DIAGNOSTICA DEL BREATH TEST AL LATTOSIO E SUA CORRELAZIONE CON IL QUADRO CLINICO

B-26

**P. Prandini, G. Del Giudice, B. Milanesi\***

U.O. Allergologia e Medicina Trasfusionale Ospedale di Gavardo

\*Laboratori di Patologia Clinica A.O. Desenzano del Garda (BS)

*Scopo del lavoro:* valutazione della efficacia diagnostica del breath test al lattosio e significatività del test in rapporto alla sintomatologia clinica.

*Materiali e metodi:* sono stati studiati 188 pazienti indagati per sospetta intolleranza al lattosio. E' stato eseguito in tutti un breath test all'idrogeno con lo strumento Gastrolyzer 2 (ditta Bedfont) dopo somministrazione di 50 gr. di lattosio disciolti in 400 ml di acqua. Lo strumento preleva campioni di aria di fine espirazione ogni 15 minuti per la prima ora, poi ogni 30 minuti nell'ora successiva. Un aumento dei livelli di idrogeno nell'aria espirata di almeno 20 ppm (parti per milione) è indice di un risultato positivo. Un aumento di 20-40 ppm indica una positività lieve, di 40-80 ppm una positività di grado moderato, un aumento superiore a 80 ppm è indice di un malassorbimento severo del lattosio.

*Risultati:* abbiamo valutato 188 pazienti (40 maschi e 148 femmine, di età compresa tra 11 e 77 anni). Di questi, 99 pazienti (53 %) sono risultati positivi al test e 79 pazienti (42 %) negativi. Tra i pazienti positivi, 10 (10 %) presentavano una intolleranza al lattosio di grado lieve, 22 (22 %) di grado moderato e 67 (67%) di grado severo. Durante l'esecuzione del test, 72 pazienti hanno manifestato una sintomatologia caratterizzata da dolore addominale, diarrea, nausea, meteorismo e cefalea e di questi, 65 pazienti hanno avuto un breath test al lattosio positivo e 7 negativo. Tra i pazienti risultati negativi al test, uno ha manifestato un eritema cutaneo diffuso e due prurito cutaneo diffuso senza rash.

*Discussione e conclusioni:* il sospetto diagnostico di intolleranza al lattosio è confermato dalla positività del test in 99 pazienti su 188 con sintomi compatibili, pertanto il test sembra avere una buona sensibilità e una soddisfacente correlazione col quadro clinico. La comparsa durante l'esecuzione del test di sintomi gastrointestinali e non (dolore addominale, diarrea, meteorismo, cefalea) in quasi tutti i pazienti risultati positivi conferma ulteriormente la validità del test. Per quanto riguarda i tre pazienti negativi al breath test e con sintomatologia cutanea, si è consigliato di eseguire ulteriori indagini allergologiche per ricercare eventuali altre cause dei disturbi lamentati dai pazienti.

## EMOCROMATOSI: MALATTIA RARA O SOTTODIAGNOSTICATA?

C-01

**L. Giglio<sup>a</sup>, S. De Cesaris<sup>b</sup>, A. Buggiani<sup>b</sup>, I. Masini<sup>a</sup>, I. Montenora<sup>b</sup>, V. Mazzantini<sup>b</sup>, A. Fanciullacci<sup>c</sup>**

<sup>a</sup>SIMT- USL 11- Empoli - Toscana; <sup>b</sup>Laboratorio Analisi Azienda- USL 11- Empoli – Toscana; <sup>c</sup>Cooperativa Medici VEGA

*Scopo del lavoro:* Abbiamo voluto valutare l'incidenza di iperferritemie ed emocromatosi ereditarie in una popolazione selezionata della zona di Empoli.

*Materiali e metodi:* Hanno collaborato allo studio il Laboratorio Analisi(LA),il Servizio Trasfusionale (ST) ed una cooperativa di Medici di Famiglia (MF). Sono stati valutati complessivamente 6123 donatori di sangue e 27551 Assistiti dai MF della Cooperativa Vega Medica. Sono stati selezionati Donatori e Pazienti con: Ferritina > 300 µg/l (♂) e > 200µl/l (♀); saturazione della transferrina > 45%. I Pazienti inviati dai MF ed i Donatori sono stati valutati dal ST che ha fatto eseguire esami di II livello ed ha posto la diagnosi definitiva, escludendo le forme secondarie di sovraccarico di ferro.

*Risultati:* I soggetti arruolati sono, ad oggi, 61 (42 M, 19F). I Pazienti con ferritina elevata, con o senza saturazione della transferrina superiore al 45%, verificata la non secondarietà, hanno eseguito la ricerca HFE con metodica PCR real time. Tutti i Pazienti con alterazione HFE sono stati inquadrati come affetti da emocromatosi di I tipo. La tipizzazione ha evidenziato le seguenti mutazioni: 18 con C282Y, 43 con H63D, 1 con S65C. I soggetti sono stati presi in carico dal ST che ha provveduto alla terapia specifica della quale i Pazienti hanno beneficiato sia dal punto di vista laboratoristico che strumentale, oltre che soggettivamente.

*Discussione:* La manifestazione fenotipica dell'accumulo di ferro, a parità di alterazione genetica, è risultata influenzata da fattori concomitanti: sesso, età, omozigosi, sindrome metabolica, altra patologia associata, stile di vita, alimentazione, alcolismo. Le mutazioni genetiche nella popolazione esaminata riflettono quelle riscontrate in letteratura per la popolazione del centro-sud Italia, con maggiore presenza di H63D, rispetto a C282Y. Lo studio ha permesso anche di evidenziare nel 52 % associazione di sindromi metaboliche con HFE mutato.

*Conclusioni:* 1) La emocromatosi viene comunemente considerata una malattia rara. Secondo questo studio, a conferma di altri studi, tale malattia non è rara, bensì sottostimata. 2) Le manifestazioni fenotipiche vengono influenzate dalla concomitante presenza di fattori secondari, fra i quali ha particolare rilievo l'assunzione di alcolici. 3) Nella nostra zona l'alterazione H63D risulta prevalente rispetto alla mutazione C282Y, come nel resto del centro e sud Italia. 4) La collaborazione fra Medici di Famiglia, Centro Trasfusionale e Laboratorio Analisi potrebbe permettere di evidenziare un maggior numero di patologie ad uno stadio presintomatico e quindi concorrere ad una migliore utilizzazione delle risorse del SSN.

**LA CARENZA CONGENITA DI ALFA 1 ANTITRIPSINA NELLA POPOLAZIONE SARDA****C-02****N. Coghe, M. Pautasso, P. Coni, S. Pillai, E. Di Felice, G. Faa**

Azienda Ospedaliero-Universitaria di Cagliari, Ospedale San Giovanni di Dio, Cagliari

*Scopo del lavoro* - La carenza congenita di alfa-1-antitripsina è una malattia ereditaria trasmessa con carattere autosomico recessivo che, nelle popolazioni del Nord Europa interessa 1 su 1.800-2.000 nati vivi e predispone all'insorgenza di enfisema polmonare e danno epatico cronico che può evolvere in cirrosi epatica ed epatocarcinoma. Sono stati fatti pochi studi sulla frequenza reale del deficit di alfa-1-antitripsina nelle diverse popolazioni ed in generale questa malattia viene sottostimata perché i sintomi clinici associati sono spesso confusi con altre patologie e/o perché non sempre viene eseguito un test molecolare. La variante patologica più frequente in tutto il mondo e la variante Z anche se in Italia ed in Europa la presenza di tale mutazione diminuisce spostandosi nelle regioni del sud. In Sardegna, non è mai stato fatto uno studio completo sulla carenza congenita di alfa-1-antitripsina anche se sono stati descritti solo alcuni casi clinici ed in particolare uno di questi è stato caratterizzato molecolarmente e descritto come variante MCagliari. Per questo motivo, lo scopo di questo studio è quello di esaminare la carenza congenita di A1AT in un campione di popolazione sarda, filogeneticamente distinta e dove spesso le malattie congenite sono caratterizzate da peculiari caratteristiche cliniche e genetiche,

*Materiali e metodi* - Abbiamo esaminato 443 soggetti di origine sarda che sono stati suddivisi in due gruppi: un gruppo di 135 casi clinici ed uno di 308 donatori di sangue. Inizialmente è stata determinata la concentrazione dell'A1AT nel siero di tutti i campioni presi in esame e questi valori sono stati divisi e confrontati in 7 classi di dosaggio. Le classi di dosaggio più basse sono state infine caratterizzate dal punto di vista molecolare utilizzando due test molecolari specifici rispettivamente per le varianti Z ed S e per la variante MCagliari.

*Risultati* - Mentre la mutazione Mlike tipo MCagliari è presente nello 0,7% dei donatori sani esaminati (2 casi eterozigoti), nel gruppo dei casi clinici la frequenza di questa mutazione sale all'11% (5 casi di omozigosi e 10 di eterozigosi). Al contrario, l'allele Z è assente nei donatori mentre è presente solo nello 0,7% dei casi clinici. Le caratteristiche cliniche da noi riscontrate nella popolazione sarda sono simili a quelle descritte per la variante Z.

*Discussione e conclusioni* - I risultati di questo studio indicano chiaramente che in Sardegna quasi tutti i casi di deficit di A1AT sono associati alla variante patologica MCagliari, conosciuta anche come M-like o M-Malton, variante patologica molto rara nel resto del mondo dove invece è predominante la variante Z.

**SCREENING PRENATALE DEI DIFETTI CROMOSOMICI. I RISULTATI AGGIORNATI DI UNO STUDIO EFFETTUATO NELLA ASL RM/A NEL PERIODO GENNAIO 2003-GENNAIO 2008****C-03****M.R. Boccolini\*, R. De Angelis\*, R. Mattei\*, M.A. Spina\*, R. Impera\*\*, V. Sargentini\*\***

\*U. Org. Perinatologia, ASL RM/A - Roma. ; \*\*U. Org. Pat. Clinica Interdistrettuale, ASL RM/A - Roma

*Scopo del lavoro*: contribuire all'elaborazione di un metodo efficace, economico e non invasivo per valutare il rischio genetico dell'intera popolazione delle gestanti. Molti studi, condotti su ampie casistiche, hanno dimostrato che il soft marker più importante per l'identificazione delle anomalie cromosomiche anche in forma isolata è la Nuchal Translucency (NT), che consiste in un accumulo di fluido sottocutaneo retroracale. Lo screening nella diagnosi della Trisomia 21 eseguito mediante associazione fra NT ed età materna presenta un' affidabilità di circa il 75% con un 5% di falsi positivi. Aggiungendo markers biochimici quali la frazione libera della beta HCG (aumentata nella s. di Down e ridotta nella trisomia 18) e della proteina plasmatica A associata alla gravidanza (diminuita in entrambi i casi) si può arrivare ad una detection rate per la trisomia 21 di circa il 90% con un 5% di falsi positivi. L'epoca gestazionale per l'esecuzione del test combinato è compresa tra 11 e 14 settimane con CRL fetale compreso tra 45 e 83mm.

*Materiali e metodi*. Dal gennaio 2003 al gennaio 2008 abbiamo sottoposto allo screening combinato biochimico ed ecografico, per la determinazione del rischio per trisomia 21 e trisomia 13-18, 7727 pazienti di età compresa tra i 20 e i 46 anni ( mediana dell'età 30 aa). 1473 pazienti con età superiore o uguale a 35 anni. In tutti i casi esaminati è stata eseguita la misurazione ecografica della NT. I criteri per la valutazione della NT sono quelli della Fetal Medicine Foundation di Londra presso la quale è accreditato il nostro centro. Le determinazioni biochimiche della free beta HCG e della proteina plasmatica associata alla gravidanza (PAPP-A), sono state eseguite su siero, con metodica fluoroenzima, utilizzando il sistema Kryptor di Dasit. Il laboratorio analisi partecipa al Programma di VEQ per marcatori biochimici della Sindrome di Down QUALIMEDLAB di EQAS CNR di Pisa. Per il calcolo dell'indice di rischio è stato utilizzato il software View Point. I risultati relativi ai test eseguiti vengono elaborati e consegnati nel corso della mattinata. Alle pazienti che hanno presentato un rischio aumentato (>1/300) è stata offerta la possibilità di uno studio del cariotipo fetale mediante villocentesi.

*Risultati*. In 287 casi (3.7%) è stato ottenuto un indice di rischio superiore o uguale a 1/300. 237 casi sono stati sottoposti a diagnosi invasiva ( 25 casi hanno rifiutato e 25 sono stati persi al follow-up) che ha permesso di diagnosticare 35 aneuploidie, mentre si sono avuti 227 falsi positivi e 1 falso negativo. Nelle 35 aneuploidie diagnosticate, in 18 casi l'età delle pazienti era inferiore a 35 anni ( 9 casi di trisomia 21. 2 di trisomia 13, 2 di trisomia 18, 2 di sindrome di Turner e 3 di mosaicismo). Particolare interesse hanno destato 8 casi in cui il valore della NT era < 90° centile per cui fondamentale per la diagnosi è risultato il dato biochimico ( 4 casi di trisomia 21, 1 caso di trisomia 18, 1 caso di triploidia e 2 casi di mosaicismo).

*Discussione e conclusioni*. I risultati ottenuti dal nostro studio sono conformi a quanto riportato in letteratura e dimostrano che lo screening condotto nel I trimestre, relativamente all'individuazione della patologia cromosomica fetale, presenta maggiore efficacia rispetto ai test attualmente offerti dal SSN (diagnostica invasiva riservata alla popolazione con età >35aa). La non invasività del test permette infatti di screenare anche la popolazione con età <35aa ( 75% delle gestanti) senza il rischio di perdita fetale (1%) legata alla diagnostica invasiva. Nella nostra casistica sono state consigliate solo 287 diagnosi invasive a fronte delle 1473 previste con i criteri attuali. Particolarmente importante, per la diffusione del test, risulta essere la precocità della sua esecuzione e l'ottima accettazione da parte delle pazienti per cui è auspicabile l'offerta di tale screening a tutte le gestanti, riservando la diagnostica invasiva a quei casi nei quali la rielaborazione della stima del rischio ecceda il cut-off di 1/300.

## CARATTERIZZAZIONE E RUOLO DELLA NIBRINA (NBS1) NEL CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE POLIMORFICA DEL DNA: CONSIDERAZIONI PER LA PATOGENESI DEI TUMORI E PER LO STUDIO DEI PROCESSI EVOLUTIVI

C-04

**S. Matera<sup>^</sup>, B. De Laurentiis<sup>^</sup>, S. Ursi<sup>^</sup>, G. Vitullo<sup>^</sup>, E. Toniato<sup>^</sup>, A. Marchetti<sup>\*</sup>, F. Bitutta<sup>\*</sup>, F. Massimini<sup>^</sup>, G. Isani<sup>°</sup>, R. Moscati<sup>°</sup>, A. Gulino<sup>§</sup>, M. Zanis, S. Martinotti<sup>^</sup>**

<sup>^</sup>Unità Operativa Complessa Di Medicina Predittiva E Diagnostica Molecolare Asl Chieti- Università Chieti; <sup>\*</sup>Unità Operativa Complessa Di Anatomia Patologica Asl Chieti- Università Chieti; <sup>§</sup>Dipartimento Di Medicina Sperimentale E Patologia, Policlinico "Umberto I" Università Di Roma "La Sapienza"; <sup>°</sup>Università Degli Studi Di Bologna Biotecnologie Veterinarie

*Scopo del lavoro* è l'analisi, da campioni tumorali, in particolare tumori dell'ovaio e del polmone, del livello di espressione del gene NBS1 (che insieme a RAD 50 e a MRE11 forma un complesso che interviene nella riparazione dei danni del DNA a doppio strand). Abbiamo utilizzato, come matrice, l'RNA estratto da biopsie di tessuto tumorale. Il razionale è: evidenziare in vivo, la presenza di lesioni e/o alterazioni del processing dell'RNA di Nibrina (in particolare evidenziare l'introne criptico già descritto nella linea cellulare SW626 di colon). (EMBO Rep Mar; 3(3): 248-254, 2002). L'RNA estratto proveniva da biopsie di: tumori ovarici (16) tumori polmonari (10) tessuto polmonare normale dei pazienti con tumore polmonare (10) Su tali tessuti abbiamo retroscritto il template. Inoltre abbiamo estratto RNA da sangue intero di 10 volontari sani utilizzando un sistema di estrazione automatico. I primers erano specifici per la regione del gene (NBS1 564 pb) interessata dall'aberrazione dello splicing tra gli esoni 2-3. Per isolare e amplificare l'introne criptico (50 pb; amplicone di 263 pb) abbiamo disegnato primer specifici e visualizzato i prodotti di PCR (amplicone NBS1 di 564 pb e amplicone introne di 263 pb). Abbiamo inoltre utilizzato l'esone 4 come riferimento interno normale e, per gli stessi campioni, retroscritto ed amplificato il gene housekeeping  $\beta$ Actina come gene normalizzatore.

*Conclusioni:* Dalle sequenze ottenute, è stata evidenziata un introne criptico. Tale introne (50 pb) è "splaisato" dall'esone 2 di Nibrina. Il frame di lettura presenta un sito di terminazione UAG che cade entro le prime 6 basi del trascritto intronico, producendo un trascritto tronco. L'introne criptico era presente nel 43,75% dei tumori ovarici e in tutti i tumori polmonari; tale introne è stato trovato anche nei tessuti normali polmonari degli stessi pazienti. Abbiamo analizzato anche l'RNA da sangue (linfociti) di 10 volontari sani, dalle sequenze del gene NBS1 di questi volontari è stata, in tutti, evidenziata l'introne criptico. Abbiamo quindi rilevato che il livello di espressione dell'introne è maggiore nel tessuto tumorale polmonare rispetto al tessuto normale polmonare degli stessi pazienti e che il livello di espressione dell'introne è maggiore nel tessuto normale dei pazienti con tumore del polmone rispetto al sangue dei volontari sani. Inoltre abbiamo notato nei pazienti un diverso grado di espressione dell'introne criptico rispetto all'esone 4 di Nibrina (esone stabile) costante in tutti i pazienti. E' in fase di valutazione la possibilità di misurare, in modo più preciso, il diverso grado di espressione con una PCR quantitativa real time. Un altro punto che vogliamo considerare è quello di vedere se questa aberrazione dello splicing rappresenta una caratteristica comune dei tumori. Nei tumori umani, l'induzione neo trasformante avviene per perturbazione interna dell'omeostasi del DNA. Il grado di controllo della stabilità genomica potrebbe essere il primo gradino di attivazione neoplastica. Si produrrebbe un'alta entropia del sistema DNA che attiverebbe una trascrizione incontrollata. La valutazione del meccanismo e del grado di riparazione del DNA potrebbe essere utilizzato come marker di orientamento terapeutico e di progressione della malattia.

## VALUTAZIONE PRELIMINARE DI UN TEST GENETICO NELLA IMPOSTAZIONE DI UNA TERAPIA ANTICOAGULANTE

C-05

**R. Tripaldi<sup>1</sup>, L. Nisi<sup>1</sup>, S. Bradamante<sup>2</sup>, R. Conserva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio Analisi-Patologia Clinica P.O. Centrale-ASL TA; <sup>2</sup>S.S. Dipartimentale Centro FCSA n.57 ASL TA

*Scopo del lavoro.* E' noto che esiste una grande variabilità individuale alla esposizione ai farmaci, attribuibile a fattori fisiologici (età, sesso), patologici (malattie epatiche o renali), a differenze comportamento-ambientali (dieta) e a componenti genetiche. L'anticoagulazione con Warfarin presenta alcune problematiche legate alla ristretta finestra terapeutica e all'ampia variabilità del rapporto dose/risposta nei diversi pazienti, con conseguente rischio o di risposta inadeguata o di sanguinamento. Per verificare l'effetto della componente genetica sono state individuate tre mutazioni associate a due geni chiave per il metabolismo della cumarina: VKORC1 (mut 1639 G>A); CYP2C9 (mut 430 A>C); CYP2C9 (mut 1075 A>C). Scopo del lavoro è studiare un gruppo selezionato di paziente afferenti al nostro Centro FCSA.

*Materiali e metodi.* Sono stati studiati 34 pazienti, selezionati in base a maggiore difficoltà nel giungere a una stabilizzazione della dose settimanale di anticoagulante. Mediante una metodica commerciale (PGX-TROMBO STRIPASSAY NLM), che utilizza una amplificazione con primers biotinilati e ibridazione inversa su striscia, abbiamo ricercato simultaneamente il polimorfismo 1639 G>A nel promotore VKORC1 da cui la possibilità di trovare tre genotipi: GG-GA-AA; e le mutazioni 430 A>C e 1075 A>C del gene CYP2C9 che codifica per il citocromo P450 2C9, che, a seconda della loro presenza in eterozigoti o omozigosi, possono individuare i seguenti genotipi: \*1/\*1 . \*1/\*2 . \*1/\*3 . \*2/\*2 . \*2/\*3 . \*3/\*3. Per ciascun paziente sono stati annotati: età, sesso, patologia principale che richiede terapia anticoagulante e patologie associate, durata della terapia, percentuale di stabilizzazione, dose settimanale assunta nei primi tre mesi e nei successivi.

*Risultati.* Per VKORC1: 22 pazienti, pari al 64.7%, risultano GA; 12 pazienti, pari al 35.29%, risultano GG. Per CYP2C9: il 67.6% è: \*1/\*1; il 14.7% è \*1/\*2; il 11.7% è \*1/\*3; il 2.9% è \*2/\*2; il 2.9% è \*3/\*3. Abbiamo verificato che i pazienti con genotipo \*1/\*2, \*1/\*3, \*2/\*2 e \*3/\*3 hanno ricevuto un più basso dosaggio di farmaco rispetto a quelli con genotipo: \*1/\*1 e che i pazienti risultati GG hanno assunto una dose inferiore rispetto ai GA.

*Discussione e conclusione.* Lo studio preliminare non ci consente di arrivare a conclusioni significative rispetto a quanto riportato in letteratura circa la possibilità di personalizzare l'anticoagulazione utilizzando un test genetico preventivo. Ci proponiamo di continuare lo studio su un più alto numero di pazienti, utilizzando un algoritmo più completo.



## VALUTAZIONE DI UN NUOVO METODO RAPIDO IN BIOLOGIA MOLECOLARE PER LA TIPIZZAZIONE HLA DQ2-DQ8 IN PAZIENTI CON MALATTIA CELIACA

C-06

**N. Bizzaro, F. Pesente, M.G. Alessio, A. Antico, I. Brusca, D. Villalta**

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile di Tolmezzo (UD), Laboratorio Analisi, Ospedali Riuniti di Bergamo, Laboratorio Analisi, Ospedale di Cittadella (PD), Laboratorio Analisi, Ospedale Buccheri La Ferla di Palermo, Immunologia e Virologia, AO Pordenone.

Gruppo di Studio in Autoimmunologia e Allergologia della SIMeL

*Scopo dello studio:* La malattia celiaca (MC) si manifesta in seguito alla ingestione di alimenti contenenti glutine, in soggetti geneticamente predisposti che portano gli antigeni HLA DQ2 e/o DQ8. Lo studio degli alleli del DQ2-DQ8 è perciò utile sia a scopo diagnostico che prognostico per l'identificazione dei soggetti affetti e di quelli a rischio di sviluppare la malattia. I test convenzionali per la tipizzazione HLA sono indaginosi e comportano spesso la necessità di analizzare una gran quantità di alleli non necessari per la diagnosi di MC. In questo studio multicentrico abbiamo valutato la praticabilità e l'affidabilità di un nuovo metodo rapido per la tipizzazione degli alleli correlati alla MC.

*Metodi:* 39 pazienti con diagnosi di MC già nota e 32 familiari di primo grado sono stati studiati con una serie di test genetici prodotti da Diogene (Palermo). I campioni di sangue sono stati raccolti mediante digitopuntura su carta bibula o mediante prelievo venoso in provette con EDTA. Il DNA è stato estratto e amplificato con PCR, utilizzando dei primer allele specifici e visualizzato su gel di agarosio. E' stato inizialmente eseguito un test di screening (DQ-CD Screen) per l'identificazione degli antigeni DQ2 e DQ8. I campioni positivi allo screening sono stati successivamente tipizzati (DQ-CD Typing) per l'identificazione allelica (DQA1\*0201,\*03,\*05, DQB1\*02, \*0302, DRB1\*03,\*04,\*07) e infine, nei soggetti portatori dell'allele DQB1\*02, è stato eseguito il test per la valutazione dello stato zigotico (DQ-CD Zygosis).

*Risultati:* Tutti i 39 pazienti con MC e 21/32 (66%) dei parenti di primo grado sono risultati positivi per gli antigeni HLA MC-associati. 49 erano positivi per HLA DQ2 (31 DQ2-DR3, 11 DQ2-DR7, 3 DQ2-DR3/DR7, 1 DQ2-DR4/DR7, 2 DQ2, 1 DQ2-DR4), 9 per DQ8 (DQ8-DR4), e 2 per DQ2/DQ8 (1 DQ2/DQ8-DR3/DR4, 1 DQ2/DQ8-DR7/DR4); 14/51 (27%) dei soggetti DQ2-positivi sono risultati omozigoti per DQB1\*02.

*Conclusioni:* Questo nuovo metodo in biologia molecolare per l'identificazione degli antigeni HLA DQ2-DQ8, degli alleli MC-correlati e dello stato zigotico, si è dimostrato completamente affidabile, molto rapido, pratico e di facile interpretazione, alla portata di tutti i Laboratori coinvolti nella diagnostica della MC.

## PREVALENZA DEI GENOTIPI HPV NON VACCINALI NELLA POPOLAZIONE DEL GARDA BRESCIANO

C-07

**O. Valentini, S. Cresceri, A. Todeschi, C. Pasini, B. Milanese**

Laboratori di Patologia Clinica, A. O. di Desenzano del Garda

*Scopo del lavoro.* E' iniziata in Italia una campagna di vaccinazione contro il papillomavirus umano (HPV), responsabile del carcinoma della cervice uterina. Sono attualmente disponibili in commercio due vaccini, uno bivalente (Cervarix) contro i genotipi 16,18 e uno tetravalente (Gardasil) contro i genotipi 6,11,16,18. Entrambi i tipi di vaccino sono risultati altamente efficaci nel prevenire l'infezione persistente e le lesioni precancerose associate ai tipi di HPV contenuti nel vaccino. I genotipi 16 e 18 rappresentano i principali ma non gli unici genotipi ad elevato rischio oncogeno. Tra i circa 200 genotipi attualmente riconoscibili ve ne sono alcuni altri riscontrabili in lesioni precancerose e quindi dotati di capacità lesiva. In prospettiva è dunque importante conoscere la prevalenza, nelle popolazioni trattate, dei genotipi non presenti nel vaccino e che potrebbero essere soggetti a pressione selettiva positiva ad opera del vaccino stesso.

*Materiali e Metodi.* Le indagini diagnostiche sono state condotte utilizzando il kit commerciale "AlphaStrip HPV" della Alphagenics Diaco Biotechnologies. Il saggio consente l'identificazione di 26 genotipi di HPV, a basso o ad alto/medio rischio oncogeno; altri genotipi eventualmente presenti vengono rilevati, ma non identificati, da una sonda universale.

*Risultati.* Dei 2334 campioni finora analizzati 822(35.2%) sono risultati negativi e 1513(64.8%) positivi per HPV: di questi ultimi 870(37.3) per un singolo genotipo e 643(27.5) per due o più genotipi. Tra i genotipi ad alto o medio rischio oncogeno si sono osservate le seguenti frequenze percentuali, riportate in ordine decrescente: genotipo 16(17.4); 31(8.7); 53(7.9); 58(7.5); 66(6.3); 18(6.0); 59(4.5); 35(3.7); 52(3.6); 56(3.4); 33(3.0); 45(2.5); 51(2.3); 39(2.2). I genotipi 16 e 18 rappresentano complessivamente il 23.4% del totale dei genotipi isolati; tutti gli altri genotipi ad alto o medio rischio da noi riscontrati rappresentano complessivamente il 55.6% del totale, la restante percentuale essendo rappresentata da genotipi a basso rischio. Il genotipo 18 risulta solo sesto in ordine di frequenza tra i genotipi ad alto rischio.

*Conclusioni.* E' documentata una parziale protezione crociata dei vaccini contro i genotipi 31 e 45, tuttavia l'elevata prevalenza di altri genotipi di cui appare documentato l'effetto lesivo non lascia sperare in una rapida e facile soluzione del problema. Va considerato tra l'altro l'effetto di pressione selettiva esercitato dai genotipi vaccinali, destinati a essere rimpiazzati da altri genotipi circolanti: la riduzione dei genotipi 16 e 18 sarebbe cioè accompagnata dall'incremento di tutti gli altri genotipi. Potrebbe essere allora preso in considerazione, come approccio successivo, l'impiego di vaccini a spettro allargato la cui composizione sia studiata in relazione alla distribuzione dei genotipi nella singola popolazione. La successiva aggiunta dei genotipi 31 e 58 per un impiego più mirato su una popolazione come quella da noi studiata ne rappresenta un immediato corollario.

**GENOTIPI 53 E 66 DI HPV: ANALISI DEL RISCHIO ASSOCIATO****C-08****O. Valentini, S. Cresceri, C. Pasini, P. Fontana\*, A. Torri\*, A. Todeschi, B. Milanese**

Laboratori di Patologia Clinica e di Anatomia Patologica\*, A. O. di Desenzano del Garda

*Scopo del lavoro.* La classificazione dei genotipi del papillomavirus umano (HPV), responsabile del carcinoma della cervice uterina, nelle categorie di alto o basso rischio in relazione al loro potenziale oncogenico è soggetta a revisioni e aggiornamenti continui. Alcuni genotipi sono stati variamente attribuiti ora all'una e ora all'altra categoria. Sotto questo aspetto ci paiono di particolare interesse i genotipi 53 e 66, anche in relazione alla loro prevalenza non trascurabile. I dati di correlazione clinica reperibili in letteratura sono ancora piuttosto limitati e perciò anche il nostro sia pur modesto contributo può forse trovare giustificazione.

*Materiali e Metodi.* Le indagini diagnostiche sono state condotte utilizzando il kit commerciale "AlphaStrip HPV" della Alphagenics Diaco Biotechnologies. Il saggio consente l'identificazione di 26 genotipi di HPV, a basso o ad alto/medio rischio oncogeno; altri genotipi eventualmente presenti vengono rilevati, ma non identificati, da una sonda universale.

*Risultati.* Dei 2334 campioni finora analizzati 822(35.2%) sono risultati negativi e 1513(64.8%) positivi per HPV: di questi ultimi 870(37.3) per un singolo genotipo e 643(27.5) per due o più genotipi. Il genotipo 53 è stato riscontrato in 184 casi (7.9%): in 125 casi era associato con genotipi ad alto rischio, in 3 casi associato con il genotipo 66 (tutti e 3 LSIL-CIN1), in 16 casi con genotipi a basso rischio (6 ASCUS, 1 LSIL, 6 CIN1, 1 CIN2/3, 1 con Pap test negativo, 1 n.d., ossia senza dati del Pap test) e in 40 casi non associato (di cui 3 n.d., 4 con Pap test negativo, 12 ASCUS, 4 LSIL, 2 biopsie borderline, 13 CIN1, 1 CIN1/2, 1 CIN2). Il genotipo 66 è stato riscontrato in 147 casi (6.3%): in 95 casi era associato con genotipi ad alto rischio, in 3 casi associato a 53 (3 LSIL-CIN1), in 5 casi con genotipi a basso rischio (2 ASCUS, 1 LSIL, 2 CIN1) e in 44 casi non associato (2 senza dati del Pap test, 4 con Pap test negativo, 17 ASCUS, 4 LSIL, 9 LSIL-CIN1, 8 CIN1).

*Conclusioni.* Laddove ciascun genotipo è stato riscontrato come unico agente infettante si osserva un rapporto numerico tra quadri citologici negativi o di incerto significato (ASCUS) e quadri con lesioni di basso grado pari a 16/19 per il genotipo 53 (per il quale sono documentati anche 2 casi di displasia moderata) e pari a 21/23 per il genotipo 66. E' interessante notare che la confezione 53+66 nei 3 casi in cui è stata osservata era in tutti associata a lesioni, seppur di basso grado (diagnosi citologica di LSIL e istologica di CIN1). I dati osservati sembrano suggerire una moderata azione lesiva di questi genotipi, superiore a quella di genotipi classificati come a basso rischio. D'altra parte l'esiguo numero di casi con lesioni associate non di basso grado, in accordo con altri dati della letteratura che testimoniano bassi rapporti di prevalenza nei cervicocarcinomi (SCC) rispetto ai casi di LSIL per entrambi i genotipi (SCC/LSIL=0.01-0.02 per il 53 e SCC/LSIL=0.02-0.04 per il 66), ne escluderebbe l'alto rischio e dovrebbe orientare verso una loro collocazione in una categoria di rischio intermedio.

**PREVALENZA DELLE MUTAZIONI ASSOCIATE A EMOCROMATOSI EREDITARIA NELLA POPOLAZIONE DEL GARDA BRESCIANO****C-09****O. Valentini, S. Cresceri, A. Todeschi, B. Milanese**

Laboratori di Patologia Clinica, A. O. di Desenzano del Garda

*Scopo del lavoro.* L'emocromatosi ereditaria è una malattia autosomica recessiva non rara (1 su 200-400) nella popolazione caucasica, caratterizzata da accumulo di ferro nell'organismo con conseguente effetto lesivo su vari organi. La malattia è associata a due principali siti di mutazione del gene HFE, situato in prossimità del locus A del complesso HLA sul cromosoma 6: la transizione 845G>A sull'esone 4 di HFE con sostituzione cisteina>tirosina dell'aminoacido in posizione 282 (C282Y) e la trasversione 187C>G nell'esone 2 con sostituzione istidina>aspartato in posizione 63. Una terza mutazione meno frequente è la trasversione 193A>T nell'esone 2 (S65C) con sostituzione serina>cisteina in posizione 65. La metodica da noi utilizzata per l'analisi genomica è in grado di rivelare, oltre a quelli ora descritti, altri 15 diversi siti di mutazione e di dare quindi informazioni circa la prevalenza di eventuali mutazioni di più raro riscontro.

*Materiali e Metodi.* Abbiamo utilizzato il kit commerciale "Haemochromatosis StripAssay A" della Nuclear Laser Medicine, che consente l'identificazione postamplificativa mediante ibridazione su striscia con adese sonde allelespecifiche di 18 diversi alleli mutanti relativi ai geni HFE, TFR2 e FPN1.

*Risultati.* Abbiamo finora effettuato 450 analisi genotipiche per emocromatosi con i seguenti risultati: 218 casi di omozigosi per l'allele normale non mutante; 142 casi di eterozigosi per H63D; 33 casi di eterozigosi per C282Y; 7 casi di eterozigosi per S65C; 17 casi di doppia eterozigosi per H63D e C282Y; 22 casi di omozigosi per H63D; 10 casi di omozigosi per C282Y; nessun caso di omozigosi per S65C. In un solo caso si è osservata la mutazione S65C associata a una delle due mutazioni principali, per la precisione H63D: in tal caso il quadro ibridativo era compatibile, in ordine decrescente di probabilità, con una doppia eterozigosi in trans, una omozigosi per H63D associata a eterozigosi per S65C e infine una doppia omozigosi per entrambe le mutazioni. L'indagine condotta sulle restanti 15 mutazioni analizzabili è risultata negativa in tutte le 450 analisi genomiche effettuate.

*Conclusioni.* Si conferma che anche nella popolazione da noi esaminata le mutazioni riscontrabili sono le ben note H63D, C282Y, S65C, elencate in ordine decrescente di frequenza. Tutte le altre mutazioni, di cui in teoria non si può escludere la presenza, forse dimostrabile su un campione più ampio, sono tuttavia certamente molto rare (nessun riscontro su 450 casi esaminati). La negatività per ciascuna mutazione è confermata dall'ibridazione sulla stessa striscia della corrispondente sequenza genomica non mutante e ciò rende la metodica altamente affidabile. Per la natura del campione di popolazione esaminato, i dati raccolti non possono fornire indicazioni sulle frequenze alleliche, se non in termini relativi, ossia di rapporti di frequenza tra i tre alleli mutanti. Le distribuzioni relative delle frequenze osservate in omozigoti ed eterozigoti appaiono essere compatibili con la legge di Hardy-Weinberg.

## STUDIO PRELIMINARE SULL'ASSETTO METABOLICO ED INFIAMMATORIO IN SOGGETTI PEDIATRICI CON SINDROME DA APNEA OSTRUTTIVA NEL SONNO (OSAS)

C-10

**P. Cardelli, A.C. Massolo, C. Ialongo, M. Ludovici, M. Evangelisti, F. Ianiello, M.C. Paolino, M. Montesano, M.P. Villa**

Il Facoltà Medicina e Chirurgia, Università La Sapienza di Roma - Az. Osp. S.Andrea, Roma

*Scopo del lavoro:* Investigare quali siano i pattern metabolici ed infiammatori esibiti da pazienti pediatrici affetti da OSAS od obesità prima della sovrapposizione dei due quadri clinici, mediante la determinazione di un completo pannello metabolico (SaO<sub>2</sub>, colesterolo, HDL, LDL, trigliceridi, insulina, glucosio, adipochine) ed infiammatorio (PCR-hs, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , MCP1, EGF, VEGF, IFN $\gamma$ ).

*Materiali e Metodi:* lo studio è stato condotto su tre gruppi di soggetti pediatrici, sani (n=10, età=8,86 $\pm$ 4,11 anni), OSAS puri (n=11, RDI  $\geq$  1, età=5,35 $\pm$ 1,32 anni), ed o besi (n=10, BMI=24,49 $\pm$ 4,16, età=9,39 $\pm$ 3,13 anni); i dati biometrici, metabolici ed infiammatori sono stati analizzati con test non parametrici per la mediana, con un livello di significatività di p<0,05.

*Risultati:* differenze statisticamente significative sono state trovate per i valori delle LDL, trigliceridi, insulinemia e leptina per i parametri metabolici, e PCR-hs e IL-2 per quelli infiammatori; differenze al limite della significatività sono inoltre state trovate per i valori di IL-6, IL-10, EGF e VEGF.

*Discussione:* in questo studio preliminare è dimostrato quale sia il comportamento di vari parametri metabolici ed infiammatori, in condizione di OSAS e di obesità, quando nessuna delle due condizioni è concomitante con l'altra. Sebbene basato su un piccolo campione, il nostro studio mostra come in pazienti affetti da OSAS lo stato infiammatorio sia una componente principale della malattia, mentre il profilo lipemico (trigliceridi ed LDL) rasenti quello presentato nell'obesità, a fronte però di valori di BMI non patologici.

## TESTOSTERONE LIBERO E BIODISPONIBILE CALCOLATI NELLO STUDIO DEGLI ANDROGENI

C-11

**R. Irde**

Medicina di Laboratorio - Osp. San Martino - Oristano

*Scopo.* Valutare i livelli del testosterone totale (T) rappresenta una tappa fondamentale nello studio delle disfunzioni androgeniche. La coesistenza di altre patologie può però portare ad alterazioni delle sue proteine di trasporto. In questi casi oltre al dosaggio dell'SHBG sarebbe utile studiare il testosterone libero (FT) che rappresenta la frazione attiva e il testosterone biodisponibile (BT) (legato all'albumina) ovvero la sua frazione rapidamente mobilizzabile. I metodi per studiare FT e BT sono riservati in genere a laboratori di riferimento. E' possibile ottenere però una stima alla portata di ogni laboratorio attraverso alcune formule matematiche. Abbiamo analizzato, in maniera retrospettiva i nostri dati per evidenziare se l'uso delle formule per il calcolo del FT e BT avrebbero aggiunto informazioni al semplice dosaggio del T e dell'SHBG.

*Materiali e Metodi.* Abbiamo valutato, in base ai valori di T e di SHBG, i valori di FT e BT calcolati in 361 soggetti (134 M (23,9-76,3 anni) e 227 F (20 e 49,5 anni) utilizzando il modello matematico delle equazioni di azione e di massa e le costanti di associazione tra T e Albumina (K<sub>a</sub>) e T e SHBG (K<sub>s</sub>) come descritto in letteratura e validato per il FT (1) (2) immettendo le formule in un foglio elettronico "open source".

*Risultati.* Su 123 M con SHBG nei limiti, nei 104 con T nei limiti, sia il FT che il BT era nei limiti in 96 (92% concordanza), basso in 6 e alto in 2; nei 16 con T basso anche FT e BT erano bassi; nei 3 con T alto, 2 FT e BT alto e 1 FT e BT nei limiti. Su 4 M con SHBG basso in piena concordanza 1 ha mostrato T, FT e BT nei limiti, e 3 T, FT e BT bassi. Nei 7 M con SHBG alto, 4 hanno mostrato T nei limiti, ma in 2 di questi FT e BT bassi, mentre piena concordanza di T, FT e BT ne gli altri 3 con T basso. Su 179 F con SHBG nei limiti, nelle 147 con T nei limiti, rispettivamente per l'FT 128 nei limiti e 19 alto e per il BT 50 nei limiti e 97 alto; nelle 5 con T basso, 1 FT nei limiti e 4 bassi, e 5 BT nei limiti, nelle 24 con T alto, 20 FT alto e 4 nei limiti e 24 BT alto. Su 17 F con SHBG basso, nelle 11 con T nei limiti, 10 FT nei limiti e 1 alto, 8 BT nei limiti e 3 alto. Infine su 31 F con SHBG alto, nei 25 con T nei limiti, 19 FT nei limiti e 6 basso e 25 BT nei limiti, piena concordanza nelle 2 con T basso e nelle 4 con T alto.

*Discussione.* Nei M qualsiasi sia il livello di SHBG, T, FT e BT concordano al 100% sui valori bassi. Con SHBG nei limiti la concordanza complessiva è del 93,5%. Con SHBG alta valutare FT e BT ha aggiunto segnali sul basso. Nelle F per SHBG e T normale vi sono segnali di alti livelli di FT nel 12,9% e di alto BT nel 66%.

*Conclusioni.* Fornire il calcolo di FT e BT potrebbe aggiungere dati al dosaggio del T e SHBG da correlare con la clinica. (1) J Clin Endocrinol Metab 84:3666, 1999; (2) Clin Chem 52: 474, 2006

**PUÒ LA E-GFR SOSTITUIRE LA CREATININA CLEARANCE NELLA PRATICA CLINICA?****C-12****D. Giavarina, G. Dall'Olio, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "San Bortolo" – Vicenza

*Scopo del Lavoro:* In molte situazioni cliniche è importante poter misurare la velocità di filtrazione glomerulare (GFR). La creatinina clearance (CLCR) è il mezzo più utilizzato, per la relativa semplicità. Esso è tuttavia inficiato da alcune problematiche preanalitiche che la rendono imprecisa e poco gradita ad operatori e pazienti. Scopo di questo lavoro è di valutare la corrispondenza tra valori di CLCR e della stima della GFR (e-GFR), calcolata con la formula della MDRD, non in condizioni di screening ma in soggetti in cui la condizione clinica ha richiesto una valutazione della GFR.

*Materiali e metodi:* sono state valutate le CLCR eseguite nel periodo 11 agosto 2007 - 10 agosto 2008, pari a 506 pazienti esterni e 267 pazienti interni (di cui 194 in terapia intensiva-rianimazione), comparando i valori di CLCR con i valori di e-GFR. Le determinazioni di creatinina sono state eseguite con metodo enzimatico tracciabile IDMS (Siemens, Terrytown, US). I dati sono stati confrontati per criteri di classificazione dei pazienti, secondo le soglie della classificazione Kidney Disease Outcomes Quality Initiative; maggiore di 90, tra 60 e 90, tra 30 e 60, tra 15 e 30 e <15 mL/min/1,73m<sup>2</sup>

*Risultati:* La concordanza completa di classificazione si è avuta le 56% degli esterni e nel 59 % degli interni. Considerando una sola classe di scostamento, la concordanza è del 96,8% per gli esterni, del 92,1 per gli interni. I pazienti esterni mostrano un bias negativo per la creatinina clearance, per e-GFR > di 90, non evidenziato nei pazienti interni.

Interni						Esterni							
eGFR	>90	60:89	30:59	15:29	<15	Totale	eGFR	>90	60:89	30:59	15:29	<15	Totale
<b>Creat. Clearance</b>							<b>Creat. Clearance</b>						
>90	110	17	6	1	1	135	>90	143	14	4			161
60-89	17	12	10	2		41	60-89	119	52	16	2		189
30-59	3	9	14	13	8	47	30-59	9	32	45	4	1	91
15-29			8	11	13	32	15-29			12	12	3	27
<15				1	11	12	<15				5	33	38
Totale	130	38	38	28	33	267	Totale	271	98	77	23	37	506

*Conclusioni:* La concordanza tra e-GFR e CRCL è discreta e la e-GFR può essere utilizzata come stima della GFR. I problemi preanalitici affliggono la misura della CLCR. La e-GFR rimane una stima della GFR e presenta limiti nelle condizioni di cambiamento acuto della funzionalità renale.

**B-TYPE NATRIURETIC PEPTIDE RESPONSES TO WET AND DRY HYPERBARIC ENVIRONMENT****C-13****B. Biasioli<sup>1</sup>, E. Stenner<sup>1,3</sup>, P. Grassi<sup>2</sup>, G. Delbello<sup>3</sup>, C. Piccinini<sup>1</sup>, B. Biancardi<sup>2</sup>, G. Berlot<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, A.O.U Trieste, <sup>2</sup>Department of Anesthesia and Intensive Care, A.O.U Trieste, <sup>3</sup>School of Sport Medicine, University of Trieste

*Aim of the study.* It is well known that immersion increase cardiac preload by central blood pooling with a rise in both cardiac output and blood pressure while exposure to cold increase afterload by vasoconstrictive effects. Moreover, ventilation with high density gas mixture causes modifications in intrathoracic pressure that could further perturb both preload and afterload. B-type natriuretic peptide (BNP) is preferentially produced and secreted by the ventricles of the heart in response to wall stretch, ventricular dilation and/or increased pressures, all resulting from fluid overload. In a previous study we found no variations in plasma BNP concentrations in healthy volunteers exposed to hyperbaric oxygen at 2,5 ATA in a hyperbaric chamber while other authors documented a significant raise in N-terminal pro-BNP after scuba diving. The aim of these study was to investigate the different influences, if any, of dry hyperbarism with respect to open sea SCUBA diving on BNP secretion.

*Material and methods.* 9 male healthy volunteers performed a 1-hour SCUBA diving (depth: -10m; water temperature: 18°C) and few days later they repeated a dive with the same profile inspiring gas in a hyperbaric chamber. Three blood drawing were performed during both the experimental protocol: before and after the immersion (T0 and T1) and hyperbaric chamber (CT0 and CT1) and 5 hours after exiting the water (T2) and chamber (CT2) during which the volunteers were asked to avoid strenuous physical exercise. Each blood drawing was collected from the ante-cubital vein in vacuum tubes containing anticogulant EDTAK3 in powder form and analysed, after been centrifugated (3000g, 10 minutes), within 4 hours of being drawn. The Triage<sup>®</sup> BNP test (Biosite) was performed on Access2 -Beckman Coulter. Statistical analysis: firstly a non parametric two-way ANOVA (Friedman test), to test whether measurements collected at the considered time points were different and then a non parametric Wilcoxon test for paired samples (SPSS 14.0 statistical software).

*Results.* We measured a significant increase in BNP values with respect to the initial conditions both after the immersion (T0-T1: median values 32.7%; range: 12.5-99.3%) and 5 hours after the performance (T0-T2: median values 28%; range: 14.4-93.8%). No significant results were found during the hyperbaric chamber experimentation.

*Discussion and conclusions.* We conclude that underwater and dry hyperbarism have different effects on BNP secretion in healthy subjects likely due to environmental conditions influences (i.e. water temperature) and neoprene wetsuit compression.

## VERY HIGH PROCALCITONIN LEVELS IN A PATIENT ADMITTED TO THE DEPARTMENT OF ANESTHESIA AND INTENSIVE CARE: CASE REPORT

C-14

**E. Stenner<sup>1</sup>, M. Viviani<sup>2</sup>, W. Micheli<sup>1</sup>, A. Sirotich<sup>2</sup>, G. Berlot<sup>2</sup>, B. Biasioli<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, A.O.U Ospedali Riuniti di Trieste, <sup>2</sup>Department of Anaesthesia, Intensive Care and Emergency, A.O.U Ospedali Riuniti di Trieste, University of Trieste, - Italy

*Aim of study.* The aim of this case study was a) to analyze the clinical course of a patient with a very high procalcitonin (PCT) concentration (266.6 ng/mL) reached few hours after the admission to intensive care (ICU) and b) to verify its possible correlation with cardiac markers (Troponin I (TnI), type-B natriuretic peptide (BNP), creatin kinase (CK and CK-MB) and other routine requested conventional inflammatory parameters (C-reactive protein (CRP), white blood cell count (WBC), axillary temperature).

*Methods.* TnI, CK and CK-MB, WBC were measured on admission, at 4, 6, 12, 18, 22 hours and every day thereafter. PCT, BNP and CRP were measured daily. PCT assays (Brahams) were performed on Liaison (DiaSorin).

*Results.* A patient 42 years old, with a previous history of AMI treated with percutaneous transluminal coronary angioplasty, was referred from home to the emergency department for a severe respiratory insufficiency leading to a respiratory arrest and an inhalation event during resuscitation. On admission he complained cardiogenic shock requiring endotracheal intubation and emergency aortic conterpulsation. Then the patient was transferred to ICU due to the severe hypoxemia and haemodynamic instability. Department of Intensive Care: Day 1. Iperlactacidemia, hypotension, elevation of cardiac markers (max value: TnI 31.24 ng/mL, CK-MB 203 µg/L) and PCT (2.9 ng/mL). Diagnosis: acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with acute coronary syndrome (ACS). Day 2. PCT (266.6 ng/mL), BNP (639.6 p g/mL), PCR (223 mg/dL) and WBC (29.200 cell/µL) peaked, the fever increased; TnI, CK-MB slightly decreased. Diagnosis: cardiogenic shock was rapidly complicated with septic shock. Broad spectrum antibiotic therapy including Levofloxacin, Clindamicin and Ceftazidime, was started. The clinical condition improved after antimicrobial treatment even if blood, tracheal aspirate and intravascular devices cultures were negative.

*Discussion and conclusions.* Our data suggest that initially PCT slightly increased in response to inflammatory process that occurs during ACS and ARDS while the day 2 it peaked because the severe aspiration pneumonia. PCT max values correlated with PCR, WBC, fever and BNP (which rose in response to the myocardial dysfunction and the global tissue hypoxia). More TnI and CK-MB assays with respect to PCT during the first 2 days avoid conclusions about concordance of these parameters. In this case report, PCT values were helpful for diagnosing complicating sepsis in a patient with cardiogenic shock leading to an early appropriate therapy.

## OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT STATUS IN PATIENTS WITH ERECTILE DYSFUNCTION

C-15

**G.V. Melzi d'Eril<sup>1</sup>, A. Barassi<sup>1</sup>, G.M. Colpi<sup>2</sup>, G. Piediferro<sup>2</sup>, G. Dogliotti<sup>3</sup>, M.M. Corsi<sup>3,4</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Polo Universitario San Paolo, Università degli Studi di Milano, Milano; <sup>2</sup>U.O. Andrologia, Azienda Ospedaliera San Paolo, Milano; <sup>3</sup>Istituto di Patologia Generale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Milano, Milano; <sup>4</sup>Laboratorio di Applicazioni Biotecnologiche, IRCCS Istituto Galeazzi, Milano.

*Introduction.* Oxidative stress occurs when there is an imbalance between pro-oxidants and the ability of the antioxidants to scavenge excess reactive oxygen species. Hydrogen peroxide and other derivatives of peroxides are produced during the physiological processes and they increase in some conditions, such as the erection process. Plasma comprises various antioxidant components to prevent free radical injury. Evidence from basic scientific studies indicates that oxidative stress may have a role in the impaired cavernosal function such as erectile dysfunction (ED) (Arch Esp Urol 2001;54:361-366).

*Aim.* The aim of this study was to analyze the metabolic status of patients with atherogenic and non atherogenic impotence.

*Material and methods.* Forty men (mean age 46 years, range 19-70 years) underwent color Doppler examination of cavernosal arteries in conjunction with intracavernous injection of prostaglandin E1 to induce an erection. Atherogenic ED was diagnosed in patients with peak systolic velocity less than 25 cm/sec after intracavernous injection at the Doppler examination carried out for 30 min. Reactive oxygen metabolites were evaluated in serum by a new spectrophotometric assay (d-ROMs test, Diacron, Italy) kindly provided by Diacron S.r.l. and used in line with the manufacturer's recommendations. The test measures the serum levels of reactive oxygen metabolite (ROM) such as hydroperoxides, generated in cells as a consequence of the respiratory burst. Results are expressed in arbitrary units, called "U. CARR." One U. CARR. corresponds to 0.08 mg/100 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Antioxidant status (TAS) in mmol/L was established in the serum with the RANDOX NX2332 test (RANDOX Laboratories Ltd, Ardmore, UK).

*Results.* Out of the 40 males, 20 patients had atherogenic ED (mean age 50 years, range 26-70 years) and 20 patients had non atherogenic ED (mean age 41 years, range 17-60 years). Serum ROMs concentrations were increased (349.75 ± 53.35 SD U. Carr Vs 285.43 ± 25.58 SD U. Carr, p<0.001) and serum TAS concentration were decreased (0.54 ± 0.16 SD mmol/L Vs 0.94 ± 0.28 SD mmol/L, p<0.0001) in patients with atherogenic ED respect to patients with non atherogenic ED.

*Conclusion.* Our observation may be useful to better understand and discriminate the differences between atherogenic and non atherogenic ED, using laboratory analysis.

## ANALISI DEI LIVELLI SERICI DI BLYS ED APRIL IN PAZIENTI CON TIROIDITE AUTOIMMUNE

C-16

**M. Fabris\*, D. Visentini§, C. Fabro\*, F. Grimaldi#, D. Villalta°, S. De Vita\*, E. Tonutti§**

\*Clinica di Reumatologia e §Laboratorio di Immunopatologia e Allergologia e #Unità di Endocrinologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Udine; ° Immunologia Clinica e Virologia, Ospedale Civile, Pordenone

*Scopo del lavoro.* I disordini autoimmunitari della tiroide, tiroidite di Hashimoto (HT) e morbo di Graves-Basedow (GBD), sono le più comuni malattie autoimmuni organo-specifiche. Nonostante la fervida ricerca, l'etiopatogenesi è ancora sostanzialmente ignota. Elevati livelli serici e tissutali delle citochine BLYS (B-Lymphocyte Stimulator) ed April (a proliferation inducing ligand) sono stati descritti in numerose malattie autoimmuni sistemiche. Abbiamo pertanto voluto analizzare i livelli serici di BLYS ed April in pazienti con tiroidite autoimmune. Materiali e Metodi. Settantotto pazienti con tiroidite autoimmune (56 con HT e 22 con GBD) sono stati arruolati nello studio e confrontati con 80 donatori sani, comparabili per età e sesso. I livelli sierici di BLYS ed April sono stati dosati con kit ELISA (Quantikine Human BAFF/BLYS, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA e Human April Elisa, Bender Med System, Vienna, Austria).

*Risultati.* I livelli sierici di BLYS sono risultati significativamente più elevati nei pazienti con tiroidite autoimmune rispetto ai controlli ( $1.12 \pm 0.39 \text{ ng/ml}$  vs  $0.666 \pm 0.240 \text{ ng/ml}$ ;  $p < 0.0001$ ), senza significative differenze tra HT e GBD ( $1.08 \pm 0.38 \text{ ng/ml}$  e  $1.21 \pm 0.42 \text{ ng/ml}$  rispettivamente). I livelli serici di April non differivano in modo significativo tra pazienti e controlli ( $8.1 \pm 30.4 \text{ ng/ml}$  vs  $9.5 \pm 29.8 \text{ ng/ml}$ ), tuttavia un'elevata percentuale di pazienti con HT (71.4%) presentava livelli serici di April sotto il limite di rilevabilità, mentre i casi sotto il limite, nei pazienti con GBD, erano comparabili a quelli dei controlli (36.4% vs 41.3%). Pertanto i pazienti con HT mostravano una significativa diminuzione dei livelli serici di April, sia rispetto ai controlli ( $p = 0.0008$ ), che ai pazienti con GBD ( $p = 0.0025$ ). Non è stata osservata alcuna correlazione significativa tra i livelli di BLYS ed April, né tra le citochine e i livelli degli autoanticorpi. Una significativa correlazione inversa tra i livelli di BLYS e quelli del TSH è stata invece riscontrata nei pazienti con HT ( $r = -0.42$ ;  $p = 0.0256$ ).

*Conclusioni.* L'aumento dei livelli serici di BLYS nelle tiroiditi autoimmuni suggerisce un ruolo patogenetico importante di questa citochina anche nei disordini autoimmuni della tiroide e indica nel BLYS un possibile nuovo marker diagnostico, prognostico e terapeutico. Inoltre, l'iperespressione di BLYS potrebbe spiegare l'associazione frequente tra tiroiditi ed altre malattie autoimmuni e/o linfoproliferative. La riduzione dei livelli serici di April differenzia invece i pazienti con HT da quelli con GBD, suggerendo un ruolo peculiare di un'alterata espressione di April solo nella HT.

## IL DOSAGGIO DELLA CREATININA PER LA VALUTAZIONE DELLA VELOCITÀ DI FILTRAZIONE GLOMERULARE

C-17

**G. Olivieri, L. Paterna, M.G. Alessio, F. Lavarda**

Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e di Ematologia – Azienda Ospedale San Carlo Borromeo Milano

*Introduzione.* Le nefropatie croniche (CKD) costituiscono uno dei maggiori problemi sanitari a livello mondiale. Per la diagnostica delle CKD si utilizza la GFR (Glomerular Filtration Rate) che può essere valutata con la misura della clearance urinaria di vari marcatori esogeni. Una alternativa a questi è l'utilizzo della clearance della creatinina. Questo metodo è poco accurato a causa della raccolta delle urine. Stime più accurate della GFR si possono ottenere mediante l'impiego di equazioni. Quella più usata è la MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) a quattro variabili. Uno dei problemi nell'utilizzo di questa formula è che differenti calibrizioni della metodica per la determinazione della creatinina possono introdurre una significativa fonte di errore nella stima della GFR. Da qui l'importanza di utilizzare metodi standardizzati e specifici.

*Scopo e Metodi.* Verificare la comparabilità della stima del GFR con la formula MDRD e con la Clearance della Creatinina utilizzando i valori di creatinina ottenuti con il metodo attualmente in uso nel laboratorio (picrato alcalino) e quelli ottenuti con una metodica di tipo enzimatico considerata più specifica. Entrambi i metodi sono riferibili al materiale di riferimento SRM 914. I campioni utilizzati sono stati 51.

*Risultati.* La retta di regressione tra i due metodi di determinazione della creatinina ha evidenziato una intercetta di 0.00 (IC 95% -0,03-0,00); una pendenza di 1 (IC 95% 0,00-1,02);  $R^2 = 0,99$ . Il confronto tra la GFR ottenuta con la formula MDRD e la clearance della creatinina, utilizzando la creatinina dosata con il metodo del picrato alcalino (come visto del tutto sovrapponibile al metodo enzimatico), ha evidenziato la seguente retta di regressione (Clearance creatinina =  $-5 + 1,38$  (eGFR MDRD)  $R^2 = 0,76$ ).

*Conclusioni.* I due metodi della determinazione della creatinina sono del tutto sovrapponibili e possono essere utilizzati entrambi nella formula del MDRD. Nel confronto tra clearance della creatinina e MDRD esistono evidenti differenze (i valori di MDRD sono il 38% più bassi di quelli della clearance) che portano a differenze nella classificazione dei pazienti con GFR superiore o inferiore a 60 ml/min.

I Infusino, M. Panteghini, Referibilità metrologica e validità della determinazione della creatinina come indice di funzionalità renale. *Biochimica Clinica*, 2007;31:23-18

## ANALISI DEI LIVELLI SERICI DI BLYS ED APRIL IN PAZIENTI CON DEFICIT DI IgA, CON E SENZA CONCOMITANTE MALATTIA CELIACA

C-18

**M. Fabris\***, **A. Picierno§**, **D. Visentini§**, **A. Lerussi\***, **D. Villalta#**, **M.G. Alessio\*\***, **M. Tampoia^**, **S. De Vita\***, **E. Tonutti§**

\*Clinica di Reumatologia e §Laboratorio di Immunopatologia e Allergologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Udine; #Immunologia Clinica e Virologia, Ospedale Civile, Pordenone; \*\*Laboratorio di Chimica Clinica, Ospedali Riuniti, Bergamo; ^Patologia Clinica, Policlinico Consorziale, Bari

*Scopo del lavoro.* Il deficit selettivo di IgA (IgAD) è la più comune forma di immunodeficienza. Molte altre malattie si associano all'IgAD, in particolare, quelle autoimmuni. L'associazione più frequente è con la celiachia. I meccanismi etiopatogenetici alla base del deficit di IgA e dell'eventuale sviluppo di autoimmunità sono ancora sostanzialmente ignoti. Elevati livelli delle citochine B-Lymphocyte Stimulator (BLyS) ed April (a proliferation-inducing ligand) sono stati recentemente descritti in numerose malattie autoimmuni. Abbiamo qui analizzato i livelli serici di BLyS ed April in una serie di pazienti con IgAD, con e senza celiachia.

*Metodi.* I livelli serici di BLyS ed April sono stati analizzati con kit ELISA (Quantikine Human BAFF/BLyS, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA e Human April Elisa, Bender Med System, Vienna, Austria) in una serie di pazienti con IgAD (di cui 36 con concomitante diagnosi di celiachia effettuata mediante dosaggio degli anticorpi anti-tranglutaminasi IgG e biopsia duodeno-digiunale). April è stato dosato anche in una serie di 73 pazienti con celiachia senza IgAD, nei quali era stato precedentemente dosato il BLyS (M. Fabris, Scan J Gastroenterol 2007). I pazienti sono stati confrontati con una serie di 80 controlli sani, comparabili per sesso e provenienza geografica.

*Risultati.* I pazienti con IgAD presentavano un marcat o incremento dei livelli serici di BLyS ( $1.57 \pm 0.51$  ng/ml vs  $0.66 \pm 0.24$  ng/ml;  $p < 0.0001$ ) ed April ( $8.85 \pm 10.03$  ng/ml, mediana 4.12 ng/ml, vs  $9.49 \pm 29.81$  ng/ml, mediana 1.19 ng/ml;  $p = 0.003$ ) rispetto ai controlli. Nessuna differenza è stata riscontrata tra pazienti con e senza celiachia. Mentre i livelli di BLyS erano significativamente più elevati, sia nei pazienti con IgAD, che in quelli con celiachia e normali IgA, April era significativamente più elevato solo nei soggetti con IgAD.

*Conclusioni.* Sia BLyS che April sono iperespressi nei pazienti con IgAD e potrebbero contribuire all'incrementato rischio di sviluppo di autoimmunità nei soggetti con tale deficit immunologico. Poiché April è implicato nello switch isotipico ad IgA, la sua incrementata espressione nei pazienti con IgAD suggerisce che il deficit di IgA non sia collegato ad un deficit primario di April. Il blocco terapeutico di BLyS potrebbe rivestire un importante ruolo in futuro nella gestione delle malattie autoimmuni associate all'IgAD.

## RUOLO DELL'ORMONE ANTI-MÜLLERIANO (AMH) NELLA TECNOLOGIA RIPRODUTTIVA ASSISTITA (ART)

C-19

**D. Poz<sup>1</sup>**, **P. Cappelletti<sup>1</sup>**, **M. Manno<sup>2</sup>**

Patologia Clinica (1) e Centro per lo Studio dell'Infertilità (2) AOSMA Pordenone

*Premessa:* AMH è stato recentemente proposto come marker indicativo di riserva ovarica e predittivo di risposta alla stimolazione ovarica nei cicli di ART. Il suo vantaggio potenziale rispetto agli altri parametri abitualmente valutati (FSH, LH, Estradiolo, Inibina-B) è legato alla stabilità dei suoi valori durante il ciclo mestruale per cui il prelievo può essere effettuato in qualunque momento.

*Scopo del lavoro:* è valutare l'AMH come indice di riserva ovarica, prima della sua introduzione come test di routine per la valutazione di pazienti candidate a cicli di ART.

*Materiali e metodi:* In 67 donne di età < 40 anni (età media  $34.6 \pm 3.3$  anni; range 27-41; mediana 35) consecutivamente sottoposte ad ART, sulla base dell'assetto ormonale basale (incluso l'AMH), sono stati studiati FSH e Estradiolo (prelievo venoso in 3a giornata del ciclo mestruale; metodo immunoenzimatico) e AMH (prelievo venoso random e metodo immunoenzimatico sandwich in 2 fasi). Sulla base del numero di ovociti recuperati sono stati identificati 2 gruppi di pazienti: POOR RESPONDERS se la conta ovocitaria era <5; GOOD RESPONDERS se la conta ovocitaria era  $\geq 5$ . Valori di AMH <1 ng/mL sono stati considerati indice di ridotta riserva ovarica e valori >6 ng/mL sono stati considerati potenzialmente a rischio di OHSS (sindrome da iperstimolazione ovarica).

*Risultati:* La correlazione tra AMH e numero di ovociti recuperati è  $r = 0.47$ . AMH è risultato essere più elevato nel gruppo delle GOOD RESPONDERS: 3.6 ng/mL vs 2.3 ng/mL, pur non raggiungendo la significatività statistica ( $p = 0.28$ ). Per l'identificazione delle GOOD RESPONDERS l'età non è apparsa significativa, mentre FSH si ( $P < 0.01$ ) Non sembra esservi relazione tra il valore di FSH e AMH ( $r = 0.27$ ). Il valore medio di AMH nelle pazienti che hanno sviluppato una OHSS ( $n = 11$ ) è risultato essere di  $5.11 \pm 5.36$  ng/mL mentre quello di FSH  $5.9 \pm 1.5$  mUI/mL.

*Discussione:* I dati preliminari evidenziano una, seppur debole, relazione tra i livelli di AMH e il numero di ovociti recuperati e, in sostanza, la riserva ovarica, anche se valutazioni analoghe si possono ottenere dalla determinazione di altri indicatori (in particolare FSH). AMH sembra ricoprire una certa significatività nella valutazione delle donne potenzialmente a rischio di sviluppo di OHSS, sebbene non possa essere ancora identificato come adeguato predittore se considerato da solo. I dati ottenuti sono sovrapponibili a quanto riportato in letteratura ma sono necessarie ulteriori osservazioni per un inserimento efficace di AMH nel protocollo clinico routinario, data la scarsa numerosità del campione osservato.

## PROCALCITONIN USEFULNESS IN CLINICAL DECISION MAKING ABOUT ANTIBIOTIC USE IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE EXACERBATIONS: PRELIMINARY DATA

C-20

**E. Stenner<sup>1</sup>, G. Milani<sup>2</sup>, W. Micheli<sup>1</sup>, M. Confalonieri<sup>2</sup>, B. Biasioli<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, AOU, Trieste, <sup>2</sup>Pulmonology Department, AOU, Trieste

*Aim of the study.* While antibiotic (atb) treatment has been recommended for pts with exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (COPDex) a bacterial etiology has been found in only a half of these pts. Procalcitonin (PCT) has been indicated as a marker of bacterial infectious disease, however, the reliability of PCT as a marker for different atb treatment in pts with COPDex has not been adequately established. This preliminary study aimed to investigate if PCT could be used to predict bacterial isolation in COPDex allowing a reduction of atb treatments.

*Methods.* 8 consecutive pts, hospitalised in our Pulmonology (diagnosis: respiratory failure due to COPDex), received standard medical therapy including atb therapy. PCT (Liaison, Brahms) was evaluated: on admission (T0), at 24 (T1) and 48 (T2) hours and performed on Liaison (DiaSorin). C-reactive protein, leukocyte count, bacterial isolation and identification on expectorate were performed. An arbitrary cut off value was selected for each of the following parameters: white blood cells > 12000 cell/ $\mu$ L, PCR > 5 mg/L, PCT > 0.5 ng/mL, temp > 37.5°C, daily expectorated volume change with respect to initial condition higher than 3 mL. 1 was attributed to values exceeding cut off limits while 0 to lower values. Each day these parameters were evaluated and contributed to a score between 0 and 5 which were summed up on T2 to get a predictive score (S) of infectious risk (0-15). A positive result to sputum bacterial culture was considered absolute indication to continue atb therapy. On T2 the attending physician, informed about the final score, decided whether to maintain atb therapy or suspend it.

*Results:* 6 pts showed PCT levels not suggestive for bacterial infection (ST2: 3 - 6), 2 pts showed higher level of PCT (ST2: 9 and 11). Atb therapy was suspended in 2 pts following S calculation. In 2 pts atb therapy was continued and decision was in line with S values (9-11). In 4 pts atb therapy was continued even if S showed low probability of infection. No patient showed positive sputum bacterial culture. PCT levels showed good correlation to negative sputum culture in low infection risk pts. PCT showed analogous trend evolution to other infection/inflammation clinical and laboratory markers in all the pts.

*Discussion and conclusions:* our data suggest that PCT levels show a promising common trend to other more widespread clinical and laboratory markers and could be used to assess risk of bacterial infection in non-sepsis pts. From a clinical point of view new diagnostic tools are difficult to integrate in medical decision-making, regarding atb use in pts with COPDex. We need to improve our pts.

## INUSUALE RISCONTRO PARASSITOLOGICO NEL SEDIMENTO URINARIO

D-01

**M. Daves<sup>1</sup>, G. Cosio<sup>2</sup>, P. Innocenti<sup>2</sup>, P. Holzfeind<sup>1</sup>, P. Seehauser, F. Rizza<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio di Biochimica Clinica, <sup>2</sup>Laboratorio Aziendale di Microbiologia e Virologia, Azienda Sanitaria dell'Alto Adige, Comprensorio Sanitario di Bolzano

*Scopo del lavoro:* riportiamo un caso di inusuale riscontro parassitologico in un campione di urina riferito ad una paziente giunta al nostro Laboratorio per una routine physical check.

*Materiali e metodi:* nel nostro Laboratorio vengono analizzati giornalmente circa 350 campioni di urina. L'esame prevede l'analisi chimico-fisica con analizzatore Aution-max (Menarini) e l'analisi automatizzata del sedimento con strumento UF-100 (Dasit). I campioni che presentano incongruenze tra esame chimico-fisico ed esame della parte corpuscolata e comunque ogni campione che il medico laboratorista ritiene che lo strumento non abbia letto in modo soddisfacente viene valutato al microscopio a 250 ingrandimenti dopo centrifugazione. Il campione in esame presenta delle anomalie per quanto riguarda i grafici forniti dallo strumento UF-100, inoltre viene riportata la presenza di miceti e un numero molto elevato di particelle contate come Others, cioè elementi che l'analizzatore non è in grado di riconoscere e classificare. Per tale motivo viene allestito un vetrino per l'esame microscopico che mette in evidenza la presenza in numero notevole di microrganismi ciliati mobili di notevoli dimensioni, presenza di cellule epiteliali di sfaldamento (riportate anche alla lettura strumentale) e l'assenza di miceti. Il campione di urina viene inviato al collega microbiologo che effettua il riconoscimento del parassita presente come Balantidium Coli, un protozoo ciliato che si ritrova di norma nei suini. L'infezione a livello intestinale nell'uomo è in genere asintomatica e autolimitante ma in soggetti debilitati può provocare diarrea emorragica e severa disidratazione. Contattiamo il medico curante della paziente che informiamo del riscontro del protozoo nel campione di urina come possibile contaminazione e consigliamo l'esecuzione di un esame delle feci per ricerca parassitologica.

*Conclusioni:* nonostante il grado di automazione e l'affidabilità dell'esame urine rimane sempre determinante la valutazione attenta del referto strumentale e l'approfondimento da parte del medico di Laboratorio di tutti quei casi che riportano anomalie dei grafici forniti dal lettore del sedimento e incongruenze tra esame chimico fisico e parte corpuscolata.



## STUDIO DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA DEI GERMI ISOLATI NELLE INFEZIONI DELLE VIE URINARIE

D-02

**M. Laneve, C. Mazzone**

Laboratorio di Patologia Clinica del P.O. Occidentale (Mottola) della A.USL TA

*Scopo del lavoro:* Il nostro studio si propone di valutare l'antibiotico-resistenza dei germi isolati dalle urinocolture (urinoc) positive.

*Materiali e Metodi:* Nel periodo compreso tra luglio 2007- luglio 2008 abbiamo analizzato 1422 urinocolture di pazienti ambulatoriali esterni. La coltura delle urine è stata effettuata con il kit della BIO-DETECTOR (Liofilchem), l'identificazione dei germi con i sistemi Api 20 E, Strep e Staph (bioMérieux) e gli antibiogrammi con i sistemi ATB UR5, PSE, STAPH 5 e STREP 5 (bioMérieux).

*Risultati:* Su 1422 urinocolture 320 sono risultate positive (22%) con una prevalenza, tra i Gram negativi (G-), di Escherichia coli (E.coli) 62%, seguita da Klebsiella sp.(Kleb)10%, Pseudomonas sp.(Pse) 5,95% e Proteus sp. (Prot) 5%. Tra i Gram positivi prevalgono gli Staphilococchi (Staf) 5,32% e gli Enterococchi (Ent) 2%. La sensibilità dei microrganismi nei confronti degli antibiotici è illustrata nella seguente tabella:

ANTIBIOTICI	GERMI					
	E. coli	Kleb	Prot	Pse	Staf	Ent
Amoxicillina	44	55	45	20	27	28
Amo-ac.cla	85	70	80	20	30	30
Piperacillina	68	86	75	75	/	/
Ciprofloxacina	78	57	45	45	45	40
Cotrimoxazolo	56	52	25	25	75	/
Ceftazidima	94	86	67	68	/	/
Cefotaxima	96	86	71	71	/	/
Gentamicina	87	86	18	75	70	20
Imipenem	100	57	75	75	/	/
Amikacina	99	86	75	75	/	/
Fosfomicina	100	86	83	/	50	56
Nitrofurantoina	99	86	17	/	65	9
Minociclina	/	/	/	/	100	/
Vancomicina	/	/	/	/	100	/
Oxacillina	/	/	/	/	99	/

*Conclusioni:* Dai dati si evince che amoxicillina e cotrimoxazolo hanno alte percentuali di resistenza. Imipenem, fosfomicina, amikacina, ceftazidima e cefotaxima sono i più attivi nei confronti dei G-; minociclina, vancomicina e oxacillina sono molto efficaci nelle infezioni da stafilococco.

Si ribadisce l'importanza dell'antibiogramma per una corretta terapia antibiotica delle IVU.

## EZIOLOGIA E FREQUENZA DELLE INFEZIONI BATTERICHE URINARIE

D-03

**C. Mazzone, M. Laneve**

Laboratorio di Patologia Clinica del P.O. Occidentale (Mottola) della A.USL TA

*Scopo del lavoro:* Le infezioni delle vie urinarie (IVU) stanno assumendo sempre maggior rilievo da un punto di vista epidemiologico; sono seconde solo a quelle dell'apparato respiratorio e rappresentano l'infezione più frequentemente contratta in ambito ospedaliero. L'incidenza aumenta con l'età e, nella donna, è bassa in età prepuberale, ma aumenta con l'inizio dell'attività sessuale, con le gravidanze e dopo la menopausa; nell'uomo tende ad aumentare in età avanzata. L'obiettivo di questo studio è stato di valutare, nei pazienti (pz) ambulatoriali esterni, la frequenza delle IVU, i microrganismi coinvolti e la distribuzione dei pazienti per sesso ed età.

*Materiali e Metodi:* Presso il Laboratorio di Patologia Clinica del P.O. di Mottola A.USL Taranto, nel periodo compreso tra luglio 2007- luglio 2008, sono state esaminate 1422 urinocolture, di pz ambulatoriali esterni. Nella nostra indagine è stato usato il kit della BIO-DETECTOR (Liofilchem) che utilizza dei dip-slide con i seguenti terreni di coltura: a) Cled Agar per la determinazione della carica microbica totale; b) Mac Conkey Agar per i batteri Gram negativi in genere; c) Cetrimide Agar per i batteri del genere Pseudomonas; d) Malto Agar per i miceti; e) Bile Aesculin Agar per gli enterococchi. L'identificazione dei germi è stata effettuata con i sistemi Api 20 E, Api 20 NE, Api Strep, Api Staph (bioMérieux).

*Risultati:* Su 1422 urinocolture analizzate, 320 (22%) sono risultate positive (carica batterica  $\geq 100000$  cfu/ml) con prevalenza del sesso femminile (75%) rispetto al sesso maschile (25%). La maggior parte delle IVU sono risultate essere sostenute da batteri Gram negativi (92,05%) con prevalenza di Escherichia coli (62%), seguita da Klebsiella pneumoniae (7,5%), Pseudomonas aeruginosa (5,95%) e Proteus mirabilis (5%), Citrobacter freundii (2,5%), Serratia odorifera (2,5%), Morganella morganii (1,89%), Aereomonas sobria (1,25%), Klebsiella ornithinolytica (1,25%), Klebsiella planticola (0,63%), Candida ssp. (0,63%), Klebsiella Oxytoca (0,63%), Enterobacter cloacae (0,63%), Citrobacter Koseri (0,32%). Tra i Gram positivi (7,32%) prevalgono gli Staphilococchi (S.), S. aureus (3,75%), S. saprophyticus (0,94%), S. haemolyticus (0,63%) e gli Enterococchi (2%).

*Conclusioni:* Il presente studio ha evidenziato che, nell'eziologia delle IVU, l'Escherichia coli è il germe più frequentemente isolato (62%) rispetto agli altri microrganismi identificati. Inoltre aumenta sempre più la variabilità dei germi responsabili di tali infezioni e, come già segnalato in letteratura, le IVU sono più diffuse nel sesso femminile (75%), tendendo ad aumentare con l'età. In conclusione, i risultati delle nostre osservazioni confermano l'utilità del laboratorio di patologia clinica nella sorveglianza delle IVU.

## HUMAN PAPILLOMAVIRUS: DETECTION IN THE URINE OF HEALTHY INDIVIDUALS AND TRANSPLANTED PATIENTS

D-04

**E. Papa<sup>1</sup>, T. Feccia<sup>1</sup>, R. Massarelli<sup>1</sup>, V. Luciani<sup>1</sup>, L. Giuliani<sup>2</sup>, M. Ciotti<sup>2</sup>, G. Federici<sup>1</sup>, M. Dessì<sup>1</sup>**

<sup>1,2</sup>Department of Laboratory Medicine, Laboratories of <sup>1</sup>Clinical Biochemistry and <sup>2</sup>Molecular Virology, University Hospital Tor Vergata, Rome, Italy

*Introduction:* Infections by the human papillomavirus (HPV) are ubiquitous in humans. More than 96 HPV types have been identified of which approximately 30-40 types have been found in female genital tract infections. HPV viruses are classified in low-risk types (6,11,42,43,44) and high-risk types (16,18,31,33,35,39,45,51,52, 56,58,59,68); they are detected in the urine of infected patients. HPV DNA can be identified in more than 90% of invasive cervical carcinomas, therefore HPV DNA screening has become a critical assay to identify women with persistent HPV infection that are at risk of developing high grade cervical lesions and cancer.

*Objective:* The aim of our study was to determine the prevalence and the genotypes of HPV in the urine of healthy individuals. Urine is an easy specimen to obtain that could be used to monitor the circulation of HPV genotypes among individuals.

*Materials and Methods:* The presence of HPV DNA was examined in the urine pellet by polymerase chain reaction (PCR) using primers MY09/11 and SPF followed by genotyping with line probe assay (LiPA).

*Results:* The frequency of HPV reactivation was low (6,8%) with the prevalence of high-risk types (HPV 16/18; HPV39; HPV18). We screened by PCR 108 healthy individuals and 25 transplanted patients (22 for kidney and 3 for liver) for the presence of HPV in urine specimens. The HPV positive cases were genotyped by sequencing. Six out of 108 healthy individuals were positive for HPV (5,5%), while among the transplanted patients 4/22 were positive (18,1%).

*Discussion and Conclusions:* Of the 10 positives cases, 9 were infected by a single genotypes and 1 by two genotypes. The 9 single infections were represented by 4 high-risk types (1 HPV18, 1 HPV39, 2 HPV53, 1 HPV70) and 2 low-risk types (2 HPV6, 1 HPV62). The double infection was due to HPV16/18. One HPV was not typeable. Our data showed that urine is a valuable specimen for HPV screening and that the prevalence of infection is higher among immuno-suppressed individuals. Since urine is a sample easy to obtain, it could be particularly useful in developing countries and for screening recalcitrant individuals, especially men, by a non invasive technique.

## DETECTION AND TYPING OF BKV, SV40 AND JCV IN THE URINE OF HEALTHY INDIVIDUALS AND KIDNEY TRANSPLANTED PATIENTS

D-05

**M. Dessì<sup>1</sup>, E. Papa<sup>1</sup>, T. Feccia<sup>1</sup>, A. Agnoli<sup>1</sup>, V. Luciani<sup>1</sup>, L. Giuliani<sup>2</sup>, S. Casciani<sup>1</sup>, M. Ciotti<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup>Department of Laboratory Medicine, Laboratories of <sup>1</sup>Clinical Biochemistry and <sup>2</sup>Molecular Virology, University Hospital Tor Vergata, Rome, Italy

*Introduction:* Human polyomavirus JC and BK infect the worldwide population, remain latent in the kidney and are excreted in the urine. They usually cause asymptomatic infection that occur early in life: about 60-80% of adults population presents antibodies against the two viruses which establish a latent infection in the kidney. In patients with immunodeficiency induced by diseases, immunosuppressive drugs or transplant recipients, BKV or JCV can reactivate and cause damage to the host. In particular JCV infect the oligodendrocytes causing progressive multifocal leucoencephalopathy (PML) a demyelinating disease of the brain often seen in AIDS patients. BKV can cause renal tubular necrosis and rejection of the allograft in renal transplanted recipients and hemorrhagic cystitis in bone-marrow transplantation patients. SV40 is a monkey polyomavirus that was accidentally transmitted to humans by contaminated polio-vaccines. SV40 causes asymptomatic infections, remains latent in the kidney and may produce a demyelinating disease similar to PML.

*Objective:* The aim of this study was to determine the prevalence and the genotypes of BKV, JCV, SV40 in the urine of healthy individuals. We screened by PCR the urine of 57 healthy individuals and 22 kidney transplanted patients for the presence of JCV, SV40 and BKV- DNA. The amplified product was digested with Bam HI restriction enzyme which cuts a nucleotide sequence present in JCV but not in BKV. A highly conserved region of DNA of BKV and JCV was also amplified and sequenced to genotype both viruses. We detected 4 BKV-DNA (7%) and 13 JCV-DNA (22,8%) in the urine of healthy individuals, while the cases positive in the transplanted patients were 2 (9%) for BKV and 5 (22,7%) for JCV. BKV genotyping revealed the presence of the J2B-2 type in healthy individuals and J2B-11 in transplanted patients. JCV type 1 was the predominant variant in both groups. The presence of SV40 wasn't found. Through the genotyping of BKV and JCV we will be able to determinate the frequency in the healthy population. It will be interesting to compare the different transcriptional control region (TCR) of viral types in immuno-suppressed patients and in allograft transplanted recipients.

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILLINO-RESISTENTE:  
NECESSITA' DI LINEE GUIDA AZIENDALI PER LA SORVEGLIANZA ATTIVA**

D-06

**G.I. Potente, S. Nisticò, M.T. Cerminara, M. Piccoli, M.I. Carlei, A. Luciano**

U.O.C. di Microbiologia e Virologia P.O. di Lamezia Terme

*Scopo del lavoro.* Lo staphylococcus aureus Meticillino-resistente (MRSA) rappresenta una grave minaccia per la salute dei pazienti, sia in strutture ospedaliere che in residenze comunitarie, nonché un notevole aggravio delle spese sanitarie sostenute per le complicazioni a cui i pazienti spesso possono andare incontro. La trasmissione del germe è correlata all'assistenza sanitaria ed è attuata attraverso le mani degli operatori sanitari. Nel nostro P.O., come in molti altri del nostro Paese, non esistono dati epidemiologici precisi né linee guida aziendali per la sorveglianza attiva di tale patogeno. Per avere dei dati, anche se sicuramente sottostimati, abbiamo valutato, dal periodo 01/01/2007 al 30/06/2008, il numero di ceppi di MRSA isolati da vari campioni biologici provenienti da pazienti ricoverati.

*Materiali e Metodi.* Gli isolati di MRSA provenivano da colture di routine di vari campioni biologici seminati su terreno universale (agar Columbia arricchito con sangue di montone della ditta Becton-Dickinson). Le colonie sospette sono state sottoposte ad identificazione di specie attraverso un test al lattice per la ricerca della coagulasi stafilococcica (Staph latex kit della ditta Pro-Lab) e ad un test di screening al lattice per la ricerca della Meticillino-resistenza (Slidex MRSA Detection della ditta BioMerieux). Per ulteriore conferma i ceppi in esame sono stati sottoposti ad identificazione biochimica e a saggio di sensibilità agli antibiotici utilizzando il sistema automatizzato Vitek2 della ditta BioMerieux.

*Risultati.* Nell'anno 2007 sono stati isolati 7 ceppi di MRSA, un ceppo da sondino endotracheale un ceppo da liquido sinoviale, tre ceppi da tampone auricolare, uno da tampone cutaneo ed uno da tampone faringeo. Due ceppi mostravano resistenza anche a Vancomicina, antibiotico utilizzato come alternativa terapeutica nei pazienti infettati da MRSA. Nel primo semestre del 2008 sono stati isolati altri sette ceppi di MRSA, due da tampone faringeo, due da tampone oculare, due da tampone ferita ed uno da tampone ferita. Nessun ceppo resistente a Vancomicina.

*Discussione e Conclusioni.* E' necessario, alla luce dei dati ottenuti, avviare un protocollo diagnostico-terapeutico per la sorveglianza attiva dello Staphylococcus aureus Meticillino-resistente, considerando anche l'isolamento dei due ceppi resistenti a Vancomicina. Tutto ciò nell'intento non solo di ridurre il numero di infezioni correlate all'assistenza sanitaria, ma anche di migliorare le conoscenze necessarie a contrastarle e prevenirle, nonché per il non trascurabile risparmio di spesa sanitaria che ne deriva.

**RICERCA DI CHLAMYDIA TRACHOMATIS DA TAMPONE ENDOCERVICALE ED URETRALE:  
VALUTAZIONE COMPARATIVA TRA METODICA IMMUNOENZIMATICA E  
DIAGNOSTICA MOLECOLARE**

D-07

**G.I. Potente<sup>1</sup>, S. Nisticò<sup>1</sup>, M.T. Cerminara<sup>2</sup>, A. Luciano<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>S.C. Microbiologia e Virologia ASP Catanzaro; <sup>2</sup>Scuola di Specializzazione Microbiologia e Virologia Università di Catanzaro

*Scopo del lavoro:* L'infezione da Chlamydia trachomatis, generalmente asintomatica, nei soggetti di sesso femminile, se non diagnosticata e trattata tempestivamente, è in grado di determinare malattia infiammatoria pelvica e quindi di incidere profondamente nella fertilità della donna, ma è anche fortemente implicata nell'insorgenza di prostatiti giovanili nei soggetti di sesso maschile. Questo lavoro vuole valutare, mediante la comparazione dei dati, le potenzialità di due sistemi diagnostici profondamente diversi.

*Materiali e metodi:* All'uopo abbiamo sottoposto a test in doppio 171 pazienti (140 donne e 31 uomini) afferiti al nostro ambulatorio nel periodo compreso tra il gennaio ed il luglio 2008 utilizzando un dosaggio immunoenzimatico (IDEIA PCE Chlamydia, OXOID), che utilizza una doppia amplificazione per la ricerca dell'antigene di Chlamydia e un test di diagnostica molecolare (Chlamydia trachomatis Q-PCR Alert Ampliprobe) per l'amplificazione e la rivelazione real time del DNA di Chlamydia. Entrambi i sistemi sono validati per la ricerca da tampone uretrale e/o endocervicale.

*Risultati:* sui 140 tamponi provenienti da pazienti di sesso femminile, entrambi i sistemi hanno dato risultato negativo. Si è verificata una sola discrepanza, in cui il test immunoenzimatico dava risultato negativo e quello di amplificazione del DNA determinava un dosaggio di 9 copie. Su questo dato, anche in relazione ad una precedente esperienza simile realizzata con un Controllo di Qualità, si è convenuto accettare il risultato ottenuto con il sistema immunoenzimatico. Dei 31 campioni provenienti da pazienti di sesso maschile, 30 sono risultati negativi ed un solo campione, che tra l'altro presentava un quadro sintomatico, ha dato risultato positivo con entrambi i sistemi.

*Discussione e Conclusioni:* I dati ottenuti confermano l'estrema validità del test immunoenzimatico, che presenta sensibilità e specificità sovrapponibile a quanto ottenibile con l'amplificazione genetica, con il vantaggio di costi fortemente inferiori e di minori complicazioni in termini di spazi e personale dedicato. Pertanto, riteniamo estremamente valida la scelta di utilizzare come test di screening il sistema immunoenzimatico.

## VALUTAZIONE DI POTENZIALE EFFICACIA PROTETTIVA DELLA VACCINAZIONE HPV NELL'AREA PORDENONESE

D-08

**M.L. Modolo, S. Sulfaro\*, W. Marus\*, R. De Rosa, M. Avolio, A. Camporese**

SC Microbiologia e Virologia, \* SC Anatomia Patologica - Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli, Pordenone

*Scopo del lavoro:* Nell'ambito del programma di screening regionale, a tutte le donne "positive" (ASCUS/AGUS-D o più grave) inviate al centro di 2° livello dell'AOSMA (7/99-12/07) è stato eseguito prelievo per determinazione di HPV-DNA. In questa popolazione (n=660) si è osservata una prevalenza di HPV16 e 18 (44.4%) inferiore a quella riportata in altre aree della regione, che ci ha indotto a valutare la potenziale efficacia della vaccinazione HPV in donne con lesioni squamose o ghiandolari istologicamente confermate.

*Materiali e Metodi:* Sono stati istologicamente osservati 276 casi con lesioni di basso grado (60 condilomi, 97 CIN1) o di alto grado (59 CIN2, 34 CIN3, 18 CIS, 3 AIS, 5 carcinomi squamosi invasivi). La ricerca di HPV-DNA è stata eseguita su materiale da cytobrush con polymerase chain reaction (PCR) e analisi dei polimorfismi di restrizione. HPV16 e 18 sono stati anche rilevati con PCR tipo-specifica. La copertura vaccinale è stata considerata "completa" (protezione totale, PT) in presenza dei genotipi vaccinali (HPV16/18/6/11), "parziale-HR" (PP-HR) se coinfezioni da genotipi HPV16/18 con altri genotipi ad alto rischio (HPV-HR) e/o a probabile alto rischio (HPV-pHR), "parziale-LR" (PP-LR) se HPV6/11 (HPV a basso rischio, HPV-LR) associati ad altri genotipi non vaccinali, e "non protezione" (NP) se HPV diversi dai vaccinali.

*Risultati:* Sono state identificate 184 infezioni da HPV-HR (33 coinfezioni), 25 da HPV-pHR (5 coinfezioni), 16 da HPV-LR (3 coinfezioni), e 51 con HPV-DNA+, non identificato (HPV16/18 negative). Rispetto ai genotipi identificati (225 casi), la copertura ipotetica sarebbe: PT 41.3%, PP-HR 11.6%, PP-LR 0.9%, NP 46.2%. Considerando il vaccino bivalente, includendo quindi i casi HPV-DNA non tipizzato/HPV16/18 negativi, la potenziale copertura sarebbe: PT 33.7%, PP-HR 9.4%, PP-LR 0.7% e NP 56.2%. Rispetto alla categoria di rischio di HPV, la PT sarebbe del 25% per LR HPV e del 48.4% per HR-HPV; la PP-HR e la PP-LR sarebbe rispettivamente del 14.1% e del 1.1% per HR-HPV, mentre la NP sarebbe del 75% per LR-HPV, del 100% per HPV pHR e del 36.4% nei HR-HPV. Rispetto alle lesioni istologicamente confermate, escludendo i 51 casi con HPV-DNA non tipizzato (36 casi con lesioni di basso grado e 15 casi con lesioni di alto grado), la protezione potenziale nelle lesioni di basso grado (121 casi) sarebbe: PT 29.8%, PP-HR 13.2%, PP-LR 0.8% NP 56.2% e nelle lesioni di alto grado (104): PT 54.7%, PP-HR 9.6%, PP-LR 1% e NP 34.6%. In quest'ultimo gruppo, considerando il vaccino bivalente, includendo quindi i casi HPV-DNA non tipizzato/HPV16/18 negativi, la copertura ipotetica sarebbe: PT 47.9%, PP-HR 8.4%, PP-LR 0.8% e NP 42.9%.

*Discussione e Conclusioni:* Tenuto conto della distribuzione dei genotipi osservati, il vaccino sembrerebbe esprimere una potenziale efficacia protettiva (PT+PP) nel 43.1% delle infezioni da HPV, nel 62.5% delle infezioni da HPV-HR e nel 56.3% delle lesioni di alto grado.

## ISOLAMENTO E SEQUENZIAMENTO DI UN CEPPINO DI *NOCARDIA CYRIACIGEORGICA*

D-09

**G. Bertiato, E. Modolo, M. Battistel, V. Mondardini\*, R. Schiavon, A. Tessari**

Laboratorio Analisi e Microbiologia, \*Malattie Infettive, Ospedale "San Martino" Belluno

*Nocardia cyriacigeorgica* è stata recentemente descritta come una nuova specie emergente di *Nocardia* capace di causare malattie nell'uomo, anche se studi molecolari la indicherebbero come patogeno già noto, fino ad oggi incluso in *Nocardia asteroides* complex.

*Scopo del lavoro.* Descrizione di un caso di infezione articolare sostenuta da *N. cyriacigeorgica* in paziente portatore di artroprotesi al ginocchio e valutazione dell'efficacia della rapida identificazione dell'agente eziologico ai fini dell'allestimento di una corretta terapia antibiotica.

*Materiali e metodi.* Operato di artroprotesi al ginocchio destro da un mese un paziente di 73 anni riferiva edema e rossore a carico del ginocchio perduranti da circa 20 giorni. Il materiale da artrocentesi è stato sottoposto ad esame microscopico e seminato su terreni agarizzati e in terreno liquido, incubati a 37°C per cinque giorni in aerobiosi e in anaerobiosi. L'identificazione presuntiva è stata eseguita con il sistema API 32C (bioMérieux®) con incubazione di sette giorni mentre l'identificazione di specie è stata ottenuta con il sequenziamento dell'unità ribosomiale 16S (rRNA). L'antibiogramma è stato eseguito mediante E-test.

*Risultati.* La microscopia del preparato ha rivelato la presenza di numerosi granulociti neutrofili e di batteri Gram positivi filamentosi ramificati. Dopo 48h di incubazione in aerobiosi si sono potute osservare colonie di aspetto puntiforme, che nei giorni successivi hanno assunto l'aspetto a polvere di gesso con presenza di ife aeree e caratteristico odore pungente. La microscopia delle colonie presentava la medesima morfologia riscontrata nell'esame diretto del materiale. Il sistema API 32C ha fornito una corretta identificazione di genere ma un profilo di specie dubbio. Il sequenziamento della regione dell'unità ribosomiale 16S rRNA ha identificato il batterio come *N. cyriacigeorgica*. I valori di MIC ottenuti hanno indicato sensibilità del ceppo per amikacina, cotrimossazolo, imipenem, ceftriaxone.

*Discussione e conclusioni.* *N. cyriacigeorgica* è una specie di recente descrizione che sta suscitando un crescente interesse in ambito clinico come dimostrano casi di infezioni gravi riportate in letteratura negli ultimi anni. L'utilizzo del sequenziamento ha permesso di identificare con accuratezza e in tempi rapidi l'agente eziologico, permettendo il tempestivo allestimento della più idonea terapia antibiotica. Dopo trattamento con amikacina e cotrimossazolo endovena per due settimane seguito da assunzione orale di cotrimossazolo per quattro settimane il paziente ha riportato una completa remissione, mentre la terapia empirica con ampicillina-sulbactam e teicoplanina delle due settimane precedenti non aveva portato a miglioramento del quadro clinico.

**SALMONELLOSINEONATALE CON MENINGITE: DESCRIZIONE DI UN CASO****D-10****M. Fuoti °, C. Carmignani °°, G. Bergamaschi °, C. Pasini °°, K. Shiha °, S. De Filippi °°, B. Milanese °°**

° U.O. di Pediatria e Patologia Neonatale, °° Laboratori di Patologia Clinica Aziedndali - A.O. di Desenzano d/G

*Introduzione:* Numerosi sono i quadri clinici legati ad infezione da Salmonelle non tifoidee: dallo stato di portatore asintomatico alla gastroenterite acuta, alle più rare batteriemia e disseminazione con suppurazione localizzata. Le infezioni invasive neonatali risultano rare nei Paesi di più alto tenore socioeconomico. Nei Paesi in Via di Sviluppo appaiono più frequenti e sono spesso gravate da un alto numero di complicanze e un alto tasso di mortalità. Sono riportati casi in cui il contagio neonatale avviene attraverso il latte materno.

*Storia Clinica:* Riportiamo il caso di una neonata di 21 giorni che giunge all'attenzione dell'UO di Pediatria dell'Ospedale di Desenzano d/G per iperpiressia, vomito e inappetenza da 2 giorni. Dall'anamnesi emerge che la piccola è nata a termine da parto cesareo, in assenza di problemi perinatali ed è allattata con latte formulato. Non si rilevano quadri infettivi recenti nei familiari. L'obiettività evidenzia pianto lamentoso, irritabilità, marezzeria cutanea, discreto stato di idratazione, fontanella anteriore normotesa. Gli indici di flogosi risultano elevati e si evidenzia neutrofilia relativa in assenza di leucocitosi. La rachicentesi mostra raccolta di liquor opalescente con iperprotidorrachia e ipoglicorrachia, 8000 gb/mm<sup>3</sup> (80% neutrofili; 20% linfociti) e la coltura mostra la crescita di *Salmonella panama* (SP). Anche l'emocoltura evidenzia lo sviluppo di SD, mentre l'urocoltura e la coprocoltura danno esito negativo. Si chiarisce dunque un quadro di sepsi e meningite da SP. L'antibioticoterapia con ampicillina e gentamicina impostata all'ingresso viene modificata a meropenem e cefotaxime sulla base dell'antibiogramma complessivamente per 30 giorni. Si osserva dunque miglioramento clinico e in 6° giornata scomparsa della febbre. Rachicentesi di controllo evidenziano la graduale normalizzazione dei parametri liquorali, parallela alla riduzione degli indici di flogosi. La valutazione neurologica clinica e strumentale non evidenzia anomalie. Coprocolture eseguite sui familiari, senza sintomi clinici, rilevano la crescita di colonie di SP solo sulle feci materne. La bambina ad un *follow up* clinico di 2 anni non mostra sequele.

*Discussione:* *Salmonella spp.* è potenzialmente responsabile di infezione invasiva neonatale ed in particolare di sepsi tardiva e meningite. Lo stato di portatore asintomatico può essere associato a rischio di trasmissione. La positività della coprocoltura materna fornisce un indizio circa la fonte di contagio neonatale e suggerisce che l'effettuare la coprocoltura nelle madri nel *peripartum* possa ridurre il rischio di infezione invasiva neonatale, attraverso il trattamento materno e la diagnosi precoce.

**STREPTOCOCCO BETA-EMOLITICO DI GRUPPO B: UN ANNO DI ESPERIENZA****D-11****B. Grossi, M.G. Tinelli, L. Tursi, M. Laneve, A. Francavilla, C. Cavallo**

Laboratorio di Patologia Clinica, P.O. Occidentale (Mottola) AUSL Taranto

*Scopo del lavoro:* Lo Streptococco beta-emolitico di gruppo B (GBS) è un germe gram-positivo, immobile, prevalentemente anaerobio; è la causa principale di polmonite, meningite e sepsi neonatale. L'infezione del neonato avviene per contatto diretto durante il passaggio attraverso il canale del parto, se la donna presenta colonizzazione vaginale da GBS. Per individuare le donne infette da GBS è importante effettuare uno screening con tampone vaginale, eventualmente associato a tampone perianale, tra la 35a e la 37a settimana di gestazione. Nel nostro studio abbiamo valutato la frequenza dell'isolamento del GBS e la relativa antibiotico resistenza nelle donne gravide afferenti al nostro Laboratorio di Patologia Clinica.

*Materiali e metodi:* Nel periodo compreso tra da Giugno 2007 a Giugno 2008 abbiamo esaminato nel nostro Laboratorio di Patologia Clinica i tamponi vaginali di 310 donne gravide per la ricerca del GBS. I campioni sono stati seminati su piastre di CNA (bioMerieux) in CO<sub>2</sub> per 24-48 ore. Per l'identificazione di gruppo abbiamo utilizzato il kit Slidex Strepto Plus (bioMerieux) e per l'antibiogramma l' ATB Strep (bioMerieux).

*Risultati:* Su un totale di 310 pazienti, 44 (14%) sono risultate positive per il GBS. Inoltre i ceppi isolati sono risultati sensibili al 80% alla penicillina, al 91% all'amoxicillina, al 70% al cefotaxime, al 47% alla eritromicina, al 45% alla clindamicina, al 75% al cotrimoxazolo, al 68% alla vancomicina.

*Conclusioni:* Sulla base dei risultati ottenuti possiamo rilevare che la frequenza di isolamento del GBS nella popolazione studiata è pari al 14% e questo dato concorda con quanto segnalato in letteratura, tuttavia si registra una discreta crescita della antibiotico resistenza, dovuta soprattutto all'uso indiscriminato di questi farmaci chemioterapici. Infine si sottolinea l'utilità della ricerca del GBS in gravidanza ai fini del controllo e della prevenzione delle infezioni neonatali.

## UOVA DI TRICHURIS TRICHIURA IN UN CAMPIONE CITOLOGICO CERVICO-VAGINALE: CASO CLINICO

D-12

**P. Fazzi<sup>1</sup>, F. Pistola<sup>1</sup>, A. Pelatti<sup>1</sup>, E. Colagrande<sup>1</sup>, L. Clerico<sup>1</sup>, C. Crescenzi<sup>1</sup>, D. Angelucci<sup>2</sup>, M.N. Fonzo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>U.O.C. di Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia - P.O. "Spirito Santo" - Pescara; <sup>2</sup>Servizio di Anatomia Patologica - Ospedale Clinicizzato Chieti-Ortona

*Introduzione.* La Tricocefalosi è un'infestazione causata da *Trichuris trichiura*, elminta appartenente al Phylum Nematoda, comunemente definito "verme a frusta". L'infestazione ha diffusione ubiquitaria sebbene sia molto frequente nelle regioni tropicali e subtropicali; si trasmette per assunzione di uova da alimenti crudi contaminati (vegetali, frutta), acqua inquinata e, in ambito pediatrico, per geofagia. I vermi adulti, localizzati nell'intestino cieco, provocano una parassitosi che è generalmente asintomatica, salvo che nelle forme con elevata carica parassitaria dove si rilevano sintomi o segni clinici importanti (dolori addominali, sindrome diarroica con tracce di muco e sangue, anemia, prolasso rettale). Questo report descrive un caso di Tricocefalosi cervicale pervenuto alla nostra osservazione.

*Caso clinico, Materiali e Metodi, Risultati.* Una donna di 48 anni di Ripa Teatina (CH), di professione impiegata, nel Maggio 2007, aderendo al programma nazionale di screening del carcinoma invasivo della cervice uterina, eseguiva, presso l'Ospedale G. Bernabeo di Ortona (CH), un PAP-test convenzionale. L'osservazione microscopica dello striscio citologico ottenuto dallo scraping della cervice uterina, colorato con tecnica di Papanicolaou, evidenziava, oltre che numerose cellule squamose superficiali, alcune uova di *Trichuris trichiura*, talora abnormi nella morfologia ma tutte con i caratteristici tappi mucoidi alle estremità. La paziente veniva sottoposta immediatamente (anche se dal giorno di esecuzione del PAP-test erano passate alcune settimane) ad esame copro-parassitologico (metodica di concentrazione in formolo-etere su 5 campioni di feci raccolti a di alterni) con esito negativo. Il trattamento con mebendazolo (Vermox<sup>®</sup>, Janssen-Cilag) impiegato al dosaggio di 100 mg die è stato eseguito per 3 giorni. L'esame citologico della cervice uterina e l'esame copro-parassitologico ripetuti successivamente hanno mostrato esito negativo.

*Discussione e Conclusioni.* Sebbene in letteratura siano state descritte infestazioni cervico-vaginali sostenute da vari nematodi (soprattutto *Enterobius vermicularis* ed *Ascaris lumbricoides*) la presenza di uova di *Trichuris trichiura* in un campione citologico della cervice uterina rappresenta un evento particolarmente raro. Questo nostro ritrovamento mostra, ancora una volta, quanto sia utile l'esame citologico cervico-vaginale nella diagnosi di infestazioni causate da parassiti in donne asintomatiche.

## URETRITE NON-GONOCOCCICA DA HAEMOPHILUS INFLUENZAE SIEROTIPO B: DESCRIZIONE DI UN CASO CLINICO

D-13

**P. Fazzi, F. Pistola, A. Pelatti, E. Colagrande, L. Cosentino, M. Stella, M.C. Gattone**

U.O.C. di Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia - P.O. "Spirito Santo" - Pescara

*Introduzione.* Le uretriti sono infezioni a prevalente trasmissione sessuale ad eziologia specifica, uretriti gonococciche, o aspecifica, uretriti non gonococciche (NGU). I principali microrganismi coinvolti nelle NGU sono *Chlamydia trachomatis* (11-43 %) e *Mycoplasma genitalium* (9-25 %). Altri patogeni in causa sono Adenovirus (2-4 %), *Trichomonas vaginalis* (1-20 %) e Herpes simplex virus (2-3 %). Questo report descrive un caso di NGU da *Haemophilus influenzae* sierotipo B biotipo IV pervenuto alla nostra osservazione.

*Caso clinico.* Nel mese di Novembre del 2007 giungeva alla nostra osservazione un uomo di 40 anni di Pescara, di professione avvocato, che presentava da alcuni giorni abbondante secrezione uretrale, fastidio uretrale, lieve disuria.

*Risultati.* Il secreto uretrale, francamente purulento, veniva raccolto per esami microbiologici. L'esame microscopico con colorazione di Gram evidenziava la presenza di numerosi leucociti polimorfonucleati per campo (x 1000) e nessun diplococco gram-negativo intracellulare. L'esame colturale, effettuato su terreni di coltura standard, in accordo con le linee guida internazionali, evidenziava, su Agar Cioccolato, dopo incubazione a 37 °C in CO<sub>2</sub> al 5-10 %, la presenza di colonie umide e grigiastre. L'osservazione microscopica delle stesse, colorate con la tecnica di Gram, evidenziava bacilli pleomorfi, gram negativi. Il test di identificazione utilizzando dischetti con il fattore V e X ed il test NH dell'API<sup>®</sup> (Biomérieux) permettevano l'identificazione e la biotipizzazione del ceppo che risultava *Haemophilus influenzae* sierotipo B biotipo IV. L'amplificazione genica per la ricerca del genoma di *Chlamydia trachomatis* eseguita con sistema COBAS AMPLICOR (Roche Diagnostics) risultava negativa. L'amplificazione genica per la ricerca del genoma di HSV 2 eseguita con sistema LightCycler (Roche Diagnostics) risultava negativa. La ricerca dei micoplasmi urogenitali eseguita con sistema *Mycoplasma* IST 2 (Biomérieux) risultava negativa. La terapia, impostata precocemente in base ai risultati degli esami microbiologici, con amoxicillina/acido clavulanico (Augmentin, Smithkline Beecham) 1000 mg x 2 die per 10 giorni, ha permesso la completa risoluzione del quadro clinico.

*Discussione e Conclusioni.* Sebbene *Haemophilus influenzae* sia considerato un possibile agente eziologico di NGU, in letteratura sono poche le segnalazioni. In accordo con A.K. Ditzen e P. Spornraft-Ragaller (*Haemophilus influenzae*: Relevant Erreger für Harnwegsinfektionen? Hautarzt 2006 – 57:622-624) riteniamo che la prevalenza di *Haemophilus influenzae* nelle NGU sia sottostimata.

**IL LABORATORIO NELLA DIAGNOSI PRECOCE DELLE SEPSI****D-14****A. Conti, D. Piccoli, S. Gaino, G. Saccani, M. Caputo**

Laboratorio Analisi e Microbiologia, AUSL 22 Veneto, Bussolengo

*Scopo del lavoro:* L'isolamento culturale dei microrganismi dal sangue è indispensabile per la diagnosi di laboratorio di batteriemia, endocardite infettiva e molte altre patologie infettive associate ad una condizione clinica di febbre di origine ignota. Abbiamo cercato di migliorare il Turn Around Time Terapeutico (TTAT) rivedendo l'organizzazione e la gestione delle procedure analitiche, le fasce orarie di presenza medica nel settore, il flusso di lavoro e il protocollo di comunicazione dei risultati.

*Materiali e metodi:* Il segnale di positività del flacone innesca l'intervento del tecnico in guardia attiva (24/7) che provvede ad allestire un preparato GRAM e la semina sui terreni di coltura. Il Medico in turno di Pronta Disponibilità h24 valuta il preparato, dispone eventuali test diretti da flacone e contatta il reparto di provenienza per la comunicazione dei morfotipi rilevati e per acquisire informazioni cliniche. Il tecnico ed il Medico compilano una scheda di rilevazione di emocoltura positiva, nei campi di competenza, in cui vengono registrati: ID di Tecnico e Medico, data e ora della chiamata del Medico di Laboratorio, risultato del GRAM; data, ora della comunicazione al Reparto; ID dell'interlocutore chiamato; test diretti disposti. Test diretti da flacone: Coagulasi- MRSA CHROM (Stafilococchi) - Identificazione ed Antibiogramma diretti su VITEK 2.

*Risultati:* Nel periodo Gennaio–Agosto 2008 sono state eseguite 837 emocolture di cui 102 (12%) positive. I test diretti sono stati attivati solo per bacilli Gram negativi e cocci Gram positivi. Escludendo gli isolati replicati, sono stati identificati 16 bacilli Gram negativi e 37 cocci Gram positivi. Il tempo medio di risposta completa dalla positivizzazione del flacone è stato di 18 h per i Gram negativi e 32 h per i Gram positivi. La media del tempo trascorso tra la positivizzazione del flacone e la comunicazione del morfotipo al clinico da parte del Medico di Laboratorio è stato di 50'. La coerenza fra il morfotipo comunicato ed il microrganismo isolato è stata del 98%. Il confronto fra antibiogramma diretto e convenzionale ha mostrato in tutto 5 errori minori e 2 errori maggiori su 53 eseguiti in doppio e su un totale di 636 molecole antibiotiche testate.

*Conclusioni:* Ogni giorno perso per giungere alla diagnosi eziologica di sepsi e per valutare la sensibilità dell'isolato agli antimicrobici aumenta di 1-2 volte la probabilità di decesso del paziente. Il processo dei flaconi positivi 24/7, le procedure analitiche aggressive (test diretti) ed il coinvolgimento del Medico di Laboratorio h24 hanno ridotto i tempi di risposta delle emocolture mettendo a disposizione dei clinici dati microbiologici attendibili ed una eventuale consulenza per un approccio assistenziale ottimale.

**CASA DI RIPOSO-OSPEDALE: IL CIRCOLO VIZIOSO DEI BATTERI RESISTENTI****D-15****C. Mazzi, A. Conti, D. Piccoli, M. Caputo**

Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologia, AUSL22 Veneto, Bussolengo (VR)

*Scopo del lavoro:* Le ESBL ( $\beta$  lattamasi a spettro esteso) sono enzimi prodotti dai batteri Gram negativi che idrolizzano tutte le  $\beta$ -lattamine, comprese le Cefalosporine di III e IV generazione e rappresentano un meccanismo di difesa che si trasmette attraverso plasmidi. Questi batteri, per il loro fenotipo di resistenza e per la modalità di diffusione orizzontale, rappresentano una delle cause più frequenti di infezione nosocomiale. Abbiamo voluto valutare la prevalenza di infezioni da E. coli ESBL+ valutando la frequenza di isolati su campioni di urine provenienti da pazienti transitati in Residenze Sanitarie assistite (RSA) prima di essere ricoverati in uno dei nostri ospedali.

*Materiali e metodi:* Abbiamo rivisto la casistica dal 31.07. al 31.08.2008. Lo studio ha interessato 12 RSA e 3 reparti ospedalieri (Medicina e Geriatria a Bussolengo, Medicina a Isola d/S). Campioni utilizzati: urine con carica batterica > 105 Ufc/mL; isolato: E.coli, notoriamente il microrganismo di gran lunga più frequentemente isolato nelle urine. L'identificazione batterica è stata eseguita con Card Vitek 2 GN e l'antibiogramma con Card Vitek 2 AST-GN13 (Biomerieux Italia Spa)

*Risultati:* Nelle RSA sono stati isolati in totale 205 ceppi di E.coli di cui 86 (42%) ESBL+. Nei Reparti ospedalieri sono stati isolati in totale 167 E.coli di cui 29 (17%) ESBL+. Gli ESBL+ delle RSA, esclusi i replicati, sono stati attribuiti a 59 pazienti. Di questi 59, il 63% (37 pazienti) non è stato ricoverato in reparti ospedalieri nel periodo considerato, mentre il 37% (22 pazienti) ha avuto almeno una degenza. In 9/22 di questi (41%) si è isolato ancora un E.coli ESBL+ dalle urine raccolte nei giorni di ricovero, mentre per i rimanenti 13 non è mai stato richiesto un esame culturale durante la degenza.

*Discussione:* Con l'emergenza dei ceppi multiresistenti, molte delle armi tradizionali dell'arsenale medico risultano spuntate: ci si trova ad affrontare infezioni che rispondono solo a farmaci costosi o tossici o per le quali non vi è terapia efficace. Una frazione importante dei germi multiresistenti è rappresentata dai produttori di ESBL. Un serbatoio fondamentale sono le comunità con numerosi residenti in modo permanente come, tipicamente, le RSA. Questi dati preliminari confermano la necessità e l'urgenza di implementare e mantenere un buon livello di sorveglianza microbiologica sui pazienti che, data l'età e le polipatologie, migrano frequentemente verso reparti ospedalieri favorendo la diffusione di queste potenziali bombe biologiche. Il Laboratorio di microbiologia deve svolgere un ruolo attivo nel monitorare gli isolati da campioni clinici per promuovere e mantenere in uso procedure efficaci di prevenzione e contenimento delle infezioni nosocomiali.

## LETTURA AUTOMATIZZATA DEL SEDIMENTO URINARIO PER LO SCREENING DI INFEZIONE URINARIA

D-16

**D. Poz, P. Metus, P. Cappelletti**

Patologia Clinica, DML, AOSMA Pordenone

*Premessa.* L'iQ 200 IRIS™ è un sistema automatico di analisi del sedimento urinario in microscopia intelligente.

*Scopo del lavoro* è valutare i dati forniti dallo strumento (batteri, globuli bianchi e allarme quantitativo definito come "piccole particelle") al fine di uno screening infettivologico, in riferimento al citofluorimetro Sismex UF100.

*Materiali e metodi.* In 7615 pazienti consecutivi con contestuale esame delle urine e urinocoltura, le relazioni urinocoltura pos/neg - numero di piccole particelle e urinocoltura pos/neg - numero di leucociti sono state elaborate statisticamente mediante l'applicativo Analyse-it. Sono stati applicati diversi cut-off per dicotomizzare le variabili quantitative (leucociti e "piccole particelle") e calcolate le efficienze dei test come screening per urinocoltura positiva. Selezionati i cut-off migliori, le due variabili quantitative, leucociti e "piccole particelle", sono state sommate secondo logica "OR" e logica "AND" per verificare un eventuale aumento dell'efficienza del test. È stato inoltre verificato il grado di concordanza tra presenza o assenza di batteriuria espressa come giudizio dall'operatore in sede di analisi dell'urina e l'esito dell'urinocoltura.

*Risultati.* La relazione tra le variabili "urinocoltura" e "piccole particelle" con un cut-off di piccole particelle n=5000 (il migliore tra quelli provati: 1000-10000) dimostra sensibilità 63%, specificità 93,1%, valore predittivo positivo (PPV) 83%, valore predittivo negativo (NPV) 82,5% e efficienza 82,6%. La relazione tra le variabili "urinocoltura" e "leucociti" con un cut-off di leucociti n=25 (il migliore tra quelli provati: 5-35) dimostra sensibilità 59,7%, specificità 93,4%, PPV 82,9%, NPV 81,2% e efficienza 81,7%. La relazione tra le variabili "urinocoltura" e "particelle OR leucociti" registra sensibilità 79,3%, specificità 86,9%, PPV 76,4%, NPV 88,7% e efficienza 84,3%. La relazione tra le variabili "urinocoltura" e "particelle AND leucociti" registra sensibilità 44,1%, specificità 99,0%, PPV 96,1%, NPV 79,8% e efficienza 79,9%. La concordanza tra il giudizio sulla presenza o assenza di batteriuria espresso dall'operatore e il risultato dell'urinocoltura (Kappa-test) fornisce un valore di 0,61. La concordanza tra positività e negatività dell'urinocoltura e quella che deriverebbe dal giudizio fornito dallo screening "particelle OR leucociti" (Kappa-test) fornisce un valore di 0,66.

*Discussione e conclusioni.* L'utilizzo di semplici parametri ottenuti da IQ 200 consente di ottenere un ottimo PPV ma un insufficiente NPV a fini di screening infettivologico. È necessario approfondire le formule di interrelazione dei dati strumentali. Il confronto fra metodi di screening infettivologico fornisce una concordanza non adeguata.

## UN CASO DI SEPSI DA *HISTOPLASMA CAPSULATUM*

D-17

**G. Bertiato, E. Modolo, M. Battistel, L. Cimarosto<sup>o</sup>, R. Schiavon, A. Tessari, V. Vincenzi<sup>o</sup>, F. Tremolada<sup>o</sup>**

Laboratorio Analisi e di Microbiologia, <sup>o</sup>Medicina, Ospedale "San Martino" di Belluno

*H. capsulatum* è un fungo dimorfo diffuso in tutto il mondo, endemico negli USA. L'habitat naturale è il suolo, in campi aperti, nei parchi e in vecchi edifici, particolarmente contaminato da deiezioni di galline, uccelli e pipistrelli. La spora trasportata dall'aria si deposita negli alveoli con diffusione ai linfonodi regionali. Per disseminazione ematogena si sviluppano focolai metastatici in fegato, milza e altri organi. Si sviluppa una immunità cellulomediata con formazione nelle sedi di infezione di granulomi, con o senza necrosi caseosa. L'infezione primaria è spesso asintomatica. L'istoplasmosi disseminata è una rara malattia cronica, progressiva, insorge in presenza di anomalie dell'immunità cellulo-mediata, in associazione con malattie oncoematologiche, come linfomi e leucemie, cancro, LES, sarcoidosi e in soggetti in terapia corticosteroidica e immunosoppressiva.

*Caso clinico.* Nel 2005 in un uomo di 34 anni, con linfadenomegalie al mediastino, sopraclavari, addominali, epitrocleari, inguinali, la biopsia di un linfonodo inguinale evidenziava un quadro di linfadenite granulomatosa non caseosa compatibile con sarcoidosi. Nel marzo 2008, dopo un soggiorno in Messico, compariva iperpiressia (ripetute puntate febbrili precedute da brivido) associata a compromissione delle condizioni generali e artromialgie diffuse. Una laparoscopia esplorativa con prelievi di linfonodi addominali escludeva problemi ematologici ma evidenziava la presenza di inclusi cellulari di possibile natura fungina, confermata dalla positività anticorpali per *H. capsulatum*.

*Materiali e metodi.* Due set di emocolture (aero, anaero e mycosis) vennero incubate a 35°C in Bactec 9240 BD, e a 25°C. *Risultati.* Positività del flacone per miceti a temperatura ambiente dopo tre settimane. In coltura a 25°C la muffa è cresciuta lentamente, con un evidente micelio aereo fioccoso, dapprima bianco poi sempre più scuro sino a bruno-nerastro; pigmento circoscritto ai conidi; ife sottili e settate; microconidi sferici o piriformi, lisci, di diametro di 2-6 mm, sessili e peduncolati per brevi conidiofori. Caratteristica la presenza all'esame microscopico di macroaleuriospore tubercolate (2-25 mm di diametro) dalla spessa parete provvista di proiezioni lunghe anche alcuni micron. Il loro reperto non trova riscontro diagnostico per nessun altro micete patogeno.

*Conclusioni.* L'incremento di segnalazioni di queste micosi in Europa e nel nostro Paese risulta chiaramente condizionato dallo straordinario sviluppo delle comunicazioni intercontinentali: ogni anno centinaia di migliaia di persone senza saperlo si infettano con *H. capsulatum*. Doveroso, pertanto, richiamare l'attenzione sui diversi aspetti diagnostici e clinici di questa patologia.



## A NEW APPROACH TO THE OCCULT BLOOD TEST FOR DIAGNOSIS AND SCREENING OF ADULT POPULATION

E-01

**A. Caleffi, M. Mercadanti, C. Monica**

U.O Diagnostica Ematochimica - Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliero Universitaria di Parma

*Aims:* The screening programmes for the prevention of Colon Rectum Cancer have created a heavy increase in occult blood tests. The purpose of the study is to assess our methodology of analysis, setting a correct report for diagnosis that could suggest the possibility to continue the research, moreover to discuss about some new perspective after introduction of automation for this test.

*Materials and methods:* Since september 2007 we used an immunological method with oligoclonal antibodies against human haemoglobin in faeces (OC Sensor Micro-Alfa Wassermann) to discover occult blood. The workload is about 150 samples/day. The study was carried out to verify the results produced in one week to know the new methodology.

*Results:* We actually establish Positive cut off  $\Rightarrow$  100 ng/ml; Negative  $<$  49 ng/ml and Grey Area (50-99 ng/ml). The patients examined were 282: 125 male (44,3 %), 157 female (55,7%), years range 17-93 (the most frequent range value 50-75 years). Positive patients were 53 (18,7%), negative 210 (74,6%), doubt 19 (6,7%). Number of samples were 507: 82 positive, 411 negative, 25 doubt. The most frequent group of patients has 3 samples, in the second place a group with only one sample (diagnosis or follow up).

*Discussion:* We verified that patients with 3 samples, with almost one positive, have often the other two in a range value of 50-99. What interpretation we can give in the case of a single sample with doubt result? We write in the final report the same cut off of Regional Screening Program but also a grey zone for symptomatic patients. We suggest to continue in clinical research. We are waiting for a new more appropriated cut off and new indication from Health Regional System to examine at least two samples also for screening program.

*Conclusion:* We are interested having much more informations about the doubt values. We think that clinical pathologists today have to use immunological test in automation for occult blood and the report have to differentiate if screening or diagnosis. We believe it is correct to have at least three samples every patients and now is the moment to use new and more specific markers in case of positive or doubt occult blood results.

1-M.Plebani, D. Basso "Old and new markers for colo-rectal cancer: from diagnosis to prognosis. RiMeL/IJLaM 2008;4

## LA DETERMINAZIONE DI PSA (TOTALE E LIBERO) SU Dimension® RxL E SU ADVIA Centaur® XP NELL'AMBITO DELLA VALUTAZIONE DI IDONEITA' ALLA DONAZIONE DI ORGANI

E-02

**C. Cocco, M. Bertolani, A. Massocco, N. Melloni, L. Lipa, B. Caruso, C. Lo Cascio, P. Rizzotti**

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

*Scopo del lavoro:* Gli esami urgenti in un Laboratorio di un Ospedale in cui è prevista l'attività di trapianto d'organi prevede l'esecuzione anche del PSA (totale e libero). Le linee guida nazionali (G.U. n.297 del 23-12-2003) per l'accertamento della idoneità del donatore raccomandano la determinazione del PSA totale e del rapporto PSA libero/ totale in maschi  $>$  50 anni. Il prelievo di organi è consentito per valori di PSA totale  $<$  4  $\mu$ g/L, per valori più elevati ed  $<$  10  $\mu$ g/L il valore del rapporto PSA libero/ totale deve essere  $>$  25%. In questa ottica è stato eseguito un confronto fra i risultati ottenuti sulla strumentazione dedicata alle urgenze rispetto alla routine.

*Materiali e metodi:* 62 campioni di siero di pazienti con età media di 65 anni (51-84 anni) provenienti dalla routine sono stati processati nella stessa giornata con i due metodi. Il confronto è stato effettuato fra PSA totale, PSA libero e rapporto PSA libero/totale ottenuti con Dimension® RxL (Y) dedicato all'urgenza e ADVIA Centaur® XP (X) dedicato alla routine e in cui il PSA libero è ottenuto per calcolo (PSAt - PSAComplessato).

*Risultati:* L'analisi statistica utilizzando Analyse-it® evidenzia quanto segue: PSA totale:  $Y=1.715x-1.69$ ,  $R^2=0.972$ ; PSA libero:  $Y=0.858x-0.013$ ,  $R^2=0.996$ . Rapporto PSA libero/ totale:  $Y=0.703x+0.02$ ,  $R^2=0.875$ . Con ADVIA Centaur® XP il PSA totale (media,  $\mu$ g/L) = 4.30, mediana = 2.83. Il PSA libero (media,  $\mu$ g/L) = 1.23, mediana = 0.60. Il rapporto PSA libero/ totale (media, %) = 26.8, mediana = 25.4. Con Dimension® RxL il PSA totale (media,  $\mu$ g/L) = 5.69, mediana = 3.34; PSA libero (media,  $\mu$ g/L) = 1.06, mediana = 0.53. Il Rapporto PSA libero/ totale (media, %) = 18.9, mediana = 17. Il diagramma di Bland Altman evidenzia per il PSA totale un bias compreso fra 0.19 e 2.58; per il PSA libero un bias compreso fra -0.27 a -0.07 e per PSA libero/totale un bias compreso fra -9.20 e -6.70. Considerando i pazienti con valori  $<$  4  $\mu$ g/L, i pazienti classificati come idonei sarebbero risultati  $n=47$  (75%) con ADVIA® Centaur XP e  $n=42$  (67%) con Dimension® RxL. Considerando i pazienti con PSA compreso nell'intervallo 4-10  $\mu$ g/L e il rapporto PSA libero/totale  $>$ 25% ( $n=11$ ), i potenziali donatori sarebbero stati ritenuti idonei in 5 casi con ADVIA Centaur® XP e in 1 caso con Dimension® RxL.

*Discussione e Conclusioni:* I risultati ottenuti dimostrano una differenza intermetodo significativa e pertanto l'impossibilità di utilizzo, anche se limitato, dei due metodi in uno stesso Laboratorio; evidenziano inoltre la necessità di aggiornare i criteri relativi alla valutazione biochimica riportati nella normativa ufficiale.

### RIORGANIZZAZIONE DI UN'AREA SPECIALISTICA (ENDOCRINOLOGIA E INDICATORI DI NEOPLASIA) DEL LABORATORIO: MIGLIORAMENTO DEI TEMPI DI REFERTAZIONE (TAT) E DELL'UTILIZZO CLINICO DEGLI ESAMI

E-03

**N. Melloni, L. Lipa, M. Rocca, D. Nicolis, A. Ferrari, B. Caruso, C. Cocco, P. Rizzotti**

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

*Scopo del lavoro:* Si è voluto analizzare il percorso di implementazione di nuovi sistemi diagnostici effettuato nel settore di Endocrinologia e Indicatori di Neoplasia (EINA) allo scopo di evidenziare i miglioramenti attesi nell'ambito dei tempi di refertazione e dell'utilizzo clinico.

*Materiali e Metodi:* Il settore EINA esegue i seguenti esami/anno per patologia: Tiroide: 56.000, Fertilità e Infertilità: 15000. Metabolismo e Anemia: 42.000, Surrene e Ipertensione: 5400, Indicatori di Neoplasia (IN): 54.000. La precedente organizzazione prevedeva 6 Analizzatori "stand-alone"; 2 Analizzatori Siemens ADVIA Centaur (40% degli esami/settimana), 2 Analizzatori DiaSorin Liaison (30% degli esami/settimana) e 2 Analizzatori Medical Systems Immulite (25% degli esami/settimana). Il rimanente 5% degli esami con tecniche RIA. In seguito all'aggiudicazione di gara del novembre 2007 è stata prevista l'implementazione di una catena analitica ADVIA LabCell in grado di eseguire circa 70% degli esami in giornata. Sono stati mantenuti 2 Liaison (23% degli esami/settimana) e 1 Immulite (2% degli esami/settimana). Nell'arco di 5 mesi (da novembre 2007 a marzo 2008) durante l'installazione sono state effettuate prove comparative che hanno riguardato 25 esami (NCCLS EP9/A2). Per la valutazione del TAT si sono confrontati i tempi di refertazione nelle due diverse organizzazioni, per 2 analiti ritenuti significativi in base al numero delle richieste: TSH e PSA.

*Risultati:* Dal confronto metodi si è ottenuto una verifica degli I.R. per: CEA, CA 15-3, CA 125, PSA, TG, IGF1. Per 2 analiti, PSA e TG, il cambiamento ha permesso un approfondimento con i clinici e l'identificazione di nuovi valori decisionali. L'ottimizzazione delle risorse umane ha portato ad un miglioramento dei tempi di refertazione. Per quanto riguarda la valutazione del TAT si è rilevato quanto segue: la mediana del TSH rilevata con la nuova organizzazione è risultata di 303 min rispetto a 347 min della precedente (- 44 min); la mediana del PSA rilevata con la nuova organizzazione è risultata di 307 min rispetto a 387 min della precedente (- 80 min). Il vantaggio è molto evidente con gli IN in cui il 90% delle determinazioni di PSA, CEA, AFP, CA 125, CA 15-3, CA 19-9 risulta disponibile per la validazione alle h.13.

*Discussione e Conclusioni:* L'innovazione tecnologica migliora senza dubbio la fase analitica ma il suo effetto è anche quello di indurre il miglioramento di tutti gli aspetti organizzativi che riguardano sia la fase preanalitica che postanalitica.

### THE CUT-OFF POINT OF FECAL OCCULT BLOOD TEST OF OC-SENSOR $\mu$ AUTOMATED ANALYZER

E-04

**M. Rosetti, L. Ricotti, M. Foschi, C. Strocchi, R. Dorizzi**

Dipartimento dei Servizi, U.O. Laboratorio Analisi Ospedale Morgagni-Pierantoni, Azienda Unità Sanitaria Locale di Forlì, Italy

*Objectives:* Screening by faecal occult blood testing (FOBT) has been shown to be effective in reducing colorectal cancer (CRC) mortality and population-based screening is currently recommended by the European Community and is under implementation in several countries, including Italy. Automated FOBT using immunoassay with 100 ng/ml haemoglobin (Hb) cutoff is currently employed in the Emilia Romagna project of colon cancer screening. This study is carried out to assess the optimum cut-off point yielding the highest sensitivity and effectiveness.

*Methods:* We used an automated FOBT immuno-analyzer, OC-Sensor  $\mu$  (Alfa Wassermann, Milan, Italy) and a method based on the flocculation reaction between human HbA and multiple monoclonal anti-HbA latex-adsorbed antibodies. HbA concentration was measured by reading flocculation as an optical change of absorbance at 660 nm. Positive FOBT results were assessed with colonoscopy and high risk adenoma was diagnosed when more than two adenomas or of at least one adenoma larger than 9 mm/presenting with severe dysplasia or with a villous/tubulovillous pattern was found.

*Results:* 68 (5.2%) out of the 1,300 screened subjects were positive and underwent colonoscopy: the diagnosis was cancer in 4 (5.9%); high risk adenomas in 33 (48.5%) and negative in 17 (25%). Sensitivity and specificity (low and high risk adenomas and cancers) were 90.2% and 99%, 66.7% and 99.2%, 51 and 99.6% at the cut-off of 137 ng/ml, 200 ng/ml and 416 ng/ml, respectively. Sensitivity and specificity (only high risk adenomas and cancer) were 70.3% and 98.0%, 67.6% and 98.3%, 54.1% and 98.7% at the cut-off of 177 ng/ml, 208 ng/ml and 348 ng/ml, respectively.

*Conclusions:* Since most colon cancers are primary adenocarcinomas, according to our data the 137 ng/ml is the optimal cut-off level, yielding high sensitivity, specificity and likelihood ratio (92.25); the sensitivity at higher cut-off is unsatisfactory for a screening test.

*References:* Nakama H et al, 2001; Castiglione et al, 2002; Rubeca T et al, 2006.

## SENSIBILITÀ DI METANEFRINA E NOR-METANEFRINA NELLA DIAGNOSI BIOCHIMICA DI FEOCROMOCITOMA

E-05

**A. Fortunato, C. Marchetti, L. Zanuso, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" - Vicenza

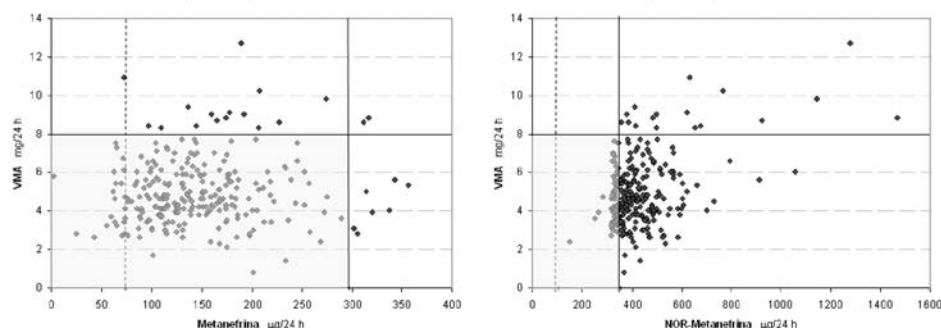
**Introduzione:** la letteratura (Lenders, JAMA 2002) indica la determinazione delle metanefrine come parametro con maggiore sensibilità (fino al 97%) nella diagnostica del feocromocitoma. La misura dell'acido Vanilmandelico (VMA), come esame di conferma in seguito al riscontro positivo di almeno una delle metanefrine, porta la specificità della diagnosi biochimica fino al 99%.

**Scopo del lavoro:** valutazione dei risultati ottenuti nel nostro Laboratorio, per evidenziare differenze di sensibilità tra le determinazioni di Metanefrina e NOR-Metanefrina.

**Materiali e Metodi:** sono stati considerati i risultati ottenuti in 1063 pazienti, 586 donne (età media di 51,4 anni; range 0-90) e 477 uomini (età media di 47,4 anni; range 0-92). Tutte le determinazioni sono state effettuate con metodo HPLC (Bio-Rad, Milano).

**Risultati:** 880 pazienti (82,8%) sono risultati negativi per entrambi i parametri, 7 (0,7%) positivi per entrambi, 1 (0,1%) positivo solo per Metanefrina e 175 (16,5%) positivo solo per Nor-metanefrina. Tra i positivi 19 (7,1%) sono stati confermati dal VMA.

**Conclusioni:** la determinazione della NOR-Metanefrina risulta decisamente molto più sensibile della Metanefrina nella individuazione dei casi successivamente risultati positivi alla determinazione del VMA.



## PARAMETRI LABORATORISTICI IN TRE CASI DI INTOSSICAZIONE DA MONOSSIDO DI CARBONIO

E-06

**M. Daves<sup>1</sup>, G. Sacco<sup>2</sup>, R. Cemin<sup>3</sup>, G. Cosio<sup>1</sup>, F. Rizza<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio di Biochimica Clinica, <sup>2</sup>Pronto Soccorso e Astanteria, <sup>3</sup>Divisione di Cardiologia, Azienda Sanitaria dell'Alto Adige, Comprensorio Sanitario di Bolzano.

**Scopo del lavoro:** L'intossicazione da monossido di carbonio (CO) rappresenta una emergenza. Il paziente intossicato può manifestare una sintomatologia di tipo neurologico, gastroenterica e cardiologica. Riportiamo il comportamento di marcatori di danno cardiaco in tre casi di intossicazione da CO.

**Materiali e metodi:** giungono in PS tre pazienti, madre di anni 46, figlia di anni 23 e fidanzato di anni 22 per intossicazione acuta da CO dovuta a malfunzionamento di una stufa a gas presente nell'abitazione. Durante il trasporto in ambulanza viene loro somministrato ossigeno terapia (10 litri/minuto). La madre presenta cefalea, nausea, vomito e leggero stato confusionale, il ragazzo esclusivamente cefalea, mentre la figlia, che ha trascorso maggior tempo in casa, lamenta, dopo un episodio sincopale, nausea, vomito e cefalea. Vengono eseguiti all'ingresso emogasanalisi (ABL 725, Radiometer) con valori di carbossiemoglobina (COHb) rispettivamente di 36.5%, 31.8% e 23.3%. Eseguiamo la determinazione di troponina I (Access 2, Beckman Coulter) che risultano rispettivamente di 0.06 ng/ml, 0.00 ng/ml e 0.05 ng/ml. Gli ECG non riportano alterazioni significative. Dopo 5 ore vengono ripetute le determinazioni della troponina che per la madre risulta di 0.30 ng/ml, la figlia 0.33 ng/ml e il ragazzo 0.04 ng/ml. In seconda giornata viene ridosata la troponina e viene dosato il BNP (Triage BNP Biosite): la madre presenta una troponina di 0.42 ng/ml con un BNP di 244 pg/ml, la figlia troponina di 0.28 ng/ml e BNP di 107 pg/ml mentre il ragazzo presenta una troponina di 0.04 ng/ml e un BNP di 82 pg/ml. Vengono eseguiti gli ecocardiogrammi che non evidenziano alterazioni patologiche. Vengono eseguiti test neuropsicologici che risultano nella norma. I pazienti sono stati trattati con ossigeno terapia iperbarica e dimessi asintomatici in terza giornata.

**Conclusioni:** interessante in questi casi risulta il comportamento dei marcatori di danno cardiaco. A differenza dei valori della COHb che non mostrano relazione con la sintomatologia, in parte spiegabile anche con la precoce ossigeno terapia instaurata già dal personale del 118, la troponina risulta essere più elevata nelle due donne che presentano sintomi all'ingresso più gravi. Stesso discorso per il BNP che può essere interpretato come danno funzionale cardiaco e evidenzia una correlazione alla maggiore sintomatologia presentata dalle due donne. Anche se sarebbe necessario una casistica maggiore sembrerebbe essere utile la determinazione seriatà di tali marcatori che presentano una buona correlazione con la gravità dell'intossicazione anche in assenza di sintomi cardiologici.

## I VALORI PLASMATICI DI NT-PROBNP POSSONO PREDIRE LA SEVERITÀ ED ESTENSIONE DELLA CORONAROPATIA IN PAZIENTI CON SINDROME CORONARICA ACUTA NON-ST ELEVATO?

E-07

**M. Schinella<sup>1</sup>, V. Curci<sup>1</sup>, D. Armotti<sup>1</sup>, A. De Angeli<sup>1</sup>, R. Maffei<sup>1</sup>, G. Peterlini<sup>1</sup>, G. Vergara<sup>2</sup>, F. Imperadore<sup>2</sup>, G. Musuraca<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>U.O. Patologia Clinica-Dipartimento di Medicina di Laboratorio <sup>2</sup>U.O. Cardiologia Ospedale S. Maria del Carmine Rovereto-A.P.S.S. Trento.

**Introduzione:** Scopo del nostro lavoro è stato quello di stabilire il valore diagnostico dell'NTproBNP in rapporto ad altri markers biochimici nel predire la severità ed estensione della coronaropatia in pazienti con sindrome coronarica acuta non-ST elevato (SCA-NSTE).

**Materiali e Metodi:** 67 pazienti dei quali 19 accolti con diagnosi di angina instabile (gruppo A) e 48 con diagnosi infarto miocardico non-ST elevato (gruppo B) sono stati oggetto dello studio. In tutti i pazienti veniva dosata la troponina T, la proteina C reattiva e l'NTproBNP. Veniva rilevata la concentrazione plasmatica di picco della troponina T. I pazienti sono stati sottoposti a indagine coronarografica durante il ricovero. Una stenosi coronarica >50% è stata considerata significativa.

**Risultati:** I pazienti del gruppo A avevano minore elevazione del NT-proBNP rispetto ai pazienti del gruppo B (243 versus 1481 pg/mL) e non vi era una differenza significativa per i valori di PCR (10 versus 8.1 mg/L)

**Discussione:** L'analisi dei valori di NT-proBNP nel gruppo A in rapporto alla estensione della coronaropatia, evidenziava un trend verso livelli più elevati nei pazienti con coronaropatia trivasale rispetto a quella bivasale e monovasale (229,184,172 pg/mL rispettivamente). Era presente una significativa correlazione positiva tra valori di NT-proBNP e PCR nel sottogruppo dei trivasali. Pazienti con interessamento critico (stenosi > 75%) dell'arteria coronaria discendente anteriore presentavano valori più elevati di NT-proBNP rispetto a quelli con interessamento critico della arteria coronaria destra e dell'arteria circonflessa (239,88, pg/mL rispettivamente). Nel gruppo B, a parità di valori plasmatici di troponina T, l'analisi dei livelli di NT-proBNP evidenziava un trend verso valori più elevati nei pazienti con coronaropatia trivasale rispetto ai bivasali e monovasali (2597,551,450 pg/mL rispettivamente). Nei pazienti trivasali si confermava una correlazione positiva tra valori di NT-proBNP e PCR ed una correlazione negativa tra valori di NT-proBNP e frazione di eiezione. L'interessamento critico dell'arteria coronaria discendente anteriore confermava un trend verso valori più elevati di NT-proBNP rispetto alla arteria coronaria destra e alla arteria circonflessa (1653,1164, 478 pg/mL rispettivamente).

**Conclusioni:** Nelle SCA-NSTE elevati valori plasmatici di NTproBNP sono associati a una maggiore estensione della coronaropatia e dell'area ischemica a rischio e ciò potrebbe dare ragione della loro relazione con una prognosi avversa.

## PATHFAST MITSUBISHI: LA COMMUTABILITÀ DELLA MATRICE BIOLOGICA NELLA TnI IN URGENZA

E-08

**T. Zorzan, A. Tinello, M. Ercolin, V. Sartori, V. Cantarello, L. Fornasiero, I. Bountis, M. Turetta, F. Manoni**

Servizio Medicina di Laboratorio Este- Monselice Az. ULSS 17 Regione Veneto

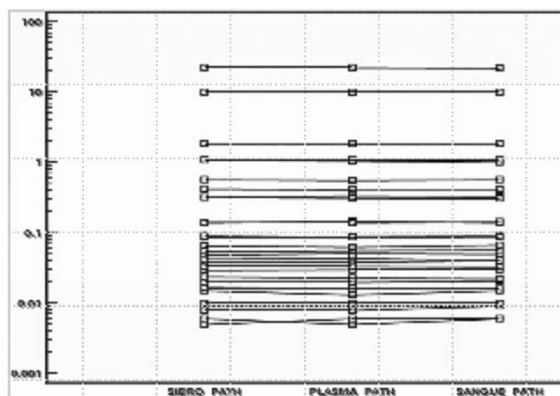
**Scopo:** La notevole importanza del TAT nell'urgenza per le richieste di TnI spiega il ricorso al plasma (LiEp) o, in POCT, al sangue intero (K3EDTA). L'uso di eparina o di EDTA non è però privo di interferenze. I contenuti innovativi del sistema diagnostico PATHFAST con TnI di III generazione ci hanno indotto a sperimentare la commutabilità della matrice biologica.

**Materiali e metodi:** Pathfast utilizza cartucce monotest in fase solida a sandwich. 30 pazienti di UTIC, Rianimazione, Medicina e Pronto soccorso, venivano prelevati in 3 provette: 1) senza additivo 2) con litio eparina 3) con K3 EDTA.

Su tutti è stata determinata la TnI con la metodica standard. Elaborazione statistica con test di Wilcoxon e regressione secondo Passing-Bablok.

**Risultati:** I risultati non mostrano influenza della matrice utilizzata rispetto al siero:  $p=0,47$  e  $p=0,50$ . La regressione lineare evidenzia: siero vs plasma  $y = 0.006327 + 0.9884 x$ ; siero vs sangue  $y = 0.00007823 + 1.0050 x$ . Il grafico evidenzia l'andamento del dosaggio nelle tre matrici considerate.

**Discussione e conclusione:** Pur nella ridotta casistica, è evidente la commutabilità delle matrici utilizzate tra siero, plasma o sangue intero con vantaggiosi riflessi sul TAT.



**PATHFAST GEPA TnI DI III GENERAZIONE: LA STESSA QUALITA' IN POCT E LABORATORIO CENTRALE**

**E-09**

**P. Hoffer, A. Tinello, M. Ercolin, M. Ferrari, E. Giraldo, V. Temporin, D. Cioetto, C. Vigato, G. Casarotto, F. Manoni**

Servizio Medicina di Laboratorio Este- Monselice Az. ULSS 17 Regione Veneto

*Scopo:* L'IFCC raccomanda un cut-off al 99° percentile della popolazione di riferimento con CV ≤ 10%. Tale indicazione è critica per molti sistemi diagnostici. Lo scopo di questo studio è valutare l'imprecisione a livelli prossimi il cut-off (0,030 ug/L) del sistema.

*Materiali e metodi:* Pathfast Mitsubishi-GEPA usa cartucce reagenti omnicomprehensive cTnI (metodo sandwich in chemiluminescenza) fornisce 6 risultati/17'. The PATHFAST assays are immunochemiluminescent assays (in single reagent cartridges) employing two mono- or polyclonal antibodies in a sandwich test format. Sono stati selezionati 11 pazienti con valori: negativi (0,001-0,020 ug/L); intorno al cut-off (0,021 - 0,039) e debolmente positivi (0,040 a 0,066 ug/L).

*Risultati:* Il test ha mostrato ottima sensibilità analitica (0.002 ng/ml) un profilo di imprecisione che supera le indicazioni IFCC: CV ≤ 5,1% (Tabella).

*Discussione e conclusioni:* Lo studio evidenzia una ottima performance di sensibilità e precisione per TnI che supera le indicazioni IFCC. La velocità e la facilità d'uso; la possibilità di analizzare diverse matrici con risultati sovrapponibili (dati in pubblicazione) con reagenti in cartucce "tutto in uno" senza apporti esterni, dimensioni ridotte, rendono Pathfast adatto a qualsiasi ambiente e sono ideali per l'urgenza sia in Laboratorio centrale che in POCT.

campioni	risposta	imprecisione							
		campioni selezionati ripetuti per cinque volte					media	ds	cv%
	PACHFAST	1 det.	2 det.	3 det.	4 det.	5 det.			
1	negativa valore di attenzione valore decisionale	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,00%
2		0,017	0,016	0,015	0,017	0,016	0,016	0,001	5,16%
3		0,020	0,020	0,019	0,020	0,021	0,020	0,001	3,54%
4		0,024	0,023	0,02	0,024	0,022	0,023	0,001	3,61%
5		0,029	0,030	0,03	0,029	0,030	0,029	0,001	1,86%
6		0,034	0,034	0,03	0,034	0,033	0,033	0,001	2,68%
7		0,039	0,039	0,04	0,039	0,040	0,039	0,001	1,81%
8		0,042	0,043	0,04	0,042	0,040	0,042	0,001	2,74%
9		0,049	0,051	0,050	0,049	0,050	0,050	0,001	1,66%
10		0,055	0,055	0,05	0,055	0,057	0,056	0,001	1,50%
11		0,066	0,063	0,07	0,066	0,067	0,065	0,002	2,32%

**GEM PREMIER IQM-IL: DAL SISTEMA QUALITA' ALLA RIDUZIONE DEL RISCHIO CLINICO**

**E-10**

**V. Temporin, A. Tinello, M. Ercolin, T. Zorzan, L. Fornasiero, V. Cantarello, M. Dalla Muta, P. Hoffer, V. Sartori, F. Manoni**

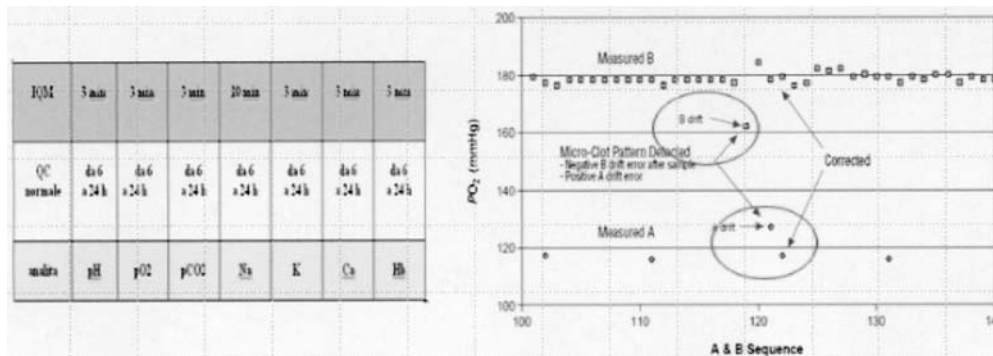
Servizio Medicina di Laboratorio Este-Monselice Az. ULSS 17 Regione Veneto

*Scopo:* Lo studio valuta l'emogasanalizzatore GEM nell'integrare un appropriato QC con la rilevazione delle non conformità (NC) per rispondere alle ISO 15189 e ridurre il rischio clinico.

*Materiali e Metodi:* GEM usa una cartuccia sigillata senza manutenzione, iQM automaticamente: valida l'integrità della cartuccia, identifica le variabili analitiche, intraprende azioni correttive (AC), documenta NC e AC intraprese, prepara elaborati QC. Abbiamo valutato 1 anno di attività.

*Risultati:* 121 correzioni in automatico: 71% microcoaguli, 19% interferenze/campione, 10% errori/controlli; 0 fermo strumento. La VIQ usa 2 soluzioni A e B. Il controllo A viene testato ~230 volte/mese. Valori rilevati ±DS: pH=6,9±0,01; PCO2 =64±3; PO2=120±3; Na=100±2; K=6.8±0,1; Ca++=2.7±0,05; Hct=25%±0.5; Il controllo B è testato ~2680/mese: pH=7,4±0,02; PCO2=34±2; PO2=175±6; Na=144±2; K=3,6±0,1; Ca++=1,20±0,05; Hct=11%±0.5. (fig. 1).

*Discussione e Conclusioni:* La funzione iQM sostituisce l'utilizzo di controlli di qualità convenzionali. Tale tecnologia con gestione globale della qualità garantisce rispetto e tracciabilità dei requisiti ISO 15189, garantendo l'attenta "gestione analitica del rischio clinico".



## CONTRIBUTO DELLE MODERNE TECNOLOGIE ALLO STUDIO DELLE PATOLOGIE RENALI: CASE REPORT

E-11

**E.R. Testa<sup>1</sup>, D. Guerri<sup>1</sup>, F. Torricelli<sup>1</sup>, R. Testa<sup>2</sup>, A.M. Cenci<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Lab. Analisi Centralizzato, Nuovo Osp. S. Agostino-Estense ASL Modena; <sup>2</sup>U.O. Medicina d'Urgenza ASL MO, Uni. Catania

*Scopo del lavoro:* Case report di insufficienza renale proliferativa grave che necessita diagnosi e terapia dialitica tempestive, con valutazione dell'efficienza diagnostica strumentale nell'esame chimico-fisico e del sedimento urinario automatizzati, in presenza di positività dei segni clinici. La rilevazione avviene presso il sett. Analisi Urine.

*Materiali e metodi:* esecuzione dell'Esame Urine mediante sistema AutionMAX AX-4280(A. Menarini, FI) per l'es. chimico-fisico ed IRIS iQ200TM(IL, MI) per il sedimento. Gli strumenti sono integrati con software gestionale Director (A. Menarini, FI). Per la revisione morfologica viene utilizzato un microscopio Olympus BX 41 ad ingrandimenti 200-400X. Il campione urinario da catetere afferriva al laboratorio con la routine.

*Risultati:* la paziente è una donna di 59aa, ricoverata presso il reparto di Medicina Int. con diagnosi d'ingresso di broncopneumonia in diabete II scompensato e fascite non necrotizzante con edema del moncone dell'arto inf. sx. Una insuff. renale ingravescente, viene diagnosticata in un secondo momento, supportata dal reperto microscopico non frequente, nel sedimento urinario, di cilindri cerei e di cilindri granulosi convoluti, segno di severa stasi nei tubuli renali, con riscontro, all'es. chimico-fisico di proteinuria 932mg/dl. Sulla base del reperto microscopico e della creatinemia di 5.6 mg/dl, la pz viene inviata a terapia dialitica. All'analisi strumentale del sedimento si manifesta una problematica di riconoscimento e classificazione dei cilindri granulosi convoluti e soprattutto dei cilindri misti cereo-granulari e dei cilindri cerei. Questi ultimi, a differenza dei cilindri ialini, sono costituiti da una sostanza diversa da Tamm-Horsfall protein, prodotta dalle cell. dell'ansa di Henle. Per la natura speciale legata alla necrosi fibrinoide, i cilindri cerei sono ritenuti predittivi di prognosi sfavorevole e soprattutto indicatori di danno glomerulare rapidamente progressivo, con raddoppio della creatinemia in meno di 3 mesi. La diversa matrice e le dimensioni potrebbero costituire, verosimilmente una difficoltà nel riconoscimento strumentale.

*Discussione e conclusioni:* La valutazione della congruenza di risultato dell'es. chimico-fisico con i dati clinici e la corrispondenza tra ritrovamenti/suggerimenti strumentali e revisione microscopica nel riconoscimento di elementi del sedimento urinario, risulta nel caso descritto essenziale per una corretta gestione del pz, con contributo del processo analitico alla qualità del risultato. Tre fattori ottimizzano ancora una soddisfacente risposta al quesito clinico: l'efficienza strumentale, una ipotesi diagnostiche a concreta e la conoscenza dell'Operatore, vista anche la non sempre completa specificità di risposta dei mezzi.

## LA VALUTAZIONE DELLA GFR MDIANTE FORMULA MDRD

E-12

**E. Vidano<sup>1</sup>, P. Belardi<sup>2</sup>, A. Ferrini<sup>1</sup>, F. Cantone<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>S.C. Patologia Clinica, <sup>2</sup>S.C. Nefrologia – Ivrea; <sup>3</sup>S.C. Lab. Analisi - Ciriè

*Scopi e obiettivi:* Gli scriventi si sono proposti di individuare un modello efficace di refertazione dell'e-GFR calcolata con MDRD. A tal fine, sono partiti da dati reali (creatinina sierica e Clearance Creatinica, (C.C.) misurati su pazienti provenienti dall'ambulatorio di Nefrologia dell'Ospedale di Ivrea ASL TO 4, e su campioni di volontari ospedalieri. Si è, inoltre, approfittato dell'occasione per mettere a confronto le prestazioni del metodo Jaffè e del metodo enzimatico per il dosaggio della creatinina, nella gestione della problematica in oggetto. Sui risultati si è condotta un'elaborazione finalizzata a mettere in evidenza la coerenza tra la stadiazione di IRC fornita da C.C. e quella fornita da e-GFR. In conseguenza di ciò, è poi stato ipotizzato un modello di refertazione per e-GFR.

*Metodologia:* Popolazione osservata: composta da 67 soggetti (52 da Nefrologia e 15 volontari). Test chimico clinici eseguiti: su tutti i campioni sierici ed urinari sono stati misurati: creatinina con metodo Jaffè IDMS tracciabile (Beckman) e con metodo enzimatico IDMS tracciabile (Roche). Sui campioni urinari sono state misurate le proteine (rosso di pirogallolo Beckman). Sono poi state calcolate le C.C., le proteinurie 24 h e le e-GFR.

*Elaborazione dei risultati.* I risultati dei pazienti sono stati divisi in 4 gruppi: normofunzione 1 (Jaffè): 22 elementi classificati clinicamente (nefrologo) con funzione renale integra. Ipofunzione 1 (Jaffè), 45 elementi classificati clinicamente come portatori di compromissione di vario grado della funzione renale. Normofunzione 2 (enzimatico): 22 elementi con funzione renale integra. Ipofunzione 2 (enzimatico): 45 elementi con funzione renale compromessa. Da ogni creatinina (Jaffè e enzimatica) è stata calcolata la e-GFR e desunto lo stadio di IRC conseguente alla C.C. e alla e-GFR, secondo i criteri NKDEP.

*Risultati:* Gruppo normof. 1 (Jaffè): la GFR viene sottostimata mediamente del 26% rispetto alla C.C., se calcolata con MDRD, il che si traduce in una stadiazione aggravata per il 55% dei soggetti (12 su 22) con una significatività statistica del 99%. Gruppo ipof. 1 (Jaffè): sottostima media del 19%; stadiazione aggravata per il 44% dei soggetti (20 su 45). Gruppo normof. 2 (enzim.): sottostima media del 17%; stadiazione aggravata per il 41% dei soggetti (9 su 22) con significatività statistica del 95%. Gruppo ipof. 2 (enzim.): sottostima media del 7%; stadiazione aggravata per il 31% dei soggetti (14 su 45).

*Conclusioni:* le misure con metodo enzim. sembrano garantire una migliore coerenza tra GFR misurato ed e-GFR MDRD. Non avendo a disposizione tale metodo, e verificato, che per il metodo Jaffè, la scelta di un cut-off per e-GFR di 60 ml/min non incrementa significativamente (5%) la sensibilità della misura della sola creatinina, si propone un cut-off di 90 ml/min (incremento del 55%), con la nota che e-GFR comprese tra 60 e 89 ml/min sono da considerarsi nella norma, in assenza di ulteriori evidenze di danno renale.

### ADMA (NG,NG,DIMETIL-L-ARGININA) PLASMATICA: UN PREDITTORE DI VARICI ESOFAGEE?

E-13

**R. Rolla, M. Sartori, A. Suno, C. Rizzo, M. Vidali, S. Adorno, G. Bellomo**

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche; Dipartimento di Patologia Clinica; Azienda Ospedaliera - Universitaria "Maggiore della Carità", Novara

*Scopo del lavoro:* L'ADMA è un inibitore endogeno della NO sintasi: i suoi livelli plasmatici risultano elevati nelle malattie correlate a disfunzione endoteliale, quali patologie coronariche, ipertensione venosa e arteriosa. Le varici esofagee (VE) sono la più frequente complicanza nell'ipertensione portale (IP) e il rischio di morte conseguente ad un episodio di emorragia da rottura di varici è elevato, stimabile intorno al 30-35%. Tuttavia le varici sono asintomatiche fino al momento della loro rottura. Nonostante il loro impatto clinico, i marcatori plasmatici attualmente impiegati hanno mostrato un basso potere nel predirne lo sviluppo. Sulla base dei dati presenti in letteratura, si è deciso di indagare se l'aumento dei livelli di ADMA plasmatico possa essere utilizzato nella pratica clinica e laboratoristica come predittore di VE in pazienti con IP.

*Materiali e Metodi:* Sono stati inclusi nello studio 75 pazienti (pz) non selezionati con cirrosi epatica di varia eziologia, sottoposti a gastroenteroscopia esplorativa. Dei pz reclutati, il 77% appartiene alla classe Child-Pugh A, il 23% alle classi Child-Pugh B e C; nel 71% dei pz sono state riscontrate VE. Per valutare la concentrazione plasmatica di ADMA, è stato utilizzato il kit ADMA Direct ELISA Kit della Immunodiagnostik.

*Risultati:* 42 pz dei 75 analizzati (56%) erano positivi ad ADMA (cut-off  $>0.5\mu\text{mol/L}$ ). Tra i parametri biochimici soltanto l'albumina mostrava una significativa correlazione ( $r=-0.231$ ,  $p=0.046$ ) con i livelli di ADMA. Una significativa correlazione ( $r=-0.254$ ,  $p=0.028$ ) era anche presente tra concentrazione sistemica di ADMA e Child-Pugh score. Inoltre i pazienti cirrotici appartenenti alle classi B-C presentavano sia livelli di ADMA plasmatico (Mann-Whitney  $p<0.001$ ) che frequenza di positività ad ADMA (Fisher's exact test  $p=0.014$ ) significativamente molto più elevati rispetto ai pazienti del gruppo A. Sebbene all'analisi univariata la positività ad ADMA risultasse associata in maniera significativa alla presenza di VE, l'analisi multivariata di regressione logistica ha evidenziato che soltanto lo stadio Child-Pugh è un predittore indipendente di varici. Infine all'analisi ROC il test-ADMA presentava una bassa specificità e sensibilità (51%; 69%) nell'identificare pz. con VE.

*Discussione e conclusioni:* Sebbene i livelli plasmatici di ADMA siano associati alla gravità dell'IP (stadio Child-Pugh), tuttavia i nostri dati evidenziano che ADMA plasmatico ha uno scarso valore prognostico nel predire lo sviluppo di VE nei pz cirrotici.

### PREVENZIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE: STUDIO EPIDEMIOLOGICO

E-14

**S. Zolla\*, S.Feriozzi\*\*, C. Neri\*, A. Ciuccarelli\*, R. Iacono\*\*, R. Polci\*\*, G. Imperato**

\*UOC Laboratorio di Analisi Ospedale di Civitacastellana (VT); \*\* UOC Nefrologia e Dialisi Ospedale di Civitacastellana (VT)

*Scopo del lavoro:* Valutare la reale prevalenza della IRC nel distretto di Civitacastellana (VT5), tentando di mettere in evidenza tutti i soggetti con elevati valori di creatinina (Sc), afferenti al Laboratorio Analisi del nostro ospedale.

*Materiali e metodi:* Sono stati registrati in un sistema informatico tutti i valori di Sc  $> 1,5$  mg/dl dosati dal Laboratorio, catturati dai soli pazienti afferenti ai punti prelievo territoriali ed ambulatoriali, inviati dai Medici di Medicina Generale. Lo studio ha necessitato di due fasi:

a) raccolta dei dati preliminari per la messa a punto dell'elaborazione (ultimi due mesi del 2006)

b) attivazione di una campagna informativa e divulgativa, con target i medici di Medicina Generale.

In questa seconda fase sono state registrate le prime visite ambulatoriali, come indice indiretto dell'efficacia della nostra campagna informativa. Per validare i dati registrati, i pazienti con Sc  $> 1,5$  sono stati suddivisi in persone già note all'ambulatorio nefrologico e persone sconosciute che mai avevano registrato valori alterati di creatinina.

*Risultati:* Abbiamo confrontato i dati relativi agli ultimi due mesi del 2006 vs i primi due mesi del 2007. Nel 2006 avevamo registrato 85 pz totali di cui 74 noti e 11 sconosciuti; nei primi due mesi di osservazione del 2007 i pz totali sono giunti a 90, di cui conosciuti 57, quindi una sostanziale stabilità mentre abbiamo registrato un sostanziale incremento dei naives (33 pz, dato triplicato in due mesi di osservazione). Considerati i risultati preliminari, il periodo di osservazione è stato prolungato a tutto il 2007 e in quest'ambito l'ambulatorio di nefrologia ha effettuato 615 visite di cui 227 su pazienti naives, con un incremento stabile delle prime visite.

*Conclusioni:* L'analisi dei dati ci ha permesso di rilevare un incremento stabile delle prime visite ambulatoriali nefrologiche con sospetta IRC. Riteniamo che i risultati di questo studio possano essere da stimolo per ulteriori approfondimenti.

## CARATTERIZZAZIONE DEL POOL DI CELLULE PROGENITRICI ENDOTELIALI MEDIANTE CITOFUORIMETRIA IN PAZIENTI CON RISCHIO CARDIOVASCOLARE

E-15

**M. Greco, F. Accattato, A. Sciacqua\*, F. Perticone\*, D. Foti, E. Gulletta**

Cattedra di Patologia Clinica, \*Cattedra di Medicina Interna, Università "Magna Graecia" di Catanzaro

Le cellule progenitrici endoteliali (EPC), prodotte dal midollo osseo a partire da cellule ematopoietiche staminali, sono presenti in circolo e hanno un ruolo chiave nella neoangiogenesi dell'adulto e nel mantenimento dell'integrità vascolare. Sono caratterizzate dall'espressione di antigeni di superficie delle cellule ematopoietiche staminali (CD133+) e, nelle fasi successive di maturazione, dall'espressione di antigeni delle cellule endoteliali, quali CD34 e VEGFR2 (KDR). Il numero e/o la funzione delle EPC possono essere alterati in condizioni cliniche caratterizzate da elevato rischio cardiovascolare. Scopo del presente studio è la messa a punto di un sistema di caratterizzazione delle EPC circolanti mediante citofluorimetria in pazienti con rischio cardiovascolare.

*Materiali e metodi.* Le EPC vengono definite dall'espressione di tre antigeni di superficie: CD34, CD133 e VEGFR2(KDR). Sulla base di tali marcatori, abbiamo valutato le EPC nel circolo periferico mediante due strategie: tipizzazione su sangue intero o su cellule CD133+ ottenute mediante un sistema di separazione magnetico (CD133 cell isolation kit, Miltenyi Biotec). Nel primo caso, viene utilizzato sangue addizionato ad EDTA (50-100 µl), sottoposto ad incubazione con Ab monoclonali: CD34-PerCP (BD), VEGFR2 (KDR)-PE (R&D), CD133/2 (293C3)-biotinilato e Ab antibiotina FITC (Miltenyi Biotec) ed i rispettivi isotipi di controllo. Dopo lisi eritrocitaria e opportuni lavaggi, i campioni vengono analizzati mediante citofluorimetria. Nel secondo caso, cellule mononucleari (PBMC) vengono ottenute mediante stratificazione su Ficoll a partire da 10 ml di sangue intero e quindi purificate mediante microbeads magnetiche coniugate con Ab-antiCD133. Dopo opportuni lavaggi, le cellule CD133+ sono sottoposte ad una doppia marcatura con CD34-PerCP e VEGFR2 (KDR)-PE ed i campioni analizzati mediante citofluorimetria.

*Risultati.* Sono stati preliminarmente studiati 10 pazienti con rischio cardiovascolare e 4 volontari sani. I due metodi di caratterizzazione delle EPC circolanti utilizzati hanno fornito risultati sovrapponibili. La percentuale delle cellule triple positive in tutti i campioni analizzati varia tra 0,4%- 5% dei linfomonociti, in accordo con i dati di letteratura.

*Discussione e conclusioni.* Alterazioni del pool di EPC possono avere ricadute sul piano clinico in pazienti con rischio cardiovascolare. E' plausibile che le EPC possano costituire un nuovo prototipo di marcatore biologico. La messa a punto di sistemi riproducibili ed affidabili di caratterizzazione del pool di EPC rappresenta un nuovo ed importante obiettivo della medicina di laboratorio.

## GASTROPANEL: "BIOPSIA" SIEROLOGIA O "BIOPSIA" ENDOSCOPICA? QUESTO È IL PROBLEMA

E-16

**M. Ruggeri\*, M. A. De Cesare\*\*, P. Spiridigliozzi\***

\*Medicina di Laboratorio; \*\*Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, A. O. S. Giovanni - Addolorata Roma

*Scopo del lavoro:* Il test Gastropanel consente di determinare, mediante un prelievo di sangue, se il paziente è affetto da gastrite. La gastrite può essere localizzata nell'antro, corpo-fondo, o entrambi, può essere causata da Helicobacter Pylori, può essere atrofica e può essere di natura autoimmune. Consente inoltre il riconoscimento di pazienti con ulcera peptica, e soprattutto, il riconoscimento dei pazienti a rischio elevato di cancro dello stomaco. Nel presente lavoro si propone uno screening di pazienti dispeptici cronici per individuare soggetti con malattie da reflusso gastroesofageo, Barrett, soggetti con ulcera gastrica o peptica (dopo terapie con fans), di evidenziare la presenza di infezione da HP e suo monitoraggio dopo terapia eradicante, e selezionare i pazienti a medio ed alto rischio di cancro gastrico, stabilendo il "timing" dell'esame endoscopico, evitando così costi sanitari e trattamenti invasivi inutili, diminuendo il rischio clinico ed incrementando il valore della medicina preventiva e di quella di base.

*Materiali e Metodi:* Il Gastropanel è un test non invasivo che si esegue su siero, ad alta sensibilità e specificità. Si possono misurare il livello dei Pepsinogeni I e II, della Gastrina 17 e degli anticorpi antiHP utilizzando anticorpi monoclonali altamente specifici con metodica ELISA. I risultati possono essere utilizzati per riconoscere il tipo di gastrite mediante un algoritmo di valutazione: il Gastrosoft, un semplice software che permette di interpretare i dati del Gastropanel, di disegnare, mediante un grafico, l'infezione da HP, la gastrite atrofica e determinare inoltre i fattori di rischio per l'ulcera peptica e per una degenerazione neoplastica seguendo le raccomandazioni della "Consensus Conference" di Maastricht del 2000.

*Risultati:* Su un campione di 74 pazienti, di cui 53 donne, 19 uomini e 2 bambini, con un range di età compreso tra 9-85 aa, sono risultati: normali (N) 35 pazienti, con gastrite non atrofica (S) 27, con gastrite atrofica del corpo (C) 8; con gastrite atrofica dell'antro (A) 1, con gastrite atrofica dell'antro e del corpo (AC) 1 e i 2 bambini sono risultati normali (N).

*Conclusioni:* Il Gastropanel consente di individuare prima, e in maniera non invasiva, i pazienti con rischio elevato di sviluppare ulcera peptica e cancro dello stomaco. Inoltre identifica quei pazienti con una gastrite atrofica autoimmune legata alla deficienza di vitamina B12. Dei pazienti N ed S, solo alcuni hanno accettato la verifica endoscopica, mentre i pazienti A, AC e C sono stati tutti sottoposti ad EGDS con biopsia, con concordanza dei risultati ottenuti.



**COMPARAZIONE DELLA PROCALCITONINA CON LA PROTEINA C REATTIVA AD ALTA SENSIBILITA' IN PAZIENTI AFFERENTI AL PRONTO SOCCORSO PEDIATRICO**

E-17

**R. Longo<sup>1</sup>, R. Baricchi<sup>2</sup>, L. Ricci<sup>1</sup>, C. Ruberto<sup>3</sup>, A. Parisoli<sup>1</sup>, E. Mazzini<sup>4</sup>, C. Gentile<sup>4</sup>**
<sup>1</sup>Dip. Medicina di Laboratorio; <sup>2</sup>Dip. Oncoematologico e Malattie Infettive; <sup>3</sup>Dip. Osterico-Ginecologico e Pediatrico; <sup>4</sup>Direzione Sanitaria Arcispedale Santa Maria Nuova di Reggio Emilia

*Scopo del lavoro:* Comparazione dei risultati dei dosaggi quantitativi della Procalcitonina (Proc.) e della Proteina C Reattiva ad alta sensibilità (PCR) nel contesto clinico di sospetta sepsi pediatrica; valutazione della richiesta simultanea dei due marcatori.

*Materiali e Metodi:* Sono state valutate 176 richieste simultanee di dosaggio quantitativo di Proc. e di PCR, relative a pazienti afferenti al PS pediatrico nel corso del periodo 01/05/2007-31/01/2008. La Proc. è stata dosata con il metodo di chemiluminescenza (LIASON- Dia Sorin); la PCR con il metodo turbidimetrico (Dimension-Dade Behring). Valori di riferimento: Proc. < 0,5 ng/ml (pazienti con oltre 3 gg di vita); PCR = 0,05-0,3 mg/dl.

*Risultati:* Su 176 richieste, 40 casi positivi alla Proc. sono risultati positivi anche alla PCR; 10 pazienti sono stati dimessi con valori di Proc. compresi tra 0,5 e 2 ng/ml e valori di PCR tra 0,6 e 10 mg/dl. Nei 30 pazienti ricoverati è stato effettuato il monitoraggio sistematico della PCR e solo in 18 casi anche della Proc. Quattro pazienti di età compresa tra 11 gg e 2 mesi, tutti positivi agli esami colturali, hanno evidenziato un incremento dei valori di Proc. da 2 a 10 volte rispetto a quello iniziale, mentre l'incremento del valore della PCR è stato modesto;

*Discussione e Conclusioni:* Come test di screening per patologie infettive gravi nei pazienti afferenti al PS pediatrico, la Proc. non ha mostrato sensibilità superiore alla PCR; pertanto, nell'ambito clinico studiato, si consiglia la richiesta di dosaggio della sola PCR, riservando l'uso del test della Proc. ai pazienti ricoverati. A tale riguardo, i nostri dati sembrano confermare una maggiore specificità della Proc. nella diagnosi di gravi patologie infettive soprattutto nei primissimi mesi di vita.

**LIVELLI DI CALPROTECTINA FECALE: VALUTAZIONE PER SESSO, ETA' E SOSPETTO DIAGNOSTICO**

E-18

**A. Fontana, M. Tampona, A. Zucano, A. Massaro, A. Calamita, P. Maggiolini, F. Di Serio**

U.O.Patologia Clinica I, Policlinico di Bari

*Scopo del lavoro:* valutare i livelli di calprotectina fecale in un'ampia popolazione, adulta e pediatrica, con sospetto diagnostico di malattia infiammatoria cronica intestinale (MICI).

*Pazienti e Metodi:* sono state valutate 424 richieste/pazienti pervenute al laboratorio per diagnosi differenziale di MICI. I pazienti sono stati suddivisi per fasce di età e sesso ed in base al quesito diagnostico. Il dosaggio è stato eseguito con metodica immunoenzimatica (Calprest, Eurospital SpA, Trieste, Italia) che utilizza anticorpi policlonali diretti contro la proteina.

*Risultati:* la distribuzione dei pazienti per età e sesso e la concentrazione media di calprotectina sono riportati in tabella. I livelli medi di calprotectina fecale nei gruppi di pazienti sono stati di 51.1mg/Kg, 124.1mg/Kg, 157.9mg/Kg e 57.0mg/Kg rispettivamente per DAR (dolore addominale ricorrente), MICI, DO (diarrea organica), DF (diarrea funzionale). L'analisi dei dati ha dimostrato che la differenza è statisticamente significativa tra il gruppo di pazienti con DAR e MICI e tra DAR e DO; tra DF e MICI e tra DF e DO (Kruskal Wallis test, P<.0001).

*Conclusioni:* i nostri dati confermano l'utilità del dosaggio della calprotectina fecale nella diagnosi differenziale tra patologia organica e funzionale dell'intestino.

fasce di età	n° pazienti (424)	sexso (F/M)	concentrazione media di calprotectina (mg/Kg)
0-2 anni	24	12/12	101.6
2-4 anni	45	17/28	83.2
4-8 anni	121	71/50	68.4
8-12 anni	91	54/37	71.4
12-30 anni	105	54/51	60.8
30-50 anni	24	9/15	39.5
> 50 anni	14	12/2	78.2

Tabella. Distribuzione dei pazienti in base all'età e al sesso e concentrazione media di calprotectina

## EFFICACIA DELLA DETERMINAZIONE DELLA RISPOSTA INFIAMMATORIA IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A CIRCOLAZIONE EXTRA-CORPOREA (CEC)

E-19

**V. Ventura, F. Onorati\*, G. Palmieri, G. Santarpino\*, M.C. Tassone, A. Renzulli\*, D.P. Foti, E. Gulletta**

Cattedra di Patologia Clinica, \*Cattedra di Cardiocirurgia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università "Magna Graecia" di Catanzaro

La sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS) in seguito a bypass cardiopolmonare viene indicata come la causa principale di morbilità e mortalità postoperatoria in cardiocirurgia. Punto centrale nella patogenesi della SIRS è la disfunzione endoteliale, che induce il rilascio di citochine e l'attivazione dei neutrofili. La variazione in un definito arco temporale del field citochinico può fornire informazioni preziose nel follow-up dei pazienti sottoposti a CEC e pertanto la determinazione delle citochine mediante metodologie multiparametriche offre, a tal riguardo, grandi vantaggi rispetto all'impiego dei singoli dosaggi tradizionali.

*Scopo del lavoro:* di questo studio è la valutazione del profilo infiammatorio in corso di bypass cardiopolmonare utilizzando la metodologia innovativa del biochip array.

*Materiali e metodi:* La determinazione di citochine circolanti è stata effettuata su plasma ottenuto da prelievi di sangue venoso periferico in 52 pazienti sottoposti a CEC. I campioni venivano raccolti in fase pre-operatoria (T0), immediatamente prima del declampaggio aortico (T1), alla fine dell'intervento (T2), a 12 ore (T3) e a 24 ore (T4) dopo l'intervento. Per la determinazione del profilo infiammatorio, abbiamo utilizzato il sistema "multi-analyte biochip array" messo a punto dalla Randox laboratories, che permette di determinare IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , MCP1, VEGF, EGF. Questa metodologia utilizza il principio immunometrico del sistema a sandwich, la chemiluminescenza come sistema di rivelazione e permette di misurare simultaneamente tutti gli analiti su ogni singolo biochip.

*Risultati:* Nell'ambito della risposta pro-infiammatoria, abbiamo riscontrato un progressivo incremento di IL6 e IL8 da T1 a T3, mentre MCP-1 raggiunge il suo picco al tempo T2, per poi decrescere fino a T4. I valori della citochina anti-infiammatoria IL-10 raggiungono il loro picco al tempo T2, per poi seguire un progressivo decremento fino a T4. Tali risultati confermano alcuni dati già ottenuti dal nostro gruppo e sono in accordo con quelli più significativi della letteratura.

*Discussione e conclusioni:* Uno studio dettagliato del profilo della risposta infiammatoria in corso di CEC può consentire un migliore intervento atto a ridurre le complicanze postoperatorie. L'utilizzo di metodologie multiparametriche offre grandi vantaggi rispetto all'impiego di dosaggi tradizionali. In particolare, esse risultano vantaggiose nell'approfondimento di malattie complesse, in cui soltanto la determinazione simultanea di vari analiti nel tempo consente un orientamento diagnostico e prognostico.

## INAPPROPRIATEZZA DELL'UTILIZZO DEL DATO DELL'EMOGLOBINA SU CAMPIONE PER EMOGASANALISI NELLA VALUTAZIONE DELLO STATO DI ANEMIA

E-20

**V. Brescia, A. Mileti, M. Tampoia, G. Urso, A. Losito, A. Lopello, F. Di Serio**

Patologia Clinica I, Policlinico Bari

I POCT per emogasanalisi forniscono la misura della emoglobina (Hgb). Tuttavia non vi sono "evidence-based review" sull'utilizzo del dato analitico di tale dosaggio eseguito su campione per emogasanalisi nella valutazione dello stato di anemia (1).

*Scopo del lavoro:* la valutazione della correlazione tra determinazione dell'Hgb ottenuta su POCT per emogasanalisi ed analizzatore ematologico.

*Materiali e metodi:* Sono state valutate 302 pratiche/pazienti consecutive con richiesta di emogasanalisi e di esame emocromocitometrico pervenute presso il nostro laboratorio in un periodo di 3 mesi. La Hgb è stata determinata su campione per emogasanalisi (Ca<sup>2+</sup>+LH) con analizzatore POCT Critical Care Xpress nova biomedical (HgbPOCT) e su campione di sangue K3EDTA con analizzatore ematologico ADVIA 2120 (Siemens) (HgbEMO). I due analizzatori presentavano between-run CV rispettivamente di 1.20% e di 1.18%. L'analisi statistica ha previsto test parametrici per il confronto delle medie e studi di correlazione.

*Risultati:* Il valore medio della Hgb era di 12.4 g/dL (95%CI: 11,8-12,5) eseguita su POCT e di 11,9 (95%CI: 11,6 - 12,1) eseguita su ADVIA 2120. Il t-test per dati non appaiati ha evidenziato un valore di 1.20 (P=0.22) (ns); l'analisi della varianza ha evidenziato F-test: 1.74 (P<.001). La comparazione tra i metodi con regressione lineare (Passing e Bablok) ha fornito HgbPOCT= -4.0 + 1.36HgbEMO [Intercept A: -4,00 (95%CI -5,67 to -2,50); Slope B: 1,36 (95%CI 1,24 to 1,50)] e uno scostamento percentuale dalla media di -0.8 (+ 1.96 SD= 40.9; -1.96 SD = -42.5) (Bland-Altman plot).

*Conclusioni:* I nostri dati evidenziano che le performance analitiche dei due metodi risultano idonee se confrontate con gli obiettivi di imprecisione (CV<1.4%). Tuttavia lo studio di comparazione dei risultati evidenzia bias clinicamente non accettabili. L'influenza di diversi fattori e variabili preanalitiche potrebbe inficiare la determinazione della Hgb su POCT. Tale misura risulta quindi inappropriata per la valutazione dello stato di anemia anche nel paziente critico.

(1) The National Academy of Clinical Biochemistry (NACB): laboratory medicine practice guidelines: evidence-based practice for point-of-care testing.

## IL REFERTO DEI MARCATORI TUMORALI: STRUMENTO PER RIDURRE L'ERRORE D'INAPPROPRIATEZZA

E-21

**V. Brescia, T. Iacobellis, A. Mileti, G. Urso, A. Losito, A. Verna, C. Capobianco, M. Varone, F. Di Serio**  
Laboratorio di Patologia Clinica I - Policlinico di Bari

La richiesta di un marcatore tumorale risulta appropriata se riferita non solo alla specificità d'organo ma alla "fase" del processo di cura del paziente.

*Scopo del lavoro:* è stato di valutare l'efficacia della introduzione di un referto con indicazione di specificità d'uso del singolo marcatore tumorale (screening, diagnosi/case-finding, prognosi, monitoraggio) nel migliorare l'appropriatezza della richiesta.

*Materiali e metodi:* Sono state valutate le modalità di richiesta di n. 8 analiti ( $\alpha$ 1fetoproteina, CA125, CA15.3, CA19.9, CEA, PSAt, cPSA, NSE) pervenute al Laboratorio di Patologia Clinica del Policlinico di Bari da parte dei medici di base. L'osservazione è stata condotta prima e dopo le modifiche introdotte nel referto confrontando un periodo di tre mesi (Maggio-Luglio) del 2007 vs lo stesso periodo del 2008. E' stata ritenuta efficace una riduzione della percentuale di richieste riportanti più marcatori tumorali. Le indicazioni contenute nel referto sono state formulate in base ai contenuti della linea guida NACB riguardo l'uso dei marcatori tumorali (1).

*Risultati:* Sono state valutate n. 594 richieste pervenute nell'anno 2007 e n. 541 nel 2008. Il numero di richieste con 1 o 2 marcatori tumorali è stato di 380 (63,97%) nel 2007 e di 421 (77,81%) nel 2008. La differenza è risultata statisticamente significativa (chi-square 26.14;  $P < .0001$ )

*Conclusioni:* I nostri dati hanno dimostrato l'efficacia dell'azione intrapresa. Un referto dei marcatori tumorali "utile" ha favorito un uso corretto del test ed è diventato uno strumento di comunicazione tra il laboratorio ed il clinico. Migliorando l'informazione si è potuto intervenire sia sul percorso diagnostico, riducendo l'errore di inapproprietezza (individuale e di sistema) e sia sull'economia di gestione.

(1) NABC: Practice guidelines and recommendations for use of tumor markers in the clinic.  
[http://www.nabc.org/imp/tumor/chp2\\_qreqs.pdf](http://www.nabc.org/imp/tumor/chp2_qreqs.pdf).

## ANALISI DI PROTEINE SALIVARI IN PAZIENTI AFFETTI DA SINDROME DI SJOGREN'S: POSSIBILE UTILE ALTERNATIVA NELLA VALUTAZIONE FUNZIONALE DI GHIANDOLE SALIVARI?

F-01

**P. Versura<sup>1</sup>, N. Malavolta<sup>2</sup>, C. Coslovi<sup>1</sup>, G. Vukatana<sup>2</sup>, L. Ermini<sup>2</sup>, A.M. Maffione<sup>3</sup>, G. Gavaruzzi<sup>3</sup>, E.C. Campos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dip Oftalmologia, <sup>2</sup>Sez Reumatologia, Dip Medicina Interna, <sup>3</sup>Dip di Medicina Nucleare – Az Osp S.Orsola-Malpighi e Università di Bologna

*Scopo del lavoro:* valutare la performance diagnostica dell'analisi proteica salivare nel graduare la funzionalità delle ghiandole salivari nella sindrome di Sjogren (SS-I) e il grado di correlazione con Scintigrafia (SG) e Ultrasonografia (US) delle ghiandole salivari.

*Materiali e metodi:* E' stata determinata la concentrazione di proteine totali, lactoferrina, lisozima, albumina e  $\alpha$ -amilasi in campioni di saliva raccolti da 19 pazienti SS-I, sottoposti a SG e US delle ghiandole salivari nei tre mesi precedenti alla determinazione, e i risultati comparati vs 10 soggetti di controllo sani (t-test e Mann-Whitney test,  $p < 0.05$ ). Il grado di correlazione tra le concentrazioni di ciascuna proteina e gli score delle indagini SG e US è stato calcolato mediante indice di Spearman rho ( $p < 0.05$ ). Sensibilità, specificità, ROC curve (Area under curve AUC) sono state calcolate per ogni proteina.

*Risultati:* la concentrazione di proteine totali è significativamente minore nei pazienti vs controlli (rispettivamente  $0,72 \pm 0,23$  vs  $2,33 \pm 0,73$  mg/ml,  $p=0.0001$ ), così come il lisozima ( $6,06 \pm 2,13$  vs  $11,05 \pm 7,46$  mg/ml,  $p=0,004$ ). Al contrario, la % di  $\alpha$ -amilasi è significativamente più alta nei pazienti vs controlli ( $35,44 \pm 5,61$  vs  $22,77 \pm 10,79$   $p=0.02$ ) così come quella di albumina ( $8,34 \pm 3,65$  vs  $4,65 \pm 2,93$ ,  $p=0.02$ ). Una correlazione significativa è stata trovata solo tra il contenuto di proteine totali e score scintigrafico ( $p=0.034$ ,  $\rho=0.584$ ) and score ultrasonografico ( $p=0.042$ ,  $\rho=0.498$ ). La migliore performance diagnostica è dimostrata per la concentrazione di proteine totali (cut-off  $\leq 1.16$  mg/ml, specificità 1.0, sensibilità 0.87, AUC 0.954).

*Discussione e Conclusioni:* La saliva rappresenta un fluido diagnostico di elezione nella valutazione di funzionalità delle ghiandole compromesse da SS-I, fornendo dati specifici anche nei primi stadi della malattia. Il nostro studio in particolare ha dimostrato come la concentrazione di proteine salivari totali possa essere considerata un test specifico nella valutazione della funzionalità delle ghiandole salivari, che inoltre appare significativamente correlato a più invasive e costose tecniche di imaging; esso dimostra una buona accuratezza diagnostica, è relativamente semplice e facilmente accessibile alla maggior parte delle unità cliniche.

Il lavoro è stato supportato in parte da un grant della Fondazione Cassa di Risparmio in Bologna al Prof. Emilio C Campos.

## PERFORMANCE ANALITICA DEL DOSAGGIO DELLE PROTEINE URINARIE CON IL PIROGALLOLO ROSSO MOLIBDATO (PRM) SENZA SDS

F-02

**S. Mingardo, K. Guerra, L. Pulze, M. Pavanello, V. Sartori, F. Manoni**

UOC Medicina di Laboratorio Ospedale di Monselice (PD) ULSS 17

*Scopo del lavoro.* Abbiamo voluto valutare le performance della determinazione della proteine urinarie in chimica liquida con metodo PRM senza Sodio Dodecil Solfato (SDS), nonché verificare l'allineamento tra le apparecchiature utilizzate e monitorare il raggiungimento dei nostri obiettivi analitici. La proteinuria, nel nostro laboratorio certificato ISO 9001-2000 e ISO 15189-2005, viene eseguita su tutti i campioni con richieste di esame urine.

*Materiali e metodi.* Lo studio, secondo il protocollo NCCLS EP-5, della valutazione analitica della proteinuria sull'AU2700 Olympus con PRM - reattivo "Urinary/Csf Protein OSRG170 Olympus"-, è stato condotto per verificare la sensibilità del metodo, la linearità di risposta, il carry over, la precisione la correlazione del test eseguito sull'AU640 della stessa ditta, nonché l'accuratezza dalle risultanze delle VEQ del Centro di Ricerca Biomedica (CRB) di Castelfranco Veneto.

*Risultati.* Sensibilità = 0.009 g/l. Linearità fino a 3.73 g/l con  $r = 0.9994$  (dichiarata fino a 2.00 g/l). Il carry over, di fatto inesistente, ha fornito un K medio di 0.0040. I risultati della precisione hanno mostrato i seguenti valori: ripetibilità a 0,244 g/l CV = 1.57%, a 0.488g/l CV = 1.38%, a 2.113 CV = 2.32%; riproducibilità a 0.125 g/l CV = 3.34%, a 0.251 g/l CV = 2.74%, a 1,419 g/l CV = 3.10%. La correlazione AU2700 vs AU640 ha fornito un coefficiente angolare di 1.0047. Le VEQ hanno assegnato "ottimo" (7 volte) e "buono" (3 volte). Obiettivi analitici: la variabilità analitica, con CVa < 4.0% è nettamente migliore del CVa ottimale di 9.9% presente in letteratura.

*Discussione e conclusioni.* Lo studio evidenzia l'ottima sensibilità e linearità, la più che buona accuratezza e precisione di questo metodo. Le cuvette in vetro inerte poi, non andando in competizione di legame con il PRM conferiscono elevata specificità. Eccellente l'allineamento evidenziato tra AU2700 e AU640. Ottimo metodo, quindi, considerato che la proteinuria, riveste grande importanza nella valutazione di lesioni renali, in particolare nella diagnosi di esclusione di patologie renali primitive o secondarie.

## INTRAOPERATIVE PARATHYROID HORMONE ASSAY DURING MINIMALLY INVASIVE VIDEO-ASSISTED PARATHYROIDECTOMY: CASE REPORT

F-03

**B. Biasioli<sup>1</sup>, E. Stenner<sup>1</sup>, C. Dobrinja<sup>2</sup>, W. Micheli<sup>1</sup>, G. Trevisan<sup>2</sup>, G. Liguori<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine – A.O.U. Ospedali Riuniti di Trieste, Italy, <sup>2</sup>Department of General Surgery, Hospital of Cattinara, University of Trieste, Italy.

*Aim of the study.* It is well established that a reduction in the intraoperative parathyroid hormone (PTHIO) serum levels more than 50% with respect to the basal values during a parathyroidectomy it's closely related to an adequate surgical treatment, namely the removal of all hyperfunctioning parathyroid tissue. The aim of this study was to present a case of parathyroidectomy during which an increase of PTHIO was reached.

*Material and Methods.* A female patient of age 56 years was diagnosed a primitive hyperparathyroidism (pHPT) and a minimally invasive video-assisted parathyroidectomy was performed after a single adenoma smaller than 35 mm was identified with ultrasonography and <sup>99</sup>Tc-sestaMIBI scanning. The PTHIO samples were performed: before skin incision (T0), 5 minutes (T1) and 10 minutes (T2) after the excision of the parathyroid adenoma respectively. Surgical procedures were deemed complete when at time T1 a PTHIO drop of more than 50% with respect to the preoperative values was observed, while if the drop was not as expected, the surgical procedures were continued with conversion to open cervicotomy and bilateral cervical exploration. PTHIO assay: Access2 Beckman Coulter (Fullerton, California). Calcium and PTH in routine mode were also measured.

*Results.* Preoperative calcium and PTH values was 10.00 mg/dL and 253 pg/mL respectively. PTHIO values rose in T1 (+83%) and drop in T2 (-30%). Due to the fact that the drop in T2 was not over 50% with respect to the T0 values, another blood drawing was performed after 20 minutes and a significant drop (-59%) was found. PTH and calcium values reached the day after the parathyroidectomy were 35 pg/mL and 8.5 mg/dL respectively.

*Discussion and conclusions.* The PTHIO increase is correlated to the former removal of a thyroid adenoma (frozen section) during which there was an accidental physical manipulation of the pathological parathyroid gland (located immediately posterior of the removed thyroid nodule) that was found, after cervical exploration, in a different place with respect to that indicated by the preoperative imaging studies. 5 minutes after the removal of the real parathyroid adenoma PTHIO began to drop, even if not significantly, and after 10 minutes it decreased more than 50% with respect to the pre skin incision PTHIO value. In this case report PTHIO assay during parathyroidectomy adds information in surgical decision-making, leading to an additional intraoperative investigation and resection of hyperfunctioning parathyroid tissue missed by <sup>99</sup>Tc-Sest aMIBI scanning or ultrasounds.

## ANALISI PROTEOMICA DI LACRIME UMANE IN PAZIENTI AFFETTI DA OCCHIO SECCO DA IPEREVAPORAZIONE

F-04

**P. Versura<sup>1</sup>, D. Parisi<sup>2</sup>, A. Bavelloni<sup>3</sup>, C. Coslovi<sup>1</sup>, G. Cioffi<sup>3</sup>, M. Piazzini<sup>3</sup>, A. Roda<sup>2</sup>, E.C. Campos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>U.O. Oftalmologia, <sup>2</sup>Dip di Scienze Farmaceutiche, Università di Bologna, <sup>3</sup>IRCCS Istituti Rizzoli, Bologna.

*Scopo del lavoro.* L'occhio secco da iperevaporazione è causato da instabilità del film lacrimale: la superficie oculare, non più protetta, sviluppa difetti epiteliali a vario grado di severità. Abbiamo analizzato alcune proteine che nelle lacrime umane contribuiscono alla distribuzione e stabilità del film lacrimale.

*Materiale e Metodi.* 5 µl di lacrime non stimolate sono stati raccolti da 50 pazienti affetti da occhio secco iperevaporativo (IDE) e 15 soggetti normali di controllo. Le proteine lacrimali lisozima, lactoferrina, albumina sierica, lipocalina and lipofillina sono state separate mediante elettroforesi SDS-PAGE, utilizzando Criterion 20% Bio-Rad gels e colorazione Brilliant Blu G (Sigma), analizzate mediante tecniche densitometriche vs standard di controllo. Le bande selezionate sono state caratterizzate per analisi elettroforetica 2-D, immunoblotting e isolamento/digestione con 0.05% tripsina e analisi peptidica mediante LC ESI-Q-TOF MS/MS. I dati sono stati processati ed inseriti nel NCBI non-redundant protein database mediante software Mascot (Matrix Science, UK). I risultati sono stati statisticamente valutati mediante t-test per dati indipendenti e Mann-Whitney test per dati non appaiati (significatività  $p < 0,05$ )

*Risultati.* A parte il lisozima ( $p=0,9$ ) per tutte le proteine analizzate si è osservata variazione significativa tra pazienti e controlli; rispettivamente (dati espressi come % media + SD) Lactoferrina:  $8,96 + 3,86$  vs  $17,41 + 3,46$   $p=0,000$ ; Lipocalina:  $7,35 + 1,95$  vs  $10,55 + 1,01$   $p=0,002$ ; Lipofillina:  $3,18 + 1,36$  vs  $4,14 + 1,25$   $p=0,01$ ; Albumina sierica:  $9,28 + 6,51$  vs  $3,49 + 2,35$   $p=0,005$ . L'analisi proteomica ha inoltre identificato nei pazienti una down-regolazione di lipocalina 1 e di lipofillina A, associata a possibili modificazioni post-trasduzionali.

*Discussione e Conclusioni.* Nei pazienti il calo di lactoferrina è da riferirsi ad una compromissione funzionale della ghiandola lacrimale principale mentre l'aumento di albumina sierica è espressione di un fenomeno essudativo causato da infiammazione. Il calo nei pazienti delle proteine lipofiliche Lipocalina 1 e Lipofillina A e la loro modificazione potrebbe rendere conto della alterata distribuzione della componente lipidica del film nella malattia dell'occhio secco da iperevaporazione.

*Il lavoro è stato supportato in parte da un grant della Fondazione Cassa di Risparmio in Bologna al Prof. Emilio Campos.*

## L'ELETTROFORESI SIEROPROTEICA IN GEL D'AGAROSIO NELLA VALUTAZIONE DEGLI STATI INFIAMMATORI

F-05

**I. Brusca, M. Ruggeri, M. Gallina, M. Barrale, V. Cantisano, V. Vitale, S.M. La Chiusa**

Gruppo di Studio SIMeL Proteine, U.O. di Patologia Clinica Ospedale Buccheri La Ferla Fatebenefratelli (Palermo)

*Introduzione.* La valutazione simultanea e quantitativa delle plasmaproteine è di notevole utilità in numerose patologie. Le metodiche di laboratorio correnti consentono un dosaggio accurato di numerose proteine, i cui costi possono, però, essere elevati. L'elettroforesi sieroproteica in gel d'agarosio (ETF) consente di avere una visione armonica delle più importanti plasmaproteine con costi molto contenuti ma con una accuratezza diagnostica che alcuni autori ritengono sufficiente solo all'individuazione di gammopatie monoclonali.

*Scopo dello studio.* Valutare la capacità dell'ETF nel riconoscere e segnalare la presenza di uno stato infiammatorio.

*Materiali e Metodi.* Dal database del programma di gestione del laboratorio (Metafora Informatica), sono stati estratti i dati relativi a 8537 pazienti che dal 2006 al 2008 avevano contemporaneamente effettuato una ETF (alfa Wassermann) ed una misura di VES e PCR. I risultati di VES e PCR sono stati confrontati con la misura delle bande alfa1 ed alfa2 dell'ETF, valutandone la coerenza rispetto ai corrispondenti cut-off. I dati sono stati elaborati tramite il programma di analisi statistica SPSS.

*Risultati.* Nei pazienti con valori di VES e/o PCR sopra il cut-off, le alterazioni quantitative delle zone alfa (misura di alfa1 o alfa2 sopra il cut-off) sono presenti nel 69,9 % dei casi, con specificità del 68,7 %, il Likelihood ratio pos. (LR+) è 2.24, il Likelihood ratio neg. (LR-) 0.44. Utilizzando cut-off per VES > 50 e/o PCR > 35 mg/L la sensibilità dell'ETF (frazioni alfa1 e/o alfa2 sopra il cut-off) è del 71.2 % con una specificità del 79.7 %, il LR+ è 3.26 il LR- 0.45.

*Conclusioni.* Pur essendo opinione diffusa che le variazioni quantitative della ETF suggeriscano la presenza di uno stato flogistico, il criterio di basare il riconoscimento/esclusione di stato infiammatorio utilizzando un valore di cut-off della frazione alfa1 e/o alfa2 dell'elettroforesi sieroproteica in gel di agarosio non assicura sufficiente accuratezza diagnostica.

**INSUFFICIENZA SURRENALE E CORTISOLO SALIVARE****F-06****M. Forni\***, **M. Ramon\***, **G. Polo\***, **E. De Menis\*\***, **M. Giannuzzi\*\*\***, **G. Piaserico\***\*ULSS 8 Asolo Ospedale Montebelluna Laboratorio Analisi - \*\* ULSS 8 Asolo Ospedale Montebelluna Medicina  
\*\*\* Specialista Roche

*Introduzione:* L'insufficienza corticosurrenalica secondaria o primaria può passare talora inosservata nonostante l'esecuzione di tutti i test diagnostici e in alcuni casi soggetti normali possono presentare test con risultato patologico. I test di laboratorio permettono di coadiuvare il clinico nella diagnosi dell'insufficienza corticosurrenalica in modo particolare il test da stimolo con ACTH simile permette di identificare, in alcuni casi, l'insufficienza surrenale.

*Scopo:* In questo elaborato si esplora la possibilità di sostituire il prelievo venoso per il cortisolo con la sua determinazione in campioni salivari raccolti con la stessa tempistica dei prelievi ematici. Nei soggetti normali il picco del cortisolo sierico dopo ACTH simile solitamente supera da tre a cinque volte il valore basale; nei soggetti affetti da insufficienza corticosurrenalica il test non provoca significativi aumenti dei valori di cortisolo che è già massimamente stimolato dall'ACTH endogeno.

*Materiali e metodi:* Per lo stimolo sono stati iniettati 250 mcg di tetracosactide acetato con misurazione del cortisolo sierico prima a 30 e 60 minuti dopo l'iniezione. Il cortisolo plasmatico è stato determinato sullo strumento Immulite 2000 (Medical System) (Sensibilità analitica 0,2 mcg/dL; intervallo di misura 5-25 mcg/dL), il cortisolo salivare è stato dosato con Modular (Roche) (sensibilità analitica 0,018 mcg/dL; intervallo di misura 0,018-63,4 mcg/dL). La popolazione in oggetto è formata da 9 pazienti, 3 uomini e 6 donne, con età media di 44 anni (intervallo da 25 a 72 anni).

*Risultati:* Allo stato attuale sono disponibili solo dati preliminari utili per la verifica della tempistica da adottare per il controllo del cortisolo salivare. In tutti i casi il cortisolo salivare è aumentato da 4 a 10 volte il valore basale (valore tempo zero: media 0,09 mcg/dL con DS 0,07; a 1 ora dopo stimolo media 0,87 mcg/dL DS 0,6). Il sierico ha avuto aumenti di 2 o 3 volte il valore basale (valore tempo zero: media 9,13 mcg/dL con DS 5,31; a 1 ora dopo stimolo media 19,23 mcg/dL DS 10,07). Solo in un caso il valore sierico e salivare sono stati inferiori ai limiti di sensibilità analitica, il paziente è stato sottoposto a terapia sostitutiva. Degli altri 8 casi 3 non soffrono di insufficienza surrenale e 5 sono stati invitati a ripresentarsi per ripetere il test da stimolo.

*Conclusioni:* Il cortisolo salivare sembra rispecchiare l'andamento del cortisolo sierico e di fornire le medesime informazioni nello stesso tempo di osservazione. La raccolta salivare risulta però non invasiva e di più facile accettazione da parte del paziente soprattutto nei casi in cui si debba ripetere il test da stimolo.

**L'ESCREZIONE FRAZIONALE DI IgG E' IL PIU' POTENTE FATTORE PREDITTIVO DI RENO-PROTEZIONE DA ACE INIBITORI NELLA NEFROPATIA IgA****F-07****G. Olivieri\***, **D. Casellato<sup>^</sup>**, **V. Rizza\***, **F. Lavarda\***, **C. Bazzi<sup>o</sup>**\*Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e di Ematologia – Ospedale San Carlo Borromeo, <sup>o</sup>Fondazione D'Amico per la Ricerca sulle Malattie Renali – Milano <sup>^</sup>Unità Operativa Nefrologia e Dialisi – Ospedale San Carlo Borromeo- Milano

*Introduzione.* Pochi ed eterogenei lavori hanno valutato le proprietà reno-protettive degli inibitori dell'Enzima di Conversione dell'Angiotensina II (ACEi) nella nefropatia IgA (IgAN); in particolare, è opportuno identificare quali sono i fattori che influenzano la risposta alla terapia e perciò i pazienti che ne possono beneficiare.

*Scopo:* valutare su 140 pazienti (pz) affetti da IgAN (73 non trattati con ACEi e 67 trattati) quali fattori predicono la reno-protezione nei confronti della progressione alla Insufficienza Renale Terminale (IRT) o al raddoppio della creatinina sierica. Fattori di rischio (FR) considerati: Pressione Arteriosa (PA), Creatinina sierica (sCr), Proteinuria 24 ore (UPTdie), Escrezione Frazionale di IgG (EFiGg) e di alfa1-microglobulina (EFa1m), Sclerosi Glomerulare Globale (SG) e Segmentaria (SS), Danno Tubulo-interstiziale (DTI) e Ialinosi Arteriolare (IA).

*Metodi.* La proteinuria è stata misurata con metodo Blue-Coomassie+SDS; la creatinina con metodo di Jaffè senza deproteinizzazione e le proteine specifiche mediante immunonefelometria. I parametri istologici sono stati valutati sulla biopsia renale.

*Risultati e Conclusioni.* Con ROC analisi i pz sono stati divisi in due gruppi in base al cut-off con la migliore sensibilità e specificità per la progressione. I pazienti con tutti i FR < al cut-off non beneficiano della terapia. I pz con 5 FR clinici e proteinurici e due istologici con valori  $\geq$  al cut-off, presentano una significativa riduzione della progressione nei pz trattati. La EFiGg  $\geq 0.006$  presenta la più elevata predittività di reno-protezione nei pz trattati vs i non trattati (20% vs 62% p=0.0004) ed è l'unico FR associato significativamente ad una riduzione della proteinuria da -100% a -30% nei pazienti non trattati vs i trattati (23% vs 60%, p=0.03). All'analisi multivariata i fattori indipendenti di progressione sono EFiGg, sCr e non trattamento con ACEi. La presenza basale di un singolo FR clinico e proteinurico  $\geq$  al cut-off è un criterio idoneo a identificare i pz che possono giovare degli ACEi. Tra tutti i FR, l'EFiGg ha il più alto valore predittivo di reno-protezione nei pz trattati.

Dillon JJ: Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptors blockers for IgA nephropathy. Semin Nephrol 2004;24:218-224

## RAPPORTI FRA GENOTIPO E FENOTIPO DI PARAOXONASI E CONCENTRAZIONE PLASMATICA DI APOPROTEINA A-I

F-08

**R. Rolla, A. Suno, M. Bagnati, B. Bardone, P. Zumaglini, G. Bellomo**

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche, Università del Piemonte Orientale, Novara

*Scopo:* La proteina responsabile della attività paraoxonasi (PON)/arilesterasica (ARI) si trova, nel plasma, associata invariabilmente alle lipoproteine ad alta densità (HDL) ed alla loro apoproteina (Apo A-I). E' stata valutata la correlazione fra concentrazione plasmatica di Apo A-I, attività PON ed ARI e polimorfismo Q192R del gene PON-1.

*Materiali e Metodi:* Sono stati reclutati 237 pazienti differenziati in tre gruppi a seconda dei livelli plasmatici di colesterolo HDL (<20 mg/dL; 21-80 mg/dL; >80 mg/dL). In tutti i pazienti è stato valutato il profilo lipidico, è stata dosata spettrofotometricamente l'attività di PON ed ARI ed è stata effettuata una genotipizzazione di PON-1 (polimorfismo Q192R) mediante Real-Time PCR con sonde FRET.

*Risultati:* A fronte di una correlazione evidente fra concentrazione plasmatici di Apo A-I, nel caso della PON esiste una differenziazione netta in base al polimorfismo Q192R, mentre nel caso della ARI, tale differenziazione è completamente assente. Tuttavia, per valori di Apo A-I <40 mg/dL si osserva un marcato aumento della attività specifica sia della PON che della ARI, come se una maggiore quantità della proteina ad attività enzimatica fosse associata alle singole particelle di HDL. Nel caso di PON, si mantiene una significativa differenziazione del comportamento a seconda del polimorfismo genico, differenziazione completamente assente nel caso di ARI. Indagando, infine, la correlazione esistente fra concentrazione plasmatica di Apo A-I e rapporto PON/ARI normalizzata per Apo A-I, si osserva una distribuzione apparentemente random dei dati a suggerire l'assenza di qualsivoglia correlazione. La differenziazione dei risultati in base al polimorfismo Q192R modifica nettamente il quadro complessivo. Nel caso, infatti, di genotipo QQ, si osserva una significativa correlazione di tipo logaritmico negativo con un notevole aumento del rapporto per valori di Apo A-I inferiore a 40 mg/dL. In tali condizioni il rapporto passa da circa 0.15 per valori elevati di Apo A-I a 0.50 per valori molto bassi di apoproteina A. Nel caso di genotipo QR, la correlazione è di tipo lineare con il rapporto che passa da 0.25 per valori elevati a 0.45 per valori molto bassi di Apo A-I. Nel caso, infine, di genotipo RR non si osserva più alcuna correlazione fra i parametri indagati, con il rapporto che rimane sostanzialmente stabile attorno a 0.35 - 0.45 per tutti i valori di Apo A-I.

*Conclusioni:* I dati ottenuti aprono nuovi scenari nell'ambito del rapporto fenotipo/genotipo della paraoxonasi e suggeriscono che, in condizioni di bassi livelli di colesterolo HDL, il fenotipo della paraoxonasi si avvicina a quello riscontrato per il genotipo RR in condizioni di valori normali o elevati di colesterolo HDL.

## DINAMICA DEL FENOTIPO LIPOPROTEICO IN GRAVIDANZA

F-09

**C. Cassani, F. Riboni, B. Bardone, M.G. Sulas, E. Mairate, N. Surico, G. Bellomo**

Laboratorio RRCC, Clinica Ostetrica e Ginecologica, Università del Piemonte Orientale, Novara

*Scopo:* Lo sviluppo di ipercolesterolemia rappresenta un evento pressochè costante durante la progressione della gravidanza. Le caratteristiche biochimiche, i meccanismi patogenetici e le implicazioni fisiopatologiche di tale alterazione metabolica non sono ancora completamente conosciute. Questo studio è stato condotto allo scopo di meglio caratterizzare il fenotipo delle lipoproteine a bassa densità (LDL) in un gruppo di donne con gravidanza fisiologica.

*Pazienti e Metodi:* Sono state indagate 10 donne senza alcuna evidenza di patologie associate che sono andate incontro ad una gravidanza non complicata. A ciascuna di esse sono stati eseguiti prelievi di sangue venoso alla 12a, 24a, 36a e 40a settimana, nell'immediato post-partum e a distanza di circa un anno dal parto stesso. Il dosaggio di colesterolo totale (CT), LDL, HDL, trigliceridi (TG), apoproteina A (apoA) ed apoproteina B (apoB) è stato effettuato con metodi commerciali implementati su Siemens ADVIA 2400. La fenotipizzazione lipoproteica è stata effettuata mediante metodica elettroforetica con tecnologia Lipoprint, fornita dalla ditta PolyMed.

*Risultati:* Nel corso della gravidanza si osserva un progressivo aumento della concentrazione di CT fino a raggiungere valori di  $256 \pm 34$  mg/dL. Ciò è associato ad un progressivo aumento dei TG e del colesterolo LDL e ad un brusco aumento del colesterolo HDL, già evidente alla 12a settimana. Anche la concentrazione plasmatica di apoA e di apoB presentano aumenti significativi (più precoce quello di apoA, più tardivo quello di apoB), con un parallelo aumento del rapporto apoB/apoA (da 0.49 a 0.66), senza peraltro mai raggiungere il valore di 1,0, indicativo di elevato rischio aterogeno. La caratterizzazione del fenotipo delle LDL rivela una progressiva riduzione del diametro medio delle particelle di LDL (da  $271 \pm 1.5$  a  $261 \pm 4.5$  Å), associata ad una differente distribuzione della densità delle particelle che, limitata alle prime 3 classi, si estende poi ad altre due, più piccole e dense. Al momento del parto, in tutte le pazienti, il fenotipo lipoproteico viene classificato come tipo B. Il controllo di tutti questi parametri, nelle stesse pazienti, lontano dalla gravidanza, evidenzia un completo ritorno a condizioni di assoluta normalità ed un fenotipo lipoproteico di tipo A in tutte le pazienti.

*Conclusioni:* Nel corso della gravidanza si verifica un incremento dei livelli plasmatici di colesterolo totale, LDL ed HDL, associato ad una modificazione del fenotipo biochimico delle LDL con particelle più piccole e dense (fenotipo B). Tali modificazioni sono del tutto reversibili dopo il parto.

## VARIAZIONI DELLA DISTRIBUZIONE LIPOPROTEICA DEGLI ANTIOSSIDANTI LIPOSOLUBILI IN GRAVIDANZA

F-10

**G. Bellomo, F. Riboni, C. Cassani, B. Bardone, E. Mairate, M.G. Sulas, P. Zumaglini, A. Branco, N. Surico, M. Bagnati**

Laboratorio RRCC, Clinica Ostetrica e Ginecologica, Università del Piemonte Orientale, Novara

*Scopo:* La gravidanza è stata generalmente associata ad un aumento della concentrazione plasmatica di alcuni antiossidanti liposolubili, fra cui  $\alpha$ -tocoferolo (AT). I principali antiossidanti liposolubili sono però distribuiti in modo disomogeneo all'interno delle varie classi di lipoproteine circolanti. In gravidanza si osserva una variazione non solo della concentrazione ma anche della composizione delle lipoproteine. Scopo di questo studio è stato quello di indagare la concentrazione dei principali antiossidanti liposolubili nelle principali classi di lipoproteine in un gruppo di donne con gravidanza fisiologica.

*Pazienti e Metodi:* Sono state indagate 10 donne senza alcuna evidenza di patologie associate con una gravidanza non complicata. A ciascuna di esse sono stati eseguiti prelievi di sangue venoso alla 12a, 24a, 36a e 40a settimana, nell'immediato post-partum e a distanza di circa un anno dal parto stesso. Il dosaggio di colesterolo totale (CT), LDL, HDL, trigliceridi (TG), apoproteina A (apoA) ed apoproteina B (apoB) è stato effettuato con metodi commerciali implementati su Siemens ADVIA 2400. Le varie classi di lipoproteine sono state isolate mediante ultracentrifugazione su gradiente. La concentrazione di AT,  $\gamma$ -tocoferolo (GT), licopene (L) e b-carotene (BC) è stata misurata mediante HPLC.

*Risultati:* Mentre le concentrazioni plasmatiche di GT, L e BC rimangono costanti nel corso della gravidanza, quella di AT presenta un aumento significativo a partire dalla 24a settimana. Tuttavia, la normalizzazione per colesterolo plasmatico dei valori ottenuti dimostra una sostanziale costanza della concentrazione di GT ed AT ed una riduzione di L e BC. La misurazione di tali antiossidanti nelle varie classi lipoproteiche evidenzia una significativa riduzione della loro concentrazione nelle VLDL (GT: -42%; AT: -30%; L: -28%; BC: -12%), una modesta e non significativa riduzione di L e BC nelle LDL ed un significativo aumento, se pur con cinetiche differenti, di GT (+78%), AT (+245%), L (+103%) e BC (+115%) nelle HDL.

*Conclusioni:* I risultati ottenuti dimostrano che, nel corso della gravidanza, si verifica una ridistribuzione dei principali antiossidanti liposolubili all'interno delle principali classi di lipoproteine. L'incremento della loro concentrazione nelle HDL, associato ad un parallelo aumento della concentrazione delle particelle di HDL depone a favore di un ruolo critico svolto da queste lipoproteine nella difesa antiossidante anche in gravidanza.

## DOSAGGIO DELLE MOLECOLE DI ADESIONE IN PAZIENTI CON CRIOGLOBULINEMIA

F-11

**C. Ialongo\*, G. Salerno\*, G. Ferranti\*, A. Giuliano\*\*, M. Ludovici\*, P. Raso\*, M.T. Corsetti\*, P. Cardelli\***

\*Il Facoltà di Medicina e Chirurgia Università degli Studi La Sapienza Roma; \*\*Azienda Ospedaliera S' Andrea Roma

*Scopo del lavoro:* Nel nostro studio abbiamo analizzato 58 pazienti con crioglobulinemia valutando sul siero e sul crioprecipitato la presenza di VCAM1, ICAM1, P-L-E-selettine; tipizzato ogni paziente mediante la classificazione di Brouet ed indagata la positività al virus dell'epatite C.

*Materiali e metodi:* Tutti i crioprecipitati sono stati risospesi in 350  $\mu$ l di pbs ed utilizzati sia per l'immunofissazione (kit IF 2/4 della Sebia Italia) sia che per la determinazione delle molecole di adesione (biochip evidence ADHESION MOLECULES ARRAY della Randox)

*Risultati:* Rispetto alla classificazione di Brouet, abbiamo ottenuto due gruppi di pazienti, rispettivamente con crioglobulinemia di tipo 2 (52%) e di tipo 3 (48%), nella nostra statistica non abbiamo evidenziato pazienti con crioglobulinemia di tipo 1. Il valore medio del crioprecipitato per le molecole Vcam, Icam, P-E-selettine è risultato essere maggiore nei pazienti con classe 2, mentre la L-selettina è risultata superiore nei pazienti di tipo 3. I pazienti HCV neg sono risultati essere il 38% (36,4% di tipo 2; 63,6% di tipo 3) mentre i pazienti HCV pos sono il 62% (61,1% di tipo 2 e 38,9 di tipo 3). Il valore medio di tutte le molecole di adesione è risultato essere maggiore nei soggetti HCV positivi, rispetto a quelli HCV neg. Inoltre abbiamo riscontrato una correlazione (indice di Pearson) tra E-P selettine nel criop. dei soggetti HCV pos di 0.715 contro lo 0.449 degli HCV neg.

*Discussione e conclusioni:* I valori medi più alti nel crioprecipitato di pazienti con crioglobulinemia di tipo 2, per le molecole di adesione, è indice della maggiore severità del processo rispetto a soggetti con tipo 3. Inoltre, poiché i soggetti HCV pos, presentano medie sul crioprecipitato maggiori rispetto ai soggetti HCV neg ed una correlazione significativa tra E-P selettine, si può concludere che i danni vascolari ed endoteliali in tali individui siano più marcati. In definitiva, il dosaggio delle selettine ed in particolare delle E e delle P sul crioprecipitato di pazienti HCV pos, può essere utile per valutare la compromissione dell'endotelio e la gravità dell'insulto vascolare.



**LA DETERMINAZIONE DEL TSH NEI PAZIENTI AMBULATORIALI ED OSPEDALIZZATI****F-12****A. Fortunato, D. Giavarina, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia – Ospedale “San Bortolo” – Vicenza

*Introduzione:* le evidenze deducibili dalla letteratura portano all'indicazione che, nella valutazione dei valori del TSH, l'utilizzo per i pazienti ricoverati dello stesso intervallo di riferimento in uso per i pazienti ambulatoriali può comportare una perdita di specificità clinica nella valutazione della funzionalità tiroidea. Tuttavia gli studi pubblicati risultano eseguiti quando la sensibilità dei metodi analitici disponibili era molto inferiore a quella dei metodi attuali.

*Scopo del lavoro:* verificare se, con i metodi ad elevata sensibilità analitica, si evidenziano differenze nella distribuzione dei risultati ottenuti per i pazienti ambulatoriali rispetto a quelli in regime di ricovero per patologie non tiroidee.

*Materiali e Metodi:* sono stati analizzati i valori di TSH ottenuti nel nostro laboratorio nel periodo di 12 mesi con il sistema Advia® Centaur™ (Siemens, Tarrytown, USA). Dall'analisi sono stati esclusi i pazienti ricoverati per patologie tiroidee, i risultati derivanti da ripetizioni del prelievo sullo stesso paziente, i valori di TSH inferiori a 0,05 e superiori a 20 mUI/L.

*Risultati:* la distribuzione di 38452 valori di TSH di pazienti ambulatoriali e 5098 ricoverati ha mostrato rispettivamente una mediana di 1,64 mUI/L (I.C. 95%: 1,62-1,65) e 1,44 mUI/L (I.C. 95%: 1,40-1,47). Anche se la differenza delle mediane delle due popolazioni è risultata significativa con il test di Mann-Whitney per campioni indipendenti ( $p < 0,0001$ ), tale differenza risulta modesta come valore assoluto (0,20 mUI/L) e le due distribuzioni hanno una forma sovrapponibile. Rispetto all'intervallo di riferimento in uso nel nostro Laboratorio (0,4-3,7 mUI/L) la percentuale dei campioni classificati come “ipotiroidei” risulta sovrapponibile tra pazienti ricoverati e ambulatoriali, 8,9% e 9,3% rispettivamente; una percentuale maggiore di pazienti ricoverati (8,8%) è classificato come “ipertiroidei” rispetto ai pazienti ambulatoriali (6,5%).

*Conclusioni:* le distribuzioni dei valori di TSH nelle due popolazioni considerate non risulta gaussiana, come quelle ottenute con metodi analitici con sensibilità inferiore riportate in letteratura. La significatività statistica della modesta differenza tra i valori di mediana è attribuibile alla elevata numerosità delle popolazioni considerate ed al conseguente limitato intervallo di confidenza. La percentuale di pazienti, che presentano valori di TSH superiore al limite elevato dell'intervallo di riferimento in uso, è confrontabile nelle due popolazioni e, per quanto riguarda i valori di TSH a basse concentrazioni non risulta di alcuna utilità, nella nostra esperienza, l'uso di intervalli di riferimento differenziati per i pazienti ospedalizzati rispetto ai pazienti ambulatoriali.

**UTILIZZO DI UN DATABASE PER LA CREAZIONE DEI DOCUMENTI DEL SISTEMA QUALITÀ'****F-13****C. Lo Cascio, M. Nundini, P. Rizzotti**

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

*Scopo del lavoro:* Dopo aver creato un database per la compilazione delle schede esami, ovvero le specifiche tecniche ed interpretative degli esami effettuati presso il laboratorio, averlo compilato per quanto riguarda il settore chimica clinica, ed aver cominciato a diffonderlo all'interno di tutto il laboratorio, si è capita la possibilità di generare da questo numerosi documenti, sfruttando i dati già inseriti e/o inserendone mediante tabelle collegate. Scopo del lavoro è illustrare un esempio della tipologia di documenti del Sistema Qualità generabili da tale database.

*Materiali e metodi:* “Schede esami” compilate mediante Access; Software Access® (Microsoft®)

*Risultati:* Dalla applicazione Access, contenente le informazioni relative ai test effettuati, sono stati ricavati documenti che sono diventati parte integrante del Sistema Qualità sia dei singoli settori che del laboratorio in generale. Tali documenti attualmente riguardano: l'elenco delle analisi effettuabili, con relative modalità di raccolta, tempi di esecuzione, intervalli di riferimento e informazioni di carattere amministrativo; l'elenco aggiornato dei controlli di qualità interno ed esterno, dei calibratori e dei reagenti; i limiti di linearità, le diluizioni e i rerun automatici impostati sulla strumentazione; l'elenco delle regole di validazione utilizzate dal sistema esperto con le relative azioni da intraprendere.

*Conclusioni:* La compilazione di un database, che ha come nucleo centrale le specifiche tecniche dei test effettuati dal laboratorio, stilato in base alle informazioni richieste dagli enti di certificazione e di accreditamento, oltre che essere utile di per sé, consente di estrarre una serie di documenti informativi specifici, rapidamente consultabili, diffusibili sia all'interno che all'esterno del laboratorio. Il vantaggio di questa modalità di stesura dei documenti consiste nella necessità di aggiornare un dato una sola volta in un unico documento, trasferendo l'informazione in tempo reale a tutti i documenti derivati; la presenza di tabelle collegate permette inoltre che più figure, tramite password specifiche, contribuiscano alla stesura dei documenti stessi.

## ESPERIENZA NELLA ORGANIZZAZIONE DI UN CORSO, DIRETTO AGLI INFERMIERI DI REPARTO, PER IL CORRETTO APPROCCIO AL SERVIZIO DI MEDICINA DI LABORATORIO

F-14

**L. Penzo, S. Valverde, G. Gessoni**

Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale di Chioggia (VE)

*Premessa:* L'attività dei servizi diagnostici si attua mediante lo scambio continuo di materiali ed informazioni tra Servizio Reparti. Si tratta di incentivare attività che sul piano dell' impatto formativo e del miglioramento organizzativo si ritengono potenti e responsabilizzanti. Per questo motivo il Servizio di Medicina di Laboratorio (SML) di Chioggia ha organizzato un corso, destinato agli Infermieri dei Reparti per trattare del loro ruolo nella fase pre e post analitica.

*Materiali e Metodi:* Metodologie didattiche prevalenti - Lezioni frontali standard - Lavoro a piccoli gruppi. Ogni gruppo ha affrontato e discusso le tematiche di area prevedendo azioni critiche e progetti di miglioramento. Materiali didattici consegnati - Dispensa con testi di approfondimento sugli argomenti del corso - Supporti multimediali contenenti il Manuale del Laboratorio, il Protocollo per e Prelievi ed il Trasporto dei Materiali Biologici, relazioni.

*Risultati:* Il corso si è posto i seguenti obiettivi educativi e formativi: implementazione della sicurezza degli operatori e dei pazienti, far acquisire delle conoscenze teoriche e aggiornamenti, far acquisire abilità manuali, tecniche e pratiche, far migliorare le capacità relazionali e comunicative ed infine far acquisire competenze per l'analisi e la risoluzione dei problemi nei vari contesti. Il corso a cadenza annuale è stato ripetuto per 4 anni coinvolgendo 250 I.P. dei reparti dei due Ospedali Aziendali. Il gradimento è stato confermato dai seguenti indicatori: miglioramento trasporto campioni, riduzione del 40% delle N.C., 90% dell'attivazione on line referti.

*Discussione:* Il corso è articolato in quattro edizioni ciascuna su sei ore tenute due per ciascun Ospedale della ASL ha lo scopo di rivedere, correggere e migliorare tutte le procedure operative da parte del personale sanitario nei confronti di un corretto approccio al SML, dalla preparazione del paziente, al prelievo, al trasporto delle materiali, la conservazione dei campioni, la consegna degli stessi in Laboratorio, la comunicazione, la gestione delle problematiche, documentazione delle non conformità. In tale maniera il luogo di lavoro diventa il centro operativo privilegiato per utilizzare l'esperienza come fonte di apprendimento, per condividere con colleghi e collaboratori i processi formativi e le loro ricadute operative, per far diventare l'educazione continua un'attività "realmente continua" e fonte di miglioramento delle prestazioni.

## IL TRASPORTO DEI MATERIALI BIOLOGICI: DA PROBLEMA PRE ANALITICO DEL LABORATORIO ALLA GESTIONE GENERALE NELLA A-ULS 14

F-15

**L. Penzo<sup>1</sup>, A. Zugno<sup>1</sup>, A. Rossetti<sup>1</sup>, L. Battistello<sup>2</sup>, M.R. Boscolo<sup>2</sup>, S. Valverde<sup>1</sup>, G. Gessoni**

1) Servizio di Medicina di Laboratorio 2) Direzione Sanitaria A-ULS 14 Chioggia

*Premessa:* Il servizio Trasporti Materiali Biologici (TMB): Le attività connesse con la spedizione ed il trasporto di sostanze infettive (o potenzialmente tali), di campioni diagnostici o di altri materiali biologici sono da considerarsi delle fasi pre-analitiche a tutti gli effetti, da rispettare per garantire l'accuratezza delle prestazioni diagnostiche. Inoltre, queste costituiscono un potenziale pericolo di contaminazione del personale e dell'ambiente, in caso di fuoriuscita del materiale dai contenitori, in particolare modo se tali incidenti avvengono per inappropriato confezionamento. Scopo del servizio TMB: Garantire i risultati analitici e la sicurezza degli operatori coinvolti nelle operazioni di confezionamento, trasporto e spedizione di materiali biologici.

*Materiale e Metodi:* E' stata effettuata preliminarmente un valutazione delle criticità connesse alle diverse tipologie di TMB in base al tipo di materiale, la sua potenziale pericolosità e considerando la sua labilità nonché le problematiche connesse alla tipologia di trasporto: intra-ospedaliero, tra ospedali etc. Particolare attenzione è stata riservata alla normativa vigente. A questo punto il progetto è stato presentato alla DS Aziendale che lo ha condiviso ed autorizzato dando mandato di costituire un gruppo multi disciplinare presieduto dal sig. A. Zugno (TSLB con incarico di coordinamento nel Dipartimento di Patologia Clinica) per stendere un progetto Aziendale. Superata questa fase si è provveduto all'acquisto dei materiali per effettuare il TMB ed a stendere le relative istruzioni

*Risultati:* Il materiale è stato acquistato e distribuito a tutti gli interessati. E' stato predisposto un manuale generale che è stato reso disponibile sul sito intranet Aziendale. Estratti di detto manuale contenenti le istruzioni specifiche per ogni singolo aspetto sono state consegnate agli interessati. Il Laboratorio ha coordinato una serie di interventi di formazione diretti a tutto il personale coinvolto utilizzando sia la formazione sul campo che la formazione formale classica. Il progetto è pienamente operativo dal Maggio 2008.

*Discussione:* Le apposite istruzioni vengono applicate ogni qualvolta sia necessario confezionare, trasportare (all'interno o all'esterno delle strutture ospedaliere dall'ULSS14) o spedire campioni diagnostici, sostanze infettive e materiali biologici. Ogni punto di prelievo o smistamento di materiali biologici è fornito di dotazioni idonee ed il personale è informato sulle semplici procedure da seguire per confezionare i materiali e trasportarli. I materiali per il confezionamento sono da recuperare e riutilizzare. Le attività TMB specifiche variano a seconda delle richieste dei singoli servizi e quindi esistono linee guida distinte. A livello ULSS, il TMB è coordinato da un Servizio di Sorveglianza che controlla la regolarità e funzionalità dei trasporti, tale attività è coordinata dal sig. A. Zugno.

## UNASPETTO NEL CAMBIAMENTO DELLA MEDICINA DI LABORATORIO: IL PROFESSIONISTA COME ANIMATORE DI FORMAZIONE

F-16

**L. Penzo, G. Gessoni, S. Valverde, A. Padoan, C. Longhin**  
ASL 14 Chioggia

*Scopo del lavoro:* La formazione del personale rappresenta un impegno etico per tutti e deve essere realizzata con un lavoro di squadra integrando il miglioramento del singolo con la crescita del gruppo. Per far questo il Servizio di Medicina di Laboratorio dell'ASL 14 di Chioggia ha attivato un percorso d'aggiornamento con le altre unità operative, in cui un ruolo determinante è stato svolto dall'animatore di formazione; Questo ha portato ad avere un modello organizzativo capace di promuovere momenti di verifica e di confronto.

*Materiali e Metodi:* Lo studio traccia un bilancio dell'attività degli animatori di formazione all'interno del Dipartimento di Patologia clinica dell'ASL 14 di Chioggia nel periodo 2003–2008; attività che nasce da un corso SIMeL (ottobre 2003) e che si sviluppa poi, in collaborazione con l'Ufficio Formazione ed Aggiornamento mediante progetti formativi aziendali. Il lavoro ha attivato collaborazioni e sinergie che a loro volta hanno innescato a cascata iniziative e progettualità.

*Risultati:* Nel periodo 2003-2008 sono stati realizzati n.42 eventi formativi che hanno coinvolto tutto il Dipartimento di patologia Clinica (54 professionisti) e n. 18 eventi formativi rivolti al personale dei reparti (300 operatori tra medici ed infermieri). Gli eventi sono stati gestiti dall'animatore di formazione, che ha svolto ruolo di referente presso l'ufficio Formazione aziendale che ha supportato tutto l'accreditamento ECM degli eventi (180 crediti formativi).

*Discussione:* Il lavoro svolto in questi sei anni ha portato alla costruzione di uno spazio Intranet responsabilizzato dall'Uff. Formazione aziendale e un link nel sito aziendale com e passo collegato, la costituzione di un gruppo di animatori della formazione e della Qualità. Un'informazione capillare ha posto le basi del lavoro, la creazione di punti ECM informativi nei Dipartimenti, la valutazione di analisi di fabbisogno, l'individuazione di tematiche specifiche. Inoltre sono stati costruiti report semestrali dell'attività per interventi di miglioramento predisposti secondo indirizzi aziendali. Il lavoro ha coinvolto anche stagisti e tirocinanti, che hanno potuto così non solo "avvicinarsi" alla diagnostica ma sperimentare sul campo il lavoro di gruppo. L'animatore della formazione, partito dall'esperienza in SIMeL, ha costituito le fondamenta di un proficuo impegno, atto a caratterizzare un aspetto della professionalità al passo con il cambiamento in atto. L'animatore di formazione ha permesso di essere catalizzatore di iniziative e di eventi, ha evidenziato un aspetto della professione del Tecnico Sanitario come operatore capace di dare sostegno alle iniziative, per coordinarle in team allo scopo di migliorare la qualità della Medicina di Laboratorio, promuovendone gli aspetti comunicativi.

## ACCREDITAMENTO DEI LABORATORI, COMPARAZIONE ISO 17025 E ISO 15189 PER LA QUALITÀ ANALITICA

F-17

**M. Pradella**

Unità Autorizzazione e Accreditamento, Azienda ULSS n. 8 Asolo, TV; Commissione SIMeL Qualità e Accreditamento

*Scopo del lavoro.* 34 paesi europei sono rappresentati nella European Cooperation for Accreditation (EA), nata dalla fusione di EAL–Laboratory Accreditation ed EAC–Accreditation of Certification and Inspection Bodies, EA lavora con la Commissione Europea, secondo un Memorandum d'intesa, applicando ISO/IEC 17011 (enti di accreditamento). Gli organismi nazionali aderenti ad EA seguono principalmente ISO/IEC 17025. Recentemente, EA ha ammesso l'accreditamento dei laboratori medici secondo ISO 15189 con la modalità dello "scopo flessibile". Sta quindi iniziando un'attività in cui organizzazioni e ispettori familiari con ISO/IEC 17025 si confrontano con laboratori che conoscono meglio ISO 15189. In questo studio si confrontano i due standard, superando la tabella interna di corrispondenza, per verificare puntualmente peculiarità e differenze nell'area della qualità analitica.

*Materiali e Metodi.* I testi di UNI CEI ISO/IEC 17025:2005 e di EN ISO 15189:2007 sono stati disaggregati e, senza riguardo alla numerazione dei punti né alla tabella di corrispondenza interna, sono stati confrontati in parallelo per rilevare affinità e differenze.

*Risultati.* In molti punti ISO 15189 e ISO 17025 corrispondono. Per la qualità dei metodi (fase analitica) 15189 5.6.1 (internal quality control systems) ha un parallelo in 17025 5.9.1. L'incertezza di misura è sviluppata in 17025 in una sezione completa (5.4.6) e non prevede esenzioni di sorta, mentre 15189 in 5.6.2 ammette casi di non applicabilità. ISO 15189 punto 5.6.3 della calibrazione trova un corrispondente in 17025 nell'intera sezione 5.6 (da 5.6.1 a 5.6.3.4). I concetti sono simili, ma in 17025 è più dettagliata la gestione dei materiali di riferimento. Nei laboratori clinici alcune funzioni dipendono dalla interazione tra laboratorio e fornitori di reagenti, consumabili e sistemi. Al contrario, il punto 5.6.4 dei confronti inter-laboratorio è fortemente espresso in 15189, mentre viene solo toccato da 17025 in 5.9.1. Il punto 5.6.6 della comparabilità interna è del tutto assente in ISO 17025. Infine, analisi dei risultati ed azioni sono uguali in 15189 5.6.7 e 17025 5.9.2.

*Discussione e Conclusioni.* Nell'ambito della qualità analitica le corrispondenze sono molte, si rilevano in 15189 aree di discrezionalità per l'incertezza di misura e si percepisce il peso maggiore del ruolo dei fornitori di reagenti e sistemi. Il giudizio finale potrà essere espresso solo dopo l'esame completo dei due documenti, ma appare possibile che i requisiti di ISO 15189 vengano verificati con i criteri delle ispezioni finora condotte secondo ISO/IEC 17025. Saranno però necessarie liste di riscontro e linee guida applicative per interpretare il differente peso attribuito ai requisiti nei due standard.

## LA COMUNICAZIONE TRA TECNICI DI LABORATORIO: UNA NECESSITA' O UNA OPPORTUNITA' NEL CAMBIAMENTO

F-18

**C. Cirimbelli<sup>1</sup>, L. Penzo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina di Laboratorio A.O. Niguarda Ca' Granda Milano; <sup>2</sup>Laboratorio di Analisi Ospedale Civile ASL 14 Chioggia

*Scopo del lavoro:* La comunicazione tra i Professionisti nella diagnostica rappresenta una necessità per il Tecnico Sanitario, al quale oggi non è richiesta solo competenza professionale ma anche capacità gestionali e comunicative. Le tecnologie informatiche mettono a disposizione del professionista molteplici opportunità comunicative, lo studio analizza quali potenzialità di comunicazione ha oggi il Tecnico di Laboratorio e come le utilizza. Il nostro primo obiettivo è la condivisione e il confronto tra soci al fine di scambiare idee e raggiungere soluzioni innovative. Occasione di confronto sono sempre stati i congressi scientifici dove vengono presentate nuove metodiche di analisi, esperienze cliniche. Nel contesto attuale, andrebbe realizzato uno specifico progetto di organizzazione di rete: In...form@zione (Informare come comunicazione, formazione come aggiornamento professionale azione come progetti ed iniziative per la medicina di laboratorio).

*Materiali e metodi:* La tecnologia informatica diventa mezzo tecnico attraverso il quale incontrarsi e condividere la comunicazione. Sono nati così in rete diversi portali: SIMeL e SIBIOC: il confronto tra i tecnici avviene attraverso news, gruppi di studio, forum, riviste internazionali, collegamenti con società europee. Spazio Tecnici di Laboratorio Biomedico: dedicato agli studenti del CdL in Tecniche di Laboratorio Biomedico dell'Università di Bologna (forum e organizzazione didattica). La professione dei Tecnici di Laboratorio: informazioni riguardo allo sviluppo della professione, forum, sezione leggi. MolecularLab: notizie rilevanti in campo biotech, medico e molecolare, scambio culturale tra ricercatori, docenti ed aziende, lezioni interattive. ANTEL: notizie, forum, corsi e convegni, sezione legislativa; AITIC: sono disponibili forum, blog scientifico, partecipazione alla stesura del Libro del Laboratorio.

*Risultati:* il contesto lavorativo non è più solo locale, ma è inserito all'interno di organizzazioni a rete, dove i vantaggi dell'interscambio dati e dell'attività comunicativa si integrano. In ogni laboratorio si individuano spazi per costruire progetti da portare avanti attraverso la partecipazione attiva, si partecipa al cambiamento della medicina di laboratorio, a partire da queste realtà informatiche è possibile elaborare programmi di formazione ed aggiornamento professionale.

*Discussione e Conclusione:* si crea quindi una rete che prevede il coinvolgimento di tutti i professionisti, la possibilità di promuovere idee, progetti. Questo ci permetterà di crescere insieme coordinando le energie e individuando spazi di consultazione, di studio, di dialogo in un team composto da tutti i professionisti del laboratorio.

## L'AUDIT CLINICO IN MICROBIOLOGIA: ESPERIENZA FORMATIVA E MIGLIORAMENTO CONTINUO DELLA QUALITÀ

F-19

**G. Saccani, D. Piccoli, C. Mazzi, A. Conti, M. Caputo**

Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologia, AUSL 22 Veneto, Bussolengo (VR)

*Scopo del Lavoro:* Verificare se la riorganizzazione recentemente implementata nella gestione delle emocolture risponde alle effettive esigenze cliniche. Coinvolgere e motivare il personale del laboratorio e quello dei reparti a modificare abitudini ed atteggiamenti. Implementare le variazioni ritenute utili al miglioramento continuo della qualità.

*Materiali e metodi:* In collaborazione con l'Ufficio Formazione aziendale abbiamo costruito un percorso formativo basato sul ciclo dell'audit clinico. Si è costituito un gruppo di studio coordinato dal Direttore del Laboratorio come garante del progetto e composto da tutto il personale del laboratorio, che è poi stato distribuito in tre gruppi di lavoro. La prima fase è stata la quantificazione del fenomeno: analisi delle modalità operative in uso e delle modalità di richiesta con particolare riguardo alle richieste di "emocolture solitarie". Si è poi proceduto a definire standard accettati e misurabili in base alle evidenze disponibili in letteratura. Quindi si è studiata la concordanza delle procedure in atto con quanto raccomandato dagli standard di buona pratica. Infine si è intrapresa l'implementazione delle modifiche all'organizzazione ritenute necessarie al perseguimento degli standard concordati.

*Risultati:* La formulazione del progetto, steso in collaborazione con l'Ufficio Formazione e presentato come attività formativa per l'anno in corso è stato riconosciuto valido dalla commissione regionale ECM, che ha attribuito 17 crediti a testa per il personale partecipante, 25 per i tutor, 16 per il responsabile scientifico e 9 per il garante di progetto. L'analisi dell'esistente ha evidenziato un sotto-utilizzo dell'esame da parte dei reparti e una imperfetta conoscenza delle ricadute assistenziali di una efficace e tempestiva risposta del laboratorio in questo settore. La ridefinizione delle modalità operative ha ottenuto l'obiettivo di ridurre significativamente il TAT terapeutico (TTAT) medio.

*Discussione:* L'audit rappresenta la componente "verifica" nel circolo di miglioramento della qualità. Pur essendo ampiamente noto e praticato in altri contesti, non è ancora conosciuto ed utilizzato nelle nostre realtà assistenziali come si potrebbe e dovrebbe. La nostra esperienza, del tutto preliminare, vuole porre le basi per una definitiva appropriazione "culturale" di questo strumento nella comune pratica assistenziale nella convinzione che il miglioramento degli outcome sanitari è obiettivo realisticamente raggiungibile solamente con il coinvolgimento pieno e convinto di tutto il personale delle strutture sanitarie. Il riconoscimento della validità dell'iniziativa da parte degli organismi ECM incoraggia a proseguire su questa strada.

## EVIDENZA DELLA PRESENZA DI FONTI DI PERICOLO DA AGENTI BIOLOGICI IN UN LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA A SUPPORTO DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO BIOLOGICO DELIBERATO

F-20

**R. D'Isanto, A. Migliozi, M.P. Cocco**

A.S.L. NA 2 Dipartimento di Patologia Clinica

*Scopo del lavoro:* La presente indagine nasce dalla necessità di tutelare l'operatore nell'ambiente di lavoro. Tutti i fattori del microclima dell'ambiente di lavoro, come temperatura, ventilazione, umidità, illuminazione, condizionano l'accumulo di sostanze, polveri e microrganismi e la presenza di quest'ultimi nell'aria e sulle superfici di contatto, può rappresentare un fattore di rischio per la salute umana.

*Materiali e metodi:* Il seguente lavoro svolto in un laboratorio di Analisi Microbiologiche si articola in due fasi:

1) Si è monitorato il livello di contaminazione microbica delle apparecchiature e superfici di lavoro come possibile sorgente di infezione per contatto, ed il grado di contaminazione dell'aria-ambiente. Poi le superfici di lavoro ed apparecchiature sono stati decontaminati con germicidi (soluzione acquosa di ipoclorito di sodio al 10% o fenolo al 2,5%) alla fine della seduta di lavoro. La ventilazione è stata regolata in modo che sono stati possibili 5 ricambi aerei/h, con temperatura compresa fra 20 e 23°C, con umidità del 50-60%.

2) Successivamente si è eseguito un secondo campionamento.

*Risultati:*

**Tabella n. 1.** Numero di Microrganismi espresso in UFC, presenti in un mcubo di aria.

MICROORGANISMI

LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA

ARIA

MESOFILI TOTALI	MUFFE CONFLUENTI	COLIFORMI	STAFILOCOCCI
376		0	24

\*CONFLUENTI = quantità di colonie non computabili

**Tabella n. 2.** Numero di Microrganismi espresso in UFC presenti in 24 cmq di superficie.

	MESOFILI CONFLUENTI	MUFFE CONFLUENTI	COLIFORMI	STAFILOCOCCI
PARETI	10	0	0	1
PAVIMENTO			3	3
SUPERF. LAVORO	12	2	0	1
COMPUTER, MOUSE, TASTIERA, SCHERMO	10	3	2	1

*Conclusioni:* L'analisi dei risultati dimostra che i limiti di accettabilità sono superati per quanto concerne i mesofili totali e le muffe sul pavimento del laboratorio di microbiologia. Inoltre esso presenta livelli eccessivi di muffe nell'aria, pertanto nel laboratorio di microbiologia vi è una persistente presenza di muffe. Lo stato di conservazione e le caratteristiche strutturali dei locali, la loro ventilazione, la frequenza e l'efficacia dei trattamenti di pulizia e di disinfezione sono fattori che definiscono la qualità microbiologica dell'ambiente di lavoro. I risultati ottenuti non sembrano preoccupanti, ma segnalano la necessità di tutelare l'operatore nell'ambiente di lavoro, costantemente, perché nell'ambiente confinato si possono determinare con maggior frequenza condizioni che arrecano disturbo o danno alla salute.

## QUALITY IMPROVEMENT DELLE EMOCOLTURE: IL RISULTATO DI CINQUE ANNI

F-21

**R. De Rosa, M. Avolio, M.L. Modolo, A. Camporese**

S.C. Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera S.Maria degli Angeli, Pordenone

*Scopo del lavoro:* La percentuale di emocolture solitarie (ES), il livello di potenziale contaminazione (LPC) e il monitoraggio del TAT sono considerati significativi indicatori di qualità preanalitica e postanalitica della diagnosi di sepsi. Il College of American Pathologists (CPA) raccomanda il monitoraggio periodico di ES e del LPC come misura della qualità totale analitica e della qualità comportamentale di chi si occupa della prescrizione e del prelievo. Gli Standard ISO 15189:2003 al punto 5.8.11 definiscono che "il TAT deve riflettere le necessità cliniche", mentre Joint Commission International allo Standard AOP 5.3 sottolinea che "results are reported within a time frame based on patient needs, services offered and clinica l staff needs".

*Materiali e metodi:* Il nostro laboratorio, certificato ISO 15189: 2003, procede con continuità alla verifica di ES, LPC e TAT. Nel presente lavoro, sono stati presi in considerazione i risultati di quality improvement dal 2003 al 2007. Con il termine di ES si è inteso il singolo set di emocolture (aerobi+anaerobi) prelevato per paziente nell'arco di 24 ore; come LPC si è considerata la % degli isolamenti di Stafilococchi coagulasi negativi ottenuti da un solo flacone su più set prelevati. Il TAT è stato ottenuto estrapolando gli orari di accettazione e refertazione dal LIS.

*Risultati:* Dal 2003 al 2007, su 11.540 pazienti, per un totale di 29.828 set di emocolture, la % di ES è passata dal 13,4% del 2003 al 5,2% del 2007. Il LPC è passato dal 4,4% del 2003 al 2,3% del 2007. Il TAT medio delle emocolture, che già nel 2003 raggiungeva il livello di più del 70% dei risultati disponibili a video in reparto entro 48 ore e più dell'85% entro 72 ore, nel 2007 è passato a più dell'80% entro 48 ore e più del 95% entro 72 ore.

*Discussione e conclusioni:* I risultati dimostrano l'elevato livello di qualità e appropriatezza raggiunto dal nostro laboratorio nella diagnostica delle emocolture e l'utilità di possedere dei benchmarks con cui monitorare la qualità e l'appropriatezza dei processi preanalitici-analitici-postanalitici intervenendo, quando e se necessario, con updates culturali-formativi mirati al miglioramento dei comportamenti del personale. Il risultato di quality improvement raggiunto è infatti in buona parte riconducibile all'intervento di revisione del protocollo aziendale per l'esecuzione delle emocolture condiviso coi reparti e alla contestuale modifica del sistema di detersione/disinfezione, ambedue volti a ottenere una migliore compliance nell'esecuzione delle procedure di prelievo. Si conferma, altresì, il notevole contenimento del TAT dovuto alla continuità analitica garantita su sette giorni e alla disponibilità dei referti a video.

## QUALITA' DEL PRODOTTO DA AFERESI: VALUTAZIONE MEDIANTE PARAMETRI ERITROCITARI CON STRUMENTAZIONE EMATOLOGICA

F-22

**V. Brescia\***, **A. Mileti\***, **M. Tampoia\***, **A. Lopello\***, **L. Cazzato°**, **C. Citarella°**, **F. Di Serio\***

\*Patologia Clinica I, °SIT Policlinico Bari

*Scopo:* valutare l'effetto del trauma meccanico sui globuli rossi, (frammentazione e/o emolisi) prodotto da macchine per aferesi mediante la valutazione di parametri eritrocitari forniti da strumentazione ematologica

*Materiali e metodi:* Sono stati analizzati 37 prodotti da aferesi. La concentrazione della emoglobina totale (fotometrica)(Hbmis), della emoglobina intraeritrocitaria calcolata (Hbcalc) e la conta dei frammenti eritrocitari (f.e.) (cut-off: 0,10x10<sup>6</sup>f.e.) sono stati determinati su ADVIA 2120 (Siemens) Il grado di emolisi (Hbemol) ottenuto come [(Hbmis-Hbcalc)/Hbmis]x100, è stato confrontato con l'Errore Totale Analitico (ETA) intralaboratorio per l'Hb: 4.1%. La conta ottica degli schistociti è stata effettuata secondo le raccomandazioni del GFHC. L'analisi statistica ha previsto test parametrici per il confronto delle medie e della varianza

*Risultati:* 8 prodotti da aferesi hanno presentato valori di %f.e.>cut-off 0,20% (m.o.) e 2 un grado di emolisi significativo (differenza% tra Hbmis e Hbcalc>ETA)

	RBC x10 <sup>6</sup>	% f.e. automazione	% f.e. m.o.
v. medio	5,1	0,7	0,49
95% I.C.	4,4-5,8	0,2-1,2	0,14-0,8
Paired t-test: % f.e. = -2.8 (p<.001)			

tab 1a

	Hb mis g/dl	Hb calc. g/dl	differenza %
v. medio	14,7	14,9	1,1
95% I.C.	12,7-16,7	12,8-17,0	-3,1-0,9
Paired t-test Hb (g/dl) = -1,3 (p=0,19)			

tab 1b

*Conclusioni:* Tale procedura di verifica della resa qualitativa del prodotto di aferesi, per la semplicità e riproducibilità dei risultati, è proponibile in fase di validazione e di controllo periodico (cqi) sulle macchine in uso.

## VALIDAZIONE DEL PRIMO STANDARD INTERNAZIONALE WHO PER GLI ANTICORPI ANTI-PEPTIDI CITRULLINATI

F-23

**N. Bizzaro**, **D. Villalta**, **R. Tozzoli**, **E. Tonutti**, **A. Antico**

Gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIMeL

*Scopo dello studio.* Il Center for Disease Control (CDC) di Atlanta (Georgia, USA) ha messo a punto un preparato liofilo ottenuto da un pool di sieri di soggetti con artrite reumatoide (AR), che verrà licenziato dal WHO come primo standard internazionale per gli anticorpi anti-peptidi citrullinati (ACPA). Al Gruppo di Studio in Autoimmunologia della SIMeL è stato chiesto di effettuare in anteprima mondiale uno studio di valutazione del comportamento del siero in rapporto a diversi metodi analitici.

*Metodi.* Per la verifica abbiamo utilizzato 11 metodi commerciali per ACPA, valutando oltre al risultato quantitativo ottenuto con i diversi metodi, anche la linearità del dosaggio mediante diluizione seriale dello standard (da 1:1 a 1:32). Il coefficiente di variazione (CV) intra-batch è stato calcolato effettuando 12 ripetizioni su ciascuna di 10 fiale, utilizzando il test ELISA CCP2 prodotto da Eurodiagnostica (Arnhem, Paesi Bassi). Infine, per valutare l'efficacia della standardizzazione, 10 diversi campioni di siero di pazienti con AR con concentrazione anticorpale variabile, sono stati analizzati con gli 11 metodi commerciali e le relative concentrazioni sono state calcolate utilizzando come curva di calibrazione le 6 diluizioni del siero WHO al quale era stata assegnata provvisoriamente una concentrazione di 100 unità.

*Risultati.* La linearità dello standard è risultata ottima con tutti gli 11 metodi impiegati (r<sup>2</sup> compreso tra 0.94 e 0.99) dimostrando che il siero WHO è utilizzabile come calibratore universale anche da metodi che impiegano antigeni da sorgenti diverse. Il CV medio intra-batch è risultato del 4.5% (1.20-5.87). Le curve di calibrazione ottenute per ciascuno degli 11 metodi utilizzando come calibratori le diluizioni del siero WHO, hanno consentito di normalizzare la concentrazione dei 10 sieri AR esaminati, riducendo significativamente la dispersione dei valori (CV medio dei 10 sieri AR con curva dei kit 81.1% e con curva standard WHO 19.5%).

*Conclusioni.* Questa prima verifica del comportamento dello standard WHO per gli ACPA, preliminare alla sua diffusione a livello internazionale, ha dimostrato che il siero risponde ai requisiti richiesti essendo utilizzabile da tutte le aziende produttrici per l'elaborazione di curve di calibrazione dei loro metodi diagnostici e che è in grado di standardizzare i valori anticorpali anche se ottenuti con metodi diversi. La diffusione di questo standard e la conseguente adozione di unità internazionali di concentrazione anticorpale, consentirà una più accurata definizione del significato diagnostico e prognostico del valore quantitativo degli ACPA e della sua utilità nel monitoraggio dei pazienti in trattamento e un notevole passo in avanti per l'inclusione degli ACPA tra i criteri diagnostici di AR.

**IL REFERENCE CHANGE VALUE NEL MONITORAGGIO DEI TEST COAGULATIVI****F-24****V. Brescia, M. Tampoia, A. Miletì, G. Urso, A. Losito, F. Di Serio**

Patologia Clinica I, Policlinico Bari

*Scopo* del nostro lavoro è stato di determinare il reference change value (RCV) per i test di coagulazione utilizzando per il calcolo della variabilità biologica tempi lunghi di osservazione ed un sistema analitico stabile

*Materiali e metodi:* Sono state eseguite quattro determinazioni (una ogni tre mesi) di Prothombin time (PT INR) e activated partial thromboplastin time (APTTsec) in 38 soggetti (10F e 28M; età media 35.6 anni) apparentemente sani (nessun segno di disfunzione epatica o di stati infiammatori; nessuna assunzione di farmaci). Tutti i campioni di sangue sono stati trattati in condizioni standardizzate per ridurre la variabilità preanalitica. I test sono stati eseguiti su coagulometro CA7000 utilizzando DiagenTROMBOPLASTINA-S(Dasit) e BiopoolAPTT-EA(Dasit); il long-term analytical CV era di 2.1% per PT INR e 2% per APTTsec. La variabilità biologica intra-individuale (CVI) ed inter-individuale (CVG) sono stati calcolati mediante test ANOVA. Inoltre sono state utilizzate le formule:  $RCV = 2 \sqrt{1/2 \times 1.96 \times (CVA^2 + CVI^2)}$ ;  $II = CVI/CVG$

*Risultati:* vedi tabella

*Conclusioni:* Modifiche del valore del PT INR > del 20,28% e/o dell'APTTsec > del 14,67% riscontrate in un individuo tra due determinazioni successive possono indicare variazioni clinicamente rilevanti ascrivibili a patologie o all'assunzione di farmaci

test	Media	ds	CV <sub>A</sub> %	CV <sub>I</sub> %	CV <sub>G</sub> %	II	RCV %
PT INR	1,01	0,05	2,1	5,2	8,8	0,59	20,28
APTT sec	37,04	2,88	2,0	3,5	8,4	0,41	14,67

**BRIDGING TAO-EPARINA: ESPERIENZA DELL'U.O. DI PATOLOGIA CLINICA DEL P.O. S. CHIARA DI TRENTO****G-01****S. Dazzi, L.G. Menghini, C. Lorenz, S. Deimichei, P. Caciagli**

U.O. di Patologia Clinica Ospedale S. Chiara di Trento

*Introduzione:* Nei pazienti anticoagulati a rischio trombo-embolico basso-moderato, che vanno incontro a procedure chirurgiche con rischio di sanguinamento senza possibilità di effettuare un'emostasi locale efficace, come negli interventi per cataratta con anestesia retro bulbare, la TAO deve essere momentaneamente sospesa e sostituita da EBPM in modo da ottenere un valore di INR < 1.5. La nostra U.O. da circa un decennio è coinvolta in maniera diretta nella gestione dei pazienti sottoposti ad intervento di cataratta, con anestesia retrobulbare, assistendo il chirurgo non solo mediante la determinazione dei parametri biologici, ma anche nella preparazione dello schema terapeutico con embricazione della terapia eparinica. Al fine di agevolare questo percorso assistenziale e migliorare la qualità totale del servizio offerto è stato messo a punto un protocollo operativo.

*Scopo:* Scopo del lavoro è valutare l'efficacia del protocollo operativo adottato dalla nostra UO per i pazienti TAO da sottoporre ad intervento chirurgico per cataratta con anestesia retrobulbare e verificare il miglioramento dell'appropriatezza d'impiego di EBPM rispetto al protocollo standard FCSA.

*Metodi:* Sono stati valutati retrospettivamente, nel biennio 2006-2007, 58 pz (31 femmine e 27 maschi, età media 78 anni e range 55-88 anni) in terapia anticoagulante (95% Coumadin e 5% Sintrom) a rischio medio-basso di tromboembolismo (84% con FA di cui il 60% isolata), che si sono attenuti scrupolosamente allo schema terapeutico. Il nostro protocollo prevede la sospensione della TAO nei 3 giorni precedenti l'esecuzione dell'intervento (se paziente è in range terapeutico al momento della sospensione) ed inizio dell'eparina al giorno -2 (usando dosi profilattiche di EBPM ogni 24 h); ripresa della TAO il giorno dell'intervento (se non controindicazioni) con una dose doppia rispetto a quella abituale, ugualmente al giorno +1, per passare a una dose del 50% superiore a quella abituale al giorno +2 e alla dose abituale al giorno +3 con sospensione dell'eparina, se INR è > 2.

*Risultati:* L'applicazione del nostro protocollo ha permesso di raggiungere un valore medio di INR pre-intervento di 1.38, un valore medio al giorno +3 dall'intervento di 2.20, con un raggiungimento dell'obiettivo pre-intervento (INR < 1.5) nel 77.6% dei pazienti e dopo ripresa della TAO (INR > 2) nel 70.7% dei casi; di questi il 92.7% rientrava nel range terapeutico ottimale (INR 2-3).

*Conclusioni:* Nella nostra esperienza l'applicazione di questo protocollo si è dimostrata efficace nell'ottimizzazione della gestione dei pazienti TAO a basso rischio sottoposti ad intervento chirurgico per cataratta con anestesia retrobulbare e nella razionalizzazione dell'utilizzo in profilassi di EBPM con un contenimento dei costi.

**DIAGNOSTICA SIEROLOGICA DELLA CELIACHIA: NOSTRA ESPERIENZA ORGANIZZATIVA****G-02****B. Porcelli<sup>1,2</sup>, C. Scapellato<sup>2</sup>, P. Rossi<sup>2</sup>, L. Pieri<sup>2</sup>, S. Martini<sup>2</sup>, L. Regoli<sup>2</sup>, L. Terzuoli<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Scienze-Endocrino Metaboliche e Biochimica, Università degli Studi di Siena, Siena;<sup>2</sup>UOC Laboratorio Analisi Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

*Scopo del lavoro.* Nell'ambito della riorganizzazione presso la AOUS della Diagnostica di Laboratorio e nell'ottica del Miglioramento Continuo della Qualità, la diagnostica sierologica relativa alla malattia celiaca (MC) (anticorpi anti-transglutaminasi, anti-endomisio, anti-gliadina) è stata trasferita alla UOC Laboratorio Analisi Cliniche. Riportiamo la nostra esperienza riguardo all'organizzazione del settore celiachia, dalla fase pre-analitica alla fase post-analitica.

*Materiali e Metodi.* Fase pre-analitica: codifica degli analiti per l'accettazione on-line; creazione di un unico foglio di lavoro che riporta tutti i markers anticorpali di nostra pertinenza; conservazione in aliquote della provetta madre. Fase analitica: organizzazione delle sedute analitiche; introduzione dei controlli di qualità esterni (abbonamento ai Programmi di Valutazione Esterna di Qualità, Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Azienda Ospedaliera Universitaria di Bologna) per tutti gli analiti. Fase post-analitica: strutturazione del referto; definizione dei diversi percorsi diagnostici e conseguente referto interpretativo.

*Risultati.* La codifica degli analiti ha portato alla stesura di codici di accettazione semplici e di pronto utilizzo per gli operatori. Il foglio di lavoro unico ha permesso di avere, per ogni singolo paziente, il panorama di tutti gli analiti richiesti, facilitando la fase di aliquotazione della provetta madre. Sono state programmate più sedute analitiche settimanali per l'impossibilità di gestire in un'unica seduta i dosaggi dei vari autoanticorpi, eseguiti attualmente con metodi completamente manuali. Il programma proposto dal Sant'Orsola per i controlli di qualità esterni permette l'invio dei risultati on-line, semplificando notevolmente le procedure. Il referto relativo ai markers anticorpali della MC riporta le caratteristiche richieste dall'ISO 15189: valori di riferimento e metodi di analisi ed è stato costruito in maniera tale da rispettare la veste grafica del referto del Laboratorio. Abbiamo definito opportuni percorsi diagnostici (1); da questi è scaturito un referto interpretativo con dei commenti, opportunamente codificati, che permettono a seconda delle situazioni di dare delle indicazioni precise al clinico.

*Discussione e Conclusioni.* Questo tipo di organizzazione tiene conto della realtà in cui operiamo, e permette di avere una completa tracciabilità del campione, di migliorare il tempo di risposta e di razionalizzare il percorso diagnostico.

(1) Tonutti E et al. RiMeL 2005, 2: 110-122.

**DIAGNOSTICA SIEROLOGICA DELLA CELIACHIA:  
CONGRUITA' DELLE RICHIESTE, NOSTRA ESPERIENZA****G-03****L. Terzuoli, C. Scapellato, L. Pieri, P. Rossi, B. Porcelli**

UOC Analisi Cliniche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

*Scopo del lavoro.* Nell'anno 2005 sono state pubblicate, ad opera del Gruppo di Studio Autoimmunità ed Allergologia(1), le più recenti linee guida riguardanti la malattia celiaca. In laboratorio, per la diagnosi ci si avvale principalmente di tre tipi di test: il dosaggio degli anticorpi antitransglutaminasi tissutale (tTG), il dosaggio degli anticorpi antigliadina (AGA) e il rilevamento degli anticorpi antiendomisio (EMA). Nell'ottica di una migliore appropriatezza della richiesta, le linee guida suggeriscono specifici percorsi e, fondamentalmente, li differenziano a seconda che i pazienti abbiano un'età al di sotto o al di sopra dei 5 anni. Prime indagini: tTG e IgA totali, per escluderne un eventuale deficit. Gli AGA hanno un valore diagnostico solo per i bambini con età < 5 anni, dato che per lo più si avrà sierconversione per anti-tTG tra i 5 e i 7 anni. L'aumento delle richieste per questa patologia ha comportato lo spostamento delle analisi al laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche. Durante la fase organizzativa di questa nuova diagnostica abbiamo valutato, nell'arco di tre mesi, i tipi di richieste pervenute, al fine di evidenziarne la congruità ed, eventualmente, poter impostare le necessarie correzioni.

*Materiali e Metodi.* I dosaggi sono eseguiti con i kit fornitici dalla Ditta Eurospital (Trieste): Eu-tTG IgA,  $\alpha$ -Gliatest S IgA e IgG (test ELISA); Antiendomysium (test IFI).

*Risultati.* Richieste analizzate: 546. Di queste il 68% erano richieste esterne all'ospedale. Solo il 17% riguardava pazienti con età < 5 anni. Per questo tipo di pazienti avevamo il 79% di richieste per tTG, l'83% per EMA, il 43% per AGA IgA, il 25% per AGA IgG. Nel 22% dei casi avevamo la richiesta contemporanea di tutti e quattro i dosaggi. Nel restante 83% dei pazienti, con età > 5 anni, avevamo il 65% di richieste per tTG, il 79% per EMA, il 46% per AGA IgA, il 35% per AGA IgG. Nel 19% dei casi avevamo la richiesta contemporanea di tutti i dosaggi.

*Discussione e Conclusioni.* Dall'analisi eseguita emerge la tendenza ad una richiesta globale dei test, senza seguire le tappe consigliate. Questo atteggiamento potrebbe essere in parte giustificabile dall'elevata percentuale di pazienti esterni all'ospedale, che con una richiesta completa evitano un loro eventuale ritorno al laboratorio. Non è però giustificabile l'elevata richiesta di AGA, sia IgA che IgG, nel gruppo di pazienti con età > 5 anni. Per contro, solo in bassa percentuale si verifica un eventuale deficit di IgA totali. Da quanto emerso sembrerebbe necessario intervenire per un miglioramento dell'appropriatezza della richiesta, indicando i corretti percorsi diagnostici.

(1) Tonutti E et al. RiMeL 2005, 2: 110-122.



## UNO STUDIO DI HEALTH TECHNOLOGY ASSESSMENT (HTA) APPLICATO ALLA GESTIONE DELLA SICUREZZA TRASFUSIONALE AL LETTO DEL PAZIENTE

G-04

**B. Milanesi<sup>1</sup>, M. Viganò<sup>2</sup>, A. Lama<sup>2</sup>, A. Ghedi<sup>3</sup>, A. Rovere<sup>4</sup>, P. Perini<sup>2</sup>, G. Barbaglio<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Laboratori Patologia Clinica A.O Desenzano (BS), <sup>2</sup>Servizio Immunoematologia e Medicina Trasfusionale A.O Desenzano (BS), <sup>3</sup>Servizio Ingegneria Clinica A.O Desenzano (BS), <sup>4</sup>Ufficio Qualità/Rischio Aziendale A.O Desenzano (BS), <sup>5</sup>Direzione Sanitaria Aziendale A.O Desenzano (BS)

*Scopo del lavoro:* una gestione efficace ed efficiente dei Processi sanitari, non può fare a meno di disporre di uno strumento di valutazione per l'introduzione di nuove tecnologie: l'Health Technology Assessment è un modello valido ed innovativo, utilizzato nella nostra A.O. dal 2005, che svolge una importante funzione di supporto nelle decisioni di politica sanitaria ai diversi livelli decisionali producendo valutazioni delle implicazioni cliniche, economiche, etiche, legali, oltreché organizzative, inerenti l'adozione di tecnologie.

*Materiali e metodi:* l'approccio allo studio di HTA applicato alla Gestione della Sicurezza Trasfusionale, ha previsto la costituzione di un gruppo di lavoro (Ing. Clinica, SIMT, Reparto pilota, Ufficio Qualità/Rischio, Provveditorato) attraverso il quale è stato sviluppato il progetto così articolato: 1-Analisi dei bisogni (prevenzione errori trasfusionali, identificazione al letto del paziente/operatori), 2-Applicabilità clinica (gestione richiesta trasfusionale, gestione dati trasfusionali), 3-Identificazione delle tecnologie alternative (tecnologie e sistemi presenti sul mercato al fine di individuare il sistema migliore per la realtà contingente, punti di forza, punti di debolezza), 4-Analisi comparata dell'impatto organizzativo sui Reparti (prove sul campo, somministrazione questionario di gradimento per valutazione operatività), 5-Analisi economica (costi diretti e indiretti).

*Risultati:* le informazioni raccolte per la valutazione da parte del gruppo di lavoro, hanno evidenziato omogeneità di visione. Il 100% dei questionari di gradimento somministrati dopo valutazione operativa ha dimostrato semplicità d'uso, miglioramento della sicurezza reale e percepita, accettabilità degli operatori. Il monitoraggio effettuato dal SIMT dei near miss (quasi eventi indesiderati) del Processo Trasfusionale, nel periodo Gennaio-Agosto 08, ha identificato 2 episodi di errata identificazione paziente/4600 richieste trasfusionali. L'analisi dei dati economici ha evidenziato potenziali modifiche dei costi assicurativi (un ospedale di un centro di 50mila persone deve pagare una polizza assicurativa che oscilla attorno a Euro 750.000 che può arrivare a Euro 1-2ml se strutture più grandi)con significativa riduzione del canone se applicato sistema di sicurezza al letto.

*Discussione e conclusioni:* l'attuazione di processi di HTA pone l'attenzione su una corretta determinazione dei bisogni clinici ed esalta inoltre la centralità del team multidisciplinare.

## INTEGRAZIONE TRA LABORATORIO E CLINICA NELLA GESTIONE DEL PAZIENTE ONCOEMATOLOGICO

G-05

**D. Tanca\*, G. Devoto\*, M. Scudelletti\*\*, G. Berisso\*\*, A. Raffo\*\***

\* Laboratorio Analisi ASL 4 Chiavarese, Lavagna; \*\* Medicina Interna ASL 4 Chiavarese, Sestri Levante

*Scopo del Lavoro:* presentare un modello organizzativo che prevede la gestione integrata, diagnostico-terapeutica, del Paziente oncoematologico.

*Materiali e Metodi:* da circa due anni abbiamo attivato, in collaborazione con il reparto di Medicina Interna, un Ambulatorio Interdipartimentale per la Diagnostica e Terapia delle patologie oncoematologiche. L'attività viene svolta presso la sede del Laboratorio Centrale, a cadenza settimanale, con la presenza di un Medico del Laboratorio e di un Medico Internista. Attualmente il carico di lavoro si attesta sulle 10 visite settimanali. Tale attività integra quella effettuata da un analogo Ambulatorio di Ematologia Clinica gestito dalla Medicina di Sestri Levante.

*Risultati:* abbiamo raggiunto i seguenti obiettivi: 1) riduzione dei tempi di attesa per visite ematologiche entro i parametri regionali 2) ottimizzazione della richiesta di esami per sospetto di patologia oncoematologica 3) rivalutazione del ruolo professionale del Medico di Laboratorio 4) stesura e applicazione di linee guida condivise per la Diagnostica e Terapia della Leucemia Linfatica Cronica e delle Mielodisplasie 5) ottimizzazione dei tempi di ricovero e di Day-Hospital.

*Discussione e Conclusioni:* molti sono gli strumenti per la qualificazione e/o riqualificazione professionale del Medico di Laboratorio, in un momento di proliferazione di nuove figure professionali e in assenza di chiari riferimenti normativi. La nostra esperienza consolidata, unica nella Regione Liguria, che si affianca a quella pluridecennale incentrata sulla Gestione della Terapia Anticoagulante Orale, è la dimostrazione che non esistono barriere culturali all'integrazione tra Medici di Reparto e Medici di Laboratorio, nessun ostacolo di tipo burocratico amministrativo allo sviluppo di nuove attività diagnostico-terapeutiche. Spesso quello che manca a noi Medici di Laboratorio è la sufficiente voglia di cambiare e di assumersi delle nuove responsabilità professionali che in realtà sono parte integrante del nostro ruolo di Medici.

**“GESTIONE DEL RISCHIO CLINICO IN LABORATORIO”: LA NOSTRA ESPERIENZA****G-06****V. Pellegrino, N. Tricarico, G. Candido, S. Rao, M. Cannata, M. Salvia, S. Scola, B. Palma**

Laboratorio di patologia clinica P.O. Civico - A.R.N.A.S. Civico-Ascoli-Di Cristina - Palermo

*Scopo del lavoro.* Lo studio dell'errore rappresenta un momento centrale nel miglioramento della qualità stessa, anche se difficoltà insorgono al momento della sua stima e documentazione. Il test di laboratorio influenza almeno il 70% delle decisioni cliniche, di qui la capacità di esprimere la sua enorme potenzialità. Pertanto non poteva non suscitare interesse l'insieme delle problematiche che gravitano sulla gestione complessiva del paziente e del rischio clinico. Il nostro laboratorio, in collaborazione con l'U.O. per la Qualità ha attuato un progetto della durata di circa un anno, finalizzato a monitorare e ridurre il fenomeno degli errori in laboratorio, diffondendo la cultura del “segnalare e non colpevolizzare”, nonché della ricerca delle cause che generano o potrebbero generare l'errore.

*Materiali e metodi.* Il progetto si è articolato in due fasi. La prima (marzo- settembre 2007) è servita a creare un team (4 medici, 4 tecnici e un biologo) allo scopo di formare ed informare gli operatori che hanno aderito al progetto; successivamente è stato pianificato un sistema di Incident Reporting ideato su base volontaria ed anonima. La seconda fase (ottobre 2007-gennaio 2008) si è basata su una serie di incontri durante i quali sono stati presentati i risultati dell'Incident Reporting e altri dati relativi a un questionario a scelta multipla.

*Risultati.* L'analisi dei dati raccolti durante il progetto ha consentito di individuare dei “punti critici” di potenziali rischi (applicando il sistema FMEA) e di pianificare un percorso proattivo che mirasse all'individuazione/ eliminazione delle criticità del sistema prima che l'incidente si verifichi. Quest'ultimo aspetto è stato attuato con la stesura di una RCA allo scopo di studiare in maniera critica gli incidenti e i near-miss più frequenti nell'ambito dell'intero processo (clinico, tecnico, organizzativo) e con la finalità di pianificare strategie correttive da implementare. Dall'elaborazione dei dati si è inoltre riscontrata una maggiore incidenza di errori nella fase pre e post-analitica rispetto alla fase analitica, a conferma dei dati riportati in letteratura.

*Discussione e conclusioni.* Il progetto ha avuto sicuramente il grosso merito di avere coinvolto attivamente tutte le figure professionali del laboratorio e di avere evidenziato lo stretto legame esistente tra rischio clinico e Qualità, facce opposte della stessa medaglia, se è vero che un evento sfavorevole rappresenta l'opposto di “ciò che soddisfa le esigenze implicite ed esplicite del paziente/ cliente”, che è la più elementare definizione di Qualità.

**PTH INTRAOPERATORIO: UN'ESPERIENZA MULTIDISCIPLINARE****G-07****E. Toffalori<sup>a</sup>, G. Pegoretti<sup>a</sup>, S. Dematte<sup>b</sup>, P. Valduga<sup>c</sup>, C. Eccher<sup>c</sup>, P. Caciagli<sup>a</sup>**<sup>a</sup>Patologia Clinica, <sup>b</sup>Medicina Generale, <sup>c</sup>Chirurgia Generale, Ospedale Santa Chiara APSS Trento

*Scopo.* Implementare il dosaggio del Paratormone (PTH) intraoperatorio con l'obiettivo di migliorare l'efficacia dell'intervento chirurgico nell'iperparatiroidismo primitivo (IPT).

*Materiali e metodi.* È stata realizzata una analisi di fattibilità valutando risorse strumentali, personale disponibile e tempi di risposta in urgenza. In collaborazione con il chirurgo e con l'endocrinologo è stato concordato un protocollo dopo analisi della letteratura e di altre esperienze; verificata la funzionalità dei trasporti e dei tempi di risposta; formalizzata una procedura dettagliata nei particolari operativi ed interpretativi dei valori del PTH. Campioni in provetta con EDTA analizzati su Elecsys 2010 Roche Diagnostics, metodo ECLIA, tempo di esecuzione 18 minuti. Prelievi eseguiti in S.O. prima della escissione, dopo 10 e dopo 20 minuti dall'asportazione della ghiandola. Consegna immediata del campione al tecnico di riferimento del settore urgenze e comunicazione telefonica in SO entro 30/40 minuti. I criteri per valutare la completa asportazione del tessuto ipersecernente prevedevano un calo almeno del 50% dopo 10 minuti e dell'80% dopo 20 minuti. È stato concordato con il personale del reparto chirurgico di raggruppare più sedute operatorie in uno stesso giorno e di avvertire il laboratorio con alcuni giorni di anticipo.

*Risultati.* Il PTH intraoperatorio è stato eseguito su sette interventi. In un caso il dosaggio è stato determinante portando ad una immediata ulteriore escissione con un successivo calo di oltre l'80% i valori iniziali. In tutti gli altri casi il calo dei valori del PTH già dopo 10 e 20 minuti dimostrava la corretta asportazione. Il protocollo è stato validato per funzionalità e rispetto dei tempi di risposta.

*Discussione e conclusione.* La guarigione dell'IPT è possibile solo asportando tutto il tessuto paratiroideo iperfunzionante. Numerose sono le difficoltà della riuscita chirurgica: distinguere un adenoma da adenomi multipli o da iperplasia; possibile ectopia o ghiandola soprannumeraria o di piccole dimensioni. Il dosaggio del PTH intraoperatorio, possibile per la breve emivita, ha permesso di documentare in fase chirurgica la completa asportazione o di attivare un'immediata ulteriore escissione. Nella nostra esperienza è stata essenziale la collaborazione e comunicazione tra il personale di chirurgia e del laboratorio, nonché la collaborazione dell'endocrinologo per la selezione dei pazienti da inviare al chirurgo. La coordinazione tra i diversi professionisti e la disponibilità del PTH intraoperatorio ha creato i presupposti per continuare ad eseguire nell'UO Chirurgia Generale dell'Ospedale di Trento tutti gli interventi chirurgici per IPT evitando l'invio dei pazienti in sedi extraprovinciali.

## THE OUTCOME OF REGIONAL URINE GROUP EXPERIENCE: STRENGTH OF NEW METHODOLOGICAL APPROACHES BY A VOLUNTARY TEAM OF CLINICAL PATHOLOGISTS

G-08

**A. Caleffi<sup>1</sup>, M.G. Silvestri<sup>2</sup>, P. Menozzi<sup>3</sup>, R. Balducci<sup>4</sup>, P. Billi<sup>5</sup>, I. Bugoni<sup>6</sup>, E. Dieci<sup>6</sup>, P. Selva<sup>7</sup>, R. Agnoletti<sup>8</sup>, M. Brini<sup>3</sup>, E. Poggi<sup>6</sup>, G. Volpones<sup>4</sup>, C. Monica<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Clinical Patology Laboratory Azienda Ospedaliero-Universitaria Parma, <sup>2</sup>Policlinico S. Orsola-Malpighi Bologna, <sup>3</sup>Azienda Ospedaliera Reggio-Emilia, <sup>4</sup>AUSL Rimini, <sup>5</sup>AUSL Ravenna, <sup>6</sup>AUSL Piacenza, <sup>7</sup>Ospedale Maggiore AUSL Bologna, <sup>8</sup>AUSL Forlì

*Aim:* Chemical and morphological urine examination was for many years considered of little impact or obsolete. With the increased technology in automation for sediment, the attention has moved on standardization of the analytical process. Technological innovation has encouraged specialists to reorganize and share a new way to manage the analytical processes. Now it seems to revive the importance of a good sediment examination and we had the intent to create moments of debate among specialists in the field

*Materials and methods:* On June 2006 we organized the first Urine Regional Improvement Group Meeting at University Hospital of Parma. The invitation was extended to all involved in the Urine Divisions of Emilia-Romagna Laboratories. The aim was formalised by sending the notice at the Regional Health Agency. The team used a working list of emerging issues, assigned the topics to analyse; than were produced documents and planned about following meetings. A report was written every time and sent to each participant. The events has been introduced by Parma Hospital training office. Individual activity consists on search for bibliographic documentations, development of procedures and protocols, data and specimens collection to produce experimental analysis.

*Results:* Since June 2006 we have organized 6 meetings. We agreed to choose threshold values about urine reports; we have made information and support about the appropriateness of the request and the collected samples and pre-analytical phases with indications shared for outpatients and physicians; were discussed national and international Guidelines; in 2007 were organized two regional scientific courses of high specialization for experts in urinary morphology in Parma and Bologna, and in 2008 we cared for urine preanalytical problems.

*Conclusions:* We focused threshold decision to standardize the methodologies, to revise the reporting and issues of interpretation on patients and diseases. This methodology has highlighted differences also in preanalytical and post analytical phases, sometimes depending on relationships with operators and the organization of the system for collecting samples and redistribution of reports. Were improved the conditions for exchange of experiences and scientific information trying to resolve problems not alone but in team. The goal would be to improve quality for patient safety as final result.

## VALUTAZIONE DEL BENESSERE ORGANIZZATIVO DEI TECNICI DI LABORATORIO. STUDIO PRELIMINARE

G-09

**D. Nigris\*, A. Tamigi<sup>o</sup>**

\*Azienda Ospedaliero-Universitaria-Laboratorio Analisi d'Elezione-Udine

<sup>o</sup>ASS 5 Bassa Friulana - Laboratorio Analisi - Palmanova (UD)

*Scopo del lavoro:* Il presente è uno studio che analizzerà, oltre l'organizzazione dei Laboratori Analisi del Friuli Venezia Giulia, il tema del benessere organizzativo nel mondo dei Tecnici di Laboratorio, inteso come insieme dei nuclei culturali, dei processi e delle pratiche organizzative che animano la convivenza nei Laboratori d'analisi, promuovendo, mantenendo e migliorando la qualità della vita e il grado di benessere fisico, psicologico e sociale.

*Materiali e metodi:* Per questo studio preliminare è stato predisposto un questionario sottoposto al personale tecnico di un laboratorio di medie dimensioni. La scelta del questionario è dovuta ai noti vantaggi di rapidità ed anonimato. La popolazione è composta totalmente da persone di sesso femminile, con un età mediana di 45 anni (range: 29-61anni); circa il 77% ha un età compresa tra i 35 e i 54 anni, mentre il restante 23% si suddivide tra persone di età superiore ai 55 anni e giovani entro i 34 anni. Tutti hanno un contratto a tempo indeterminato; il 15% sono impiegati a tempo parziale. I titoli di studio vanno dal corso di abilitazione alla laurea in biologia.

*Risultati:* Sono stati assegnati dei punteggi che vanno da 1=insufficiente a 4=buono alle possibili risposte. Alla prima domanda, riguardante la sicurezza, la media è di 2,8; per la seconda, riguardante la funzionalità dell'ambiente di lavoro, è pari a 3,1. Per la terza domanda, riguardante la comunicazione e la chiarezza degli obiettivi, la media è nettamente insufficiente (1,5). Il quarto quesito, riguardante la valorizzazione delle competenze, ha avuto una media di 2,2 mentre il quinto, riguardante la relazione fra colleghi, di 3,3. Le relazioni con i dirigenti hanno raggiunto la sufficienza con un 2,5, inferiore la media relativa alla divulgazione delle informazioni lavorative, con una media di 2,0; infine la domanda sull'innovazione ha avuto una risposta pari al 3,2.

*Discussione e conclusione:* Da quanto è emerso i punti di forza di questa organizzazione sono la sicurezza e la funzionalità dell'ambiente di lavoro, le relazioni interpersonali fra Tecnici e il grado di innovazione tecnologica. Risultano insoddisfacenti la conoscenza e la condivisione degli obiettivi e l'accesso alle informazioni pertinenti lo svolgimento del lavoro. L'ambiente relazionale con i dirigenti è da ritenersi mediamente soddisfacente. Rapportando i dati ai titoli di studio emerge che la percezione del benessere organizzativo è omogeneo per tutti i percorsi formativi. Questi risultati sono preliminari rispetto ad uno studio che vedrà coinvolti nei prossimi mesi tutti i Tecnici di Laboratorio operanti in strutture di Analisi Cliniche della Regione Friuli Venezia Giulia, seguirà la pubblicazione dei dati e soprattutto delle conseguenti analisi.

**IMPIEGO DI CONSERVANTI PER L'ESAME DELLE URINE****G-10**

**P. Billi<sup>1,2</sup>, C. Cimmino<sup>1</sup>, S. Laghi<sup>1</sup>, V. Zanardi<sup>1</sup>, M.G. Silvestri<sup>2</sup>, A. Caleffi<sup>2</sup>, R. Balducci<sup>2</sup>, P. Menozzi<sup>2</sup>, I. Bugoni<sup>2</sup>, E. Dieci<sup>2</sup>, P. Selva<sup>2</sup>, R. Agnoletti<sup>2</sup>, M. Brini<sup>2</sup>, E. Poggi<sup>2</sup>, G. Volpones<sup>2</sup>, C. Monica<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio Analisi AUSL Ravenna – P.O. Lugo; <sup>2</sup>Gruppo Urine Regione Emilia-Romagna

*Scopo del lavoro:* La concentrazione degli esami presso Laboratori di dimensioni medio/grandi, determina allungamento dei tempi preanalitici; per l'analisi delle urine ciò comporta un mancato rispetto delle raccomandazioni delle Linee Guida internazionali (1). E' stato valutato l'impiego di conservanti per garantire la migliore conservabilità nel tempo delle urine per l'esecuzione dell'esame completo.

*Materiali e Metodi:* Sono stati esaminati 100 campioni presi dalla routine. Per la raccolta delle urine è stato utilizzato contenitore sterile a bocca larga e prelievo da mitto intermedio, è stata fatta aspirazione in provette sottovuoto e sono state prodotte tre aliquote per : a) provetta "Greiner bio-one urine colture"; b) provetta " Becton Dickinson UA preservation tube"; c) provetta senza alcun conservante "Greiner bio-one urine no additive". Le 3 aliquote sono state esaminate al tempo 0 (entro 1 ora dalla raccolta) e dopo 6 ore; su tutti i campioni è stato eseguito l'esame chimico su strumento Aution Max Menarini, l'esame citofluorimetrico su UF-100 Dasit, mantenendo le provette a e b a temperatura ambiente e la provetta c a + 4°C.

*Risultati:* I risultati ottenuti sono stati confrontati con il dato di base rappresentato dal campione di urine raccolto in provetta senza conservante ed esaminato al tempo 0. Il criterio usato per valutare la concordanza è stato quello proposto da Kouri (2) e cioè un aumento del 100% od una riduzione del 50% di ciascun parametro. La migliore concordanza è stata ottenuta con le urin e senza additivi conservata a 4 gradi C, per le provette a e b si sono avuti concordanze accettabili. Con i conservanti attualmente disponibili in commercio è stata rilevata interferenza di fondo nel conteggio citofluorimetrico degli elementi corpuscolati, in particolare sovrastima degli eritrociti sui campioni che, nella provetta di riferimento, presentano valori al di sotto del cut-off di normalità stabilito.

(1) ECLM-European Urinalysis Group. European Urinalysis Guidelines.Scand J Clin Lab Invest 2000;60: Supplement 231

(2) Kouri T, Malminiemi O., et al. Clin Chem Lab Med 2008 ;46(5):703-713

**MODIFICHE ORGANIZZATIVE CONSEGUENTI ALL'INTRODUZIONE DEL NUOVO SISTEMA INFORMATICO GESTIONALE DI LABORATORIO E DEL SETTORE PRE-ANALITICO: VANTAGGI E CRITICITA'**
**G-11**

**D. Nigris, S. Zinutti**

Azienda Ospedaliero-Universitaria, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Udine

*Scopo del lavoro:* L'introduzione del nuovo sistema informatico di laboratorio e della strumentazione preanalitica ha fatto sì che anche nella nostra azienda l'intero processo pre-analitico-analitico-post-analitico iniziasse ad essere del tutto tracciabile. L'introduzione di un sistema gestionale dialogante con gli analizzatori dei vari settori del Laboratorio ha permesso che la fase pre-analitica divenisse un "centro di controllo di processi". Lo scopo di questo lavoro è quello di andare ad analizzare quali siano i punti di forza e quelli critici in un organizzazione dinamica ed in via di completa riorganizzazione come è quella del Dpt di Medicina di Laboratorio dell'Azienda Ospedaliero Universitaria di Udine.

*Materiali e metodi:* La fase pre-analitica è seguita sia da personale che afferisce alla dotazione organica del Laboratorio, che da personale proveniente da altre realtà; il coordinamento delle risorse umane e l'ottimizzazione delle strumentazioni pre-analitiche risultano perciò particolarmente complessi. Queste problematiche possono essere affrontate soltanto tramite un innovativo modello tecnologico-organizzativo, quindi basato su ciò che l'industria ha messo a punto più di recente ma condiviso da tutte le figure professionali coinvolte. L'intero ciclo per i pazienti previsto nella nostra realtà prevede i seguenti passaggi: · Accettazione-CUP Analisi (pazienti esterni) · Check-in dell'attività esterna · Decentralizzazione della fase di accettazione interni · Passaggio in preanalitica · Carico dell'attività nel le liste di lavoro · Check-out a fine giornata lavorativa · Validazione risultati Firma Digitale · Stampa referti · Consegna referti ai pazienti esterni; invio diretto in cartella clinica elettronica dei referti dei pazienti in regime di ricovero. L'Information and Clinical Technology (ICT) rappresenta una risorsa strategica sempre più importante nella Governance del sistema sanitario e nel management del paziente. Vanno quindi risolti i problemi che hanno finora impedito la piena utilizzazione di questa risorsa in ambito sanitario. Appropriatelyzza del processo analitico: – Ottimizzazione dei flussi operativi e riduzione del TAT – check-in e tracciabilità – reflex testing – validazione tecnica e medica – assicurazione della qualità analitica (EQA)

*Risultati:* E' ben dimostrato che oltre il 50% dell'attività globale di laboratorio viene assorbita dalla fase non analitica e soprattutto dalla fase preanalitica (la fas e post analitica trova già oggi importanti e adeguate soluzioni nella computerizzazione del laboratorio). La maggior parte degli errori di Laboratorio si riscontrano nella fase preanalitica che, se eseguita non correttamente, pregiudica un risultato ottenuto mediante l' utilizzo delle tecnologie più sofisticate.

*Discussione e conclusione:* L'information Technology applicata alle fasi pre-analitiche, analitiche e post-analitiche della diagnostica di laboratorio alla luce delle nostre personali esperienze maturate negli ultimi anni si è dimostrata una scelta vincente. Assai critica risulta ancora la fase pre-analitica, il numero delle non conformità riscontrate è ancora elevato; l'avvio della strumentazione dedicata ha contribuito alla tracciabilità del campione a partire dal suo arrivo in laboratorio, di certo però non ha ridotto gli errori dalla precedente fase "pre-pre analitica".

## PROGETTO 2008 LA FORMAZIONE: STRUMENTO ATTIVO DI SUPPORTO DEI PROFESSIONISTI E ALL'ORGANIZZAZIONE DEL LAVORO DEL LABORATORIO

G-12

**F. Manoni, I. Bountis, G. Rosa, A. Granieri, K. Guerra, M. Pavanello, M. Ferrari, M.L. Girardi, G. Scarparo, M. Ercolin**

Servizio Medicina di Laboratorio Este-Monselice Az. ULSS 17 Regione Veneto

*Scopo del lavoro:* Il nostro periodo storico è contrassegnato dalla tecnologia. L'ingegno umano pare non avere limiti e le industrie sfornano continui avanzamenti tecnologici. La Legge di Moore prevede che la densità dei microprocessori (velocità e memoria) si raddoppi ogni 18 mesi. Le tecnologie bio-mediche dopo aver pervaso tutto l'Ospedale, si diffondono nel territorio. Il Laboratorio è evoluto con il più alto contenuto tecnologico: flusso continuo dei referti e TAT sempre più brevi. Questo "Nirvana tecnologico" nasconde una grande insidia: il gap tra potenzialità ed operatività frutto di una formazione tradizionale che spesso è: 1)lontana dai reali contenuti operativi; 2)carente di coinvolgimento diretto, pratico, verificato. Spesso siamo coinvolti in iniziative "fast-food" con abbuffate di modelli precotti, ECM muniti da consumare in fretta e le cui ricadute nella pratica sono limitate o nulle. Procedendo dalle esigenze emerse nei riesami periodici della direzione abbiamo definito un progetto formativo come un strumento attivo di supporto all'organizzazione del lavoro in grado di colmare il gap fra tecnologie disponibili e conoscenze individuali

*Materiali e metodi:* Il nostro Servizio propone un progetto formativo annuale condiviso fra tutti gli operatori del Laboratorio Analisi con tracciabilità del percorso di miglioramento dei processi. Il progetto contempla gli aspetti essenziali del miglioramento continuo: il riesame dell'attività prodotta, il coinvolgimento di tutto il personale ripartito per Aree diagnostiche, le azioni correttive (GdL) le azioni preventive e di formazione (Tutor). Il personale coinvolto è di 61 operatori (TSLB, Dirigenti e Infermieri) del MediLab.

*Risultati:* Il progetto è stato accreditato regione Veneto come Formazione Sul Campo: 30 Crediti ECM assegnanti per operatore. Prevede: tre incontri di due ore per anno e un'ora di autoformazione per settimana, al progetto quindi è stato riconosciuto tempo per l'autoformazione tracciata dal report individuale "elementi in entrata delle riunioni".

*Conclusione e discussione:* Coerentemente con l'avvio della sperimentazione del progetto VEN FSC n° 135 si è avviato un percorso di confronto e di verifica. La Formazione sul Campo ha preso avvio con gennaio 08 e si è progressivamente consolidata, verificando interesse e positiva rispondenza da parte degli operatori: ad agosto 08 risultano 14 verbali di riunioni d'area con 42 elementi in uscita per il miglioramento della qualità. Crediamo si possa affermare che la FSC in corso di realizzazione rappresenti uno strumento di crescita culturale trasversale, con riflessi immediati e tangibili sull'organizzazione del lavoro.

## IL SELF MONITORING IN SARDEGNA. REALTÀ E PROSPETTIVE DELL'AUTODIAGNOSI IN FARMACIA

G-13

**N. Camusso**

Serv.di Medicina di laboratorio P.O. "San Martino" A.S.L n°5 Oristano

Come in altre realtà, anche in Sardegna si è sviluppato da diverso tempo, all'interno delle farmacie il servizio di self monitoring o autodiagnosi. Con l'intento di conoscere lo sviluppo e l'organizzazione del servizio e in previsione di una possibile collaborazione con le stesse, la sez.Sardegna della Società Italiana di medicina di Laboratorio ha collaborato con la Fond.ne Santa Maria Valverde nella realizzazione di un'incontro sul tema: "Esternalizzazione degli esami di laboratorio" rivolto ai farmacisti.

*Materiali e metodi:* All'interno dell'incontro è stato somministrato ai partecipanti, provenienti da diverse parti dell'isola, un questionario composto da sette domande, riguardanti la grandezza della farmacia, l'esistenza o meno di un settore dedicato al Self Monitoring, la presenza di un sistema di gestione della qualità, l'eventuale volontà di partecipare ad un programma di valutazione esterna della qualità, e per quelle farmacie che non fornivano tale servizio, se esisteva la volontà di attivarlo.

*Risultati:* Su trentuno questionari somministrati solo nove farmacie hanno presente un settore dedicato al Self Monitoring, e soltanto due hanno un sistema di gestione attivo. I parametri maggiormente dosati sono: Glicemia, Assetto Lipidico, Hb. Tutte le farmacie dove è presente un settore dedicato e quelle che intendono aprirne uno si sono dichiarate favorevoli a partecipare ad un programma di valutazione esterna di qualità. Le farmacie dov'è presente questo settore sono medio/piccole, e non tutte hanno nelle vicinanze un presidio ospedaliero.

*Conclusioni.* Riteniamo che lo sviluppo del Self Monitoring sia ben più ampio di quello che risulta dal la valutazione del questionario. Risulta evidente anche dai colloqui intercorsi all'interno dell'incontro, che il discorso Self Monitoring suscita interesse, se pur con qualche remora, legato ai costi di gestione. Ma tutti si sono dichiarati disponibili ad attivare un dialogo su argomenti come valutazione esterna di qualità, riferita non solo al settore Self Monitoring, formazione ed aggiornamento su argomenti di medicina di laboratorio, soprattutto come possibile intervento del farmacista quale prima interfaccia del paziente che allo stesso si rivolge per l'esecuzione e l'interpretazione del test. Riteniamo che questi due ultimi punti siano di notevole importanza per la Società Italiana Medicina di Laboratorio, che potrebbe svolgere un ruolo non solo di consulente per le farmacie, ma anche avere un ruolo di formatore/informatore su tali argomenti. La sez.Sardegna ringrazia il presidente della F.ne Santa Maria Valverde per aver dato la possibilità di somministrare e il questionario.

## IL PAZIENTE AL CENTRO DELL'ESAME DI LABORATORIO: COMUNICAZIONE TEMPESTIVA DI VALORI EMATICI CRITICI

G-14

**F. Minetti, G. Seghesio, R. Scarso**

Dipartimento di Patologia Clinica - Laboratorio Analisi - Ospedale San Paolo - Savona

*Scopo del lavoro:* I risultati degli esami di laboratorio, quando superano i valori di panico, possono evidenziare un quadro clinico particolarmente critico, tanto da richiedere la comunicazione tempestiva dei dati al medico curante, il quale metterà in atto gli interventi più efficaci per evitare la compromissione della salute del paziente.

*Materiali e metodi:* A gennaio 2007, durante esperienza di brainstorming tra il Direttore e i Dirigenti dei 3 Laboratori Analisi del Dipartimento di Patologia Clinica della ASL2Savonese è stata revisionata la tabella degli analiti per i quali effettuare la comunicazione tempestiva e relativi valori di criticità, con riferimento a raccomandazioni della JCAHO, IFCC, CAP, RCP, o affidandosi a criteri di prudenza derivanti dall'esperienza sul campo. La tabella è stata inserita nella istruzione di lavoro dedicata alla validazione dei dati. Quando un Dirigente valida un dato altamente patologico, per esami non urgenti, previa esclusione di errori in qualsiasi fase del processo analitico, si attiva per comunicarlo nel minor tempo possibile al clinico coinvolto nel trattamento del paziente a livello diagnostico e terapeutico. Di grande ausilio ai Dirigenti del Laboratorio Analisi nella evidenziazione tempestiva dei valori critici è il modulo DNSEV (della ditta Noemalife), sistema esperto di validazione, che è in grado di filtrare i test con i risultati critici evidenziati da allarmi generati sulla base di regole inserite nella fase iniziale di configurazione. Ai fini di rendere omogeneo l'operato all'interno del Laboratorio, viene registrata nel sistema informativo gestionale l'avvenuta notifica precisando a chi è stata effettuata. Per agevolare questa fase sono state precodificate delle note nel sistema informativo gestionale del Laboratorio, note che vengono stampate automaticamente sul referto.

*Risultati:* Il monitoraggio costante delle comunicazioni effettuate dal personale del Laboratorio Analisi dell'Ospedale San Paolo, evidenzia che vi è modesta preponderanza di comunicazioni al clinico (58%) piuttosto che all'interessato (42%) e che i casi impossibili di notifica sono molto rari (n°3 in 19 mesi).

*Discussione e conclusione:* L'iniziativa ha aumentato l'interazione tra clinica e laboratorio e ha trovato gradimento sia tra i clinici che tra i pazienti (ringraziamenti). Visto il congruo numero di segnalazioni di pazienti inviati al pronto soccorso e quindi a ricovero ospedaliero per effettuare opportuni interventi volti a migliorare lo stato di criticità, a maggio 2008 si è ampliata la tabella di analiti per i quali effettuare la comunicazione. I costi vivi sostenuti dall'azienda (costo delle telefonate) sono irrisori in confronto ai benefici in termini di sicurezza di cui giovano i pazienti.

## VALUTAZIONE DI STRUMENTAZIONE AUTOMATICA ALFRED-HB&L PER SCREENING UROCOLTURE: ASPETTI GESTIONALI

G-15

**M.R. Cavallo, D. Carpi, E. Peyronel, D. Enrici Baion, E. Richetta, S. Berti, A. Guglielmet, A. Laurenti, A. Pasqualucci**

Presidio Ospedaliero di Pinerolo ASL TO 3

*Scopo del lavoro:* La rapidità di refertazione delle urinocolture consentita dal sistema automatico Alfred-HB&L per urinocoltura (3 ore) offre la possibilità di valutare, con maggiore tempismo la necessità di prescrizione e somministrazione di terapia antibiotica ed evitare i trattamenti superflui, situazione difficilmente realizzabile utilizzando i metodi tradizionali. Scopo del lavoro è valutare l'entità dei benefici, per il paziente e per l'Azienda Sanitaria, di un referto tempestivo di urinocoltura.

*Materiali e Metodi:* Sono state condotte due indagini nei tre reparti di medicina, in urologia e in nefrologia del presidio Ospedaliero di Pinerolo:

- la prima per definire la prassi terapeutica seguita nei casi di sospetta infezione urinaria, i tempi e i modi di prescrizione e somministrazione nonché di modifica o sospensione della terapia stessa nel caso di accertata inutilità del farmaco somministrato;
- la seconda per valutare i cambiamenti e i benefici ottenuti con l'introduzione della nuova metodologia

*Risultati:* La prima indagine ha rilevato che era consuetudine l'avvio della terapia antibiotica prima di conoscere l'esito dell'urinocoltura, con il rischio di cure antibiotiche costose ed improprie. La seconda, condotta dopo quattro mesi di utilizzo di Alfred-HB&L, ha evidenziato un netto miglioramento nell'appropriatezza di prescrizione.

*Discussione e Conclusioni:* I risultati ottenuti e la possibilità di ricevere in tempi più rapidi il referto dell'urinocoltura e di refertare in poche ore i negativi ci permette di ben sperare in un risultato positivo in termini di riduzione di spesa, nella limitazione delle antibiotico resistenze e nel contenimento delle infezioni da Clostridium difficile. Un connesso progetto di sviluppo di nuovi collegamenti informatici permetterà a breve di estendere questi vantaggi anche ai medici di medicina generale che potranno collegarsi in rete al laboratorio e verificare in tempo reale la necessità o meno di procedere con terapia antibiotica.

**NUOVI SCENARI DEL PROGRAMMA NAZIONALE DI EDUCAZIONE CONTINUA IN MEDICINA****G-16****S. Lazzerini**

Laboratorio Chimica Clinica ed Ematologia - Nuovo Ospedale San Giovanni di Dio – Firenze

*Scopo del lavoro:* Il programma Nazionale di Educazione Continua in Medicina (ECM), dopo una prima fase sperimentale (2002-2007), è stato riordinato con l'accordo della Conferenza Stato/Regioni del 1° agosto 2007 per il triennio 2008-2010. Siamo passati da un programma ECM dove l'attenzione era rivolta ai singoli eventi ed ai progetti, accreditati direttamente dalla Commissione Nazionale per la formazione continua (CN) e dalle Regioni (secondo criteri comuni, condivisi attraverso accordi della Conferenza Stato/Regioni) ad un sistema rivolto al miglioramento della qualità dell'offerta formativa, attraverso organizzazioni responsabili della programmazione, realizzazione e valutazione dei processi di formazione con tutta e delle loro relazioni.

*Materiali e metodi:* L'ECM è stato istituzionalizzato in Italia dal DL 30 dicembre 1992, n. 502, integrato in seguito dal DL 19 giugno 1999, n. 229; l'ECM è elaborato dalla CN (costituita con decreto del Ministero della salute del 5 luglio 2000, riorganizzata nel 2008) e riguarda tutto il personale sanitario, sia pubblico che privato (circa 1.000.000 di operatori). Il Credito Formativo ECM (CF) misura l'impegno ed il tempo che ogni operatore dedica all'aggiornamento ed al miglioramento della qualità professionale. Il riordino dell'ECM prevede per il triennio 2008-2010 l'acquisizione di 150 CF, 50 CF l'anno (minimo 30 e massimo 70); almeno 90 CF dovranno essere "nuovi", mentre i rimanenti 60 CF potranno derivare dal riconoscimento di quelli acquisiti nella fase sperimentale. I CF sono assegnati direttamente ai partecipanti ad eventi formativi dai "provider" accreditati, soggetti attivi nel campo della formazione continua in sanità che rispondono ad una serie di requisiti minimi; i CF devono essere registrati presso un'anagrafe formativa regionale ed una nazionale, questa ultima gestita dal Consorzio per la Gestione dell'Anagrafica delle Professioni Sanitarie (COGEAPS). L'atto conclusivo del nuovo percorso procedurale è la certificazione dei CF; questa è eseguita dall'Ordine, dal Collegio o dall'Associazione professionale competente per territorio. Il riordino prevede inoltre strumenti come il Dossier formativo individuale o di gruppo, il Piano della Formazione Aziendale ed il Rapporto sulla Formazione Aziendale.

*Discussione e conclusioni:* Il sistema ECM è potenziato dalla nuova organizzazione, che lo rende uno strumento ancora più efficace per garantire la formazione continua, finalizzata sia a migliorare le competenze e le abilità professionali che a stimolare il cambiamento dei comportamenti degli operatori sanitari. Il nuovo sistema ECM ha l'obiettivo di assicurare efficacia, appropriatezza, sicurezza ed efficienza all'assistenza prestata dal Servizio Sanitario Nazionale, garantendo nel tempo la qualità e l'innovazione dei servizi erogati.

**COMUNICAZIONE DI VALORI CRITICI IN URGENZA COME INDICATORE DI QUALITÀ' EXTRA-ANALITICA****G-17**

**M. Morandini, N. Retto, P. Pascutto, L. Laghi, F. Grizzo, A. Di Monte, B. Bertoli** (Gruppo Settore Urgenze),  
**D. Rubin, P. Cappelletti**

Laboratorio di Patologia Clinica, DML, AOSMA - Pordenone

*Premessa.* Il nostro DML, certificato ISO 15189 dal 2006, ha, come richiesto dalla norma, definito un elenco e le modalità della notifica di analiti con valori di criticità.

*Scopo del lavoro.* Valutazione della numerosità, tipologia e tempi di comunicazione dei valori critici di pazienti ricoverati e/o afferenti al Pronto Soccorso da parte dei Tecnici di Laboratorio del settore Urgenze del Laboratorio di Patologia Clinica.

*Materiali e metodi.* La comunicazione dei valori critici degli analiti individuati avviene in base a valori di criticità e a differenze significative rispetto ai precedenti del paziente. Per ogni comunicazione sono registrati: identificativo del paziente, reparto, data e ora, valore critico (dato e unità di misura), identificativo del professionista sanitario che riceve la comunicazione e controllo di read back. Il periodo di valutazione è stato di 1 anno, articolato per turno sulle 24h (mattino, pomeriggio, notte), dipartimento, ricevente, analita.

*Risultati.* Le comunicazioni telefoniche nell'anno 2007 sono state 481 su 284.405 test (0.17%), prevalentemente agli infermieri (67%) con tempo medio di 5 minuti dall'ottenimento del risultato e prevalentemente nel turno pomeridiano (13-20). I Dipartimenti coinvolti sono stati: DE-UCI 76.9% (0.17% totale test richiesti), D. Chir Generale 8.1% (0.24%), D. Chir Specialistica 4.8% (0.22%), D. Med Spec 6.4% (0.27%), D. Med Spec/Riab 1.9% (0.15), D. Mat/Inf 1.9% (0.04%). I principali analiti coinvolti sono stati: glucosio (19.9%), potassio (14%), piastrine (13.3%), HGB (12%), CBC (11.8%), WBC (7.7%).

*Discussione e conclusioni.* Il riscontro di valori elevati (>600 mg/dL) di glucosio ha individuato 5.5% di campione non adeguato (contaminazione da infusione) e differenze significative rispetto al precedente quali dati non attesi per il 60.4%. Escludendo i campioni emolizzati, le iper e ipopotassiemie sono state rispettivamente il 58.1% e 19.4%. I valori di CBC hanno permesso di intercettare 21.6% di scambio paziente e 38.9% di campione non adeguato. Il 27.9% di piastrinopenie sono risultate dato non atteso così come il 20% di leucopenie. La corretta gestione della comunicazione di risultati critici rappresenta una misura importante per dimostrare l'efficacia del laboratorio, con importanti ricadute sugli outcome clinici (ed anche economici) della struttura sanitaria (Clin Lab Med 2007; Sept 27:909-930). Per la nostra esperienza, le recenti Raccomandazioni intersocietarie SIMeL-SIBioC-CISMEL per l'identificazione e la gestione dei valori critici nei laboratori clinici (RIMeL 2008;4:28-35) costituiscono un chiaro e basilare documento per la loro corretta gestione.

**LUCIE OMBRE SULLA CONCORDANZA DEI METODI DI LABORATORIO****G-18****A.T. Scacchetti, A. Melegari, M. Tagliazucchi, T. Trenti\*, A.M. Cenci\*, D. Campioli**

Lab.An.Ch-Cliniche AOU Policlinico di Modena; \*Lab.Pat.Clinica NOSAE – AUSL Modena

*Scopo del lavoro:* Il risultato di laboratorio deve soddisfare requisiti di qualità analitica e fornire informazioni inerenti il quesito diagnostico. La performance analitica è correlata ad inaccuratezza e imprecisione delle misure. Con opportune procedure di controllo, il laboratorio può verificare le proprie prestazioni in rapporto a traguardi analitici precostituiti, sulla base di conoscenza ed esperienza. La recente rivoluzione culturale e tecnologica, dal singolo laboratorio clinico a centralizzazioni di più servizi su base territoriale, pone problematiche nuove e cruciali, ad es. la necessità di allineamento di metodiche oltre che nello stesso laboratorio anche su scala più ampia per creare una “rete” affidabile, capace di garantire unicità di informazione clinica. Diventa quindi necessario verificare l’efficacia dell’analisi statistica comunemente in uso per l’allineamento di metodiche, e gli endpoints da valutare. Il presente studio richiama l’attenzione, attraverso alcuni esempi, sulle diverse valutazioni statistiche occorrenti in quattro settori diagnostici differenti per traguardi analitici e outcome clinico: chimica clinica; diagnostica allergologica in vitro; diagnostica delle patologie immuni; ematologia

*Materiali e metodi:* Vengono valutate alcune metodologie presenti nei diversi laboratori del territorio della provincia di Modena: 1.due metodi per la determinazione dell’ Emoglobina glicata; 2.due metodiche per lo studio di alcuni allergeni inalanti; 3.concordanza tra ricerca degli Anticorpi anti dsDNA con metodo Elisa o immunodosaggio e dsDNA in Immunofluorescenza su Crithidia luciliae; 4.alcuni parametri (Hb e Plt) dell’esame emocromocitometrico eseguito in automazione con differenti metodologie.

*Risultati:* 1. In chimica-clinica i metodi hanno mostrato un buon “allineamento” in termini di R e C.V.tot.% .2. In allergometria VPP,VPN mostrano una valenza superiore rispetto alla sensibilità, specificità, C.V e BIAS. 3. In autoimmunità è necessario indagare sulla vera “ antigenicità”, alla base delle differenze tra i vari test impiegati nei Laboratori. 4. In ematologia è rilevante impostare un sistema efficiente nel contestualizzare la valutazione e le ricadute cliniche dei vari parametri emocitometrici.

*Discussione e conclusioni:* La piena coscienza del problema, è il primo requisito per la ricerca delle criticità/eccellenza di un sistema diagnostico, “chi non sa quel che cerca non comprende il significato di quel che trova” (C.Bernard). Solo una conoscenza adeguata dei mezzi idonei per raggiungerla e una conoscenza operativa altrettanto adeguata per padroneggiarli abilmente, possono far fronte con soddisfazione ai continui mutamenti della Medicina di Laboratorio.

**LA GOVERNANCE CLINICA DEL POCT: MISSIONE IMPOSSIBILE O CONQUISTA PAZIENTE?****G-19****G. Saccani, C. Mazzi, R. Zanzoni, A. Conti, M. Caputo**

Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologia, AUSL 22 Veneto, Bussolengo (VR)

*Scopo del Lavoro:* La carenza di una governance clinica rappresenta il maggiore rischio connesso alla implementazione diffusa di sistemi per Point Of Care Testing (POCT) in Medicina di Laboratorio. Abbiamo voluto verificare nella nostra esperienza l’impatto dell’ empowerment e aggiornamento continuo strutturato sulle prestazioni analitiche e sul grado di coinvolgimento e responsabilizzazione del personale tecnico (TSLB) e infermieristico addetto alla operatività quotidiana del POCT ospedaliero.

*Materiali e metodi:* Nella nostra realtà esistono: a) sistemi per POCT extra-ospedalieri, collocati presso i punti di Primo intervento di strutture sanitarie (ex ospedali) riconvertite ad attività ambulatoriali e b) un sistema per POCT ospedaliero che prevede il posizionamento di strumenti presso reparti e servizi interni. In una prima fase il Laboratorio ha costruito un percorso formativo di base comune per illustrare a tutti gli utilizzatori gli obiettivi e -in collaborazione con le aziende produttrici- introdurre le risorse strumentali. Si è quindi provveduto a selezionare un gruppo di TSLB in grado di affrontare le problematiche riguardanti i POCT, dalla gestione del materiale, inclusi i magazzini reagenti, alle verifiche di buon funzionamento presso le sedi esterne. Nel funzionigramma giornaliero è stato inoltre inserito un tecnico (a rotazione) preposto al monitoraggio del sistema e alla presa in carico fino alla auspicata risoluzione di eventuali problematiche attinenti il POCT. Gli accessi dei singoli operatori ai Sistemi, tracciati dal software gestionale, sono serviti da base per la programmazione dell’aggiornamento e formazioni e continua personalizzata.

*Risultati:* Il numero complessivo di personale coinvolto nelle iniziative è stato di 60 tra TSLB e infermieri. Il percorso formativo è stato strutturato in un corso base comune e in singoli corsi monotematici dedicati a specifici strumenti per un totale di 20 incontri nell’arco di 8 settimane. L’aumento del numero di infermieri coinvolti ha causato un significativo aumento delle prestazioni correttamente eseguite (dalle 4836 del primo trimestre 2008 alle 6794 del trimestre successivo). In 6 mesi di attività non si sono registrate chiamate di SOS per blocco strumentale totale da parte degli infermieri.

*Discussione:* La Governance clinica, componente fondamentale per il miglioramento di qualità in ogni attività sanitaria, è indispensabile nella implementazione di un sistema POCT. Nella complessa articolazione di un sistema di gestione efficace la paziente costruzione di percorso formativo e di adeguati meccanismi di verifica e valutazione delle prestazioni contribuisce significativamente a ridurre i rischi di inappropriatelyzza e le relative ricadute sui costi di gestione e sulla patient safety.



**ANALISI DECENTRATE. PERCORSO NELLE VALLI PIEMONTESI****G-20****A. Villani\***, **A. Andriotta\*\***

\* Pinerolo, Torino, \*\* Avigliana ASL 3 Torino

*Scopo del lavoro.* Descrizione di un piano di riconversione ospedaliera, con riduzione di posti letto e servizi ed in particolare con il Pronto Soccorso trasformato in P.P.I. (Punto di Primo Intervento) ed incremento delle attività ambulatoriali.

*Materiali e Metodi.* La Direzione Sanitaria e il Dipartimento dei Servizi Diagnostici, dopo aver esaminato i punti di forza e debolezza, sceglie d'implementare un sistema POCT con software gestionale interfacciato al sistema di laboratorio. Le attività propedeutiche richieste al laboratorio sono: acquisizione conoscenze tecniche e manualità (CPSI); definizione delle competenze e delle responsabilità; stesura delle procedure, istruzioni operative, schede di registrazione; partecipazione all'addestramento del personale non qualificato con approfondimento d'informazioni e conoscenze teoriche; pratica delle conoscenze acquisite.

*Risultati.* Gli obiettivi raggiunti sono: strumentazione semplice, software gestionale con collegamento remoto bidirezionale tra gli strumenti periferici e il LIS; gestione programma CQ e correlazioni strumentali con il dato del laboratorio, elaborazione consumi, statistica sospetto diagnostico e relativi esami; TAT POCT da 1 min. a un max 20 min. e qualità analitiche secondo le esigenze cliniche; gli utilizzatori del POCT sono professionisti non del Laboratorio, mentre la gestione e controllo del processo rimane ai professionisti del Laboratorio; motivazione del personale e clima di fiducia provengono dalla creazione di un team di professionisti di diverse competenze professionali.

*Discussione conclusione.* Il POCT è oggi una realtà operativa. La sua adozione può portare alla riduzione del TAT e miglioramento degli outcome clinico. Ci sono anche le premesse per convertire questi elementi in un miglioramento significativo del rapporto costo/beneficio del processo assistenziale. La soluzione organizzativa è più affidabile che in passato ed i vantaggi sono diversi: ottimale utilizzo delle risorse e del personale, tempi di risposta rapidi, riduzione della movimentazione di campioni e referti.

**LA GESTIONE DEL MAGAZZINO E TRACCIABILITÀ: RISPARMIO E QUALITÀ****G-21****A. Fortunato, G. Secco, A. Bevilacqua, G. Soffiati**

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia – Ospedale “San Bortolo” – Vicenza

*Introduzione:* nei processi di approvvigionamento dei moderni laboratori si debbono conciliare alcuni aspetti spesso contrastanti quali la sicura disponibilità di materiale al momento della necessità, la non eccedenza di reagenti oltre la data di scadenza e la facilità di eseguire le registrazioni delle operazioni di carico e scarico. La buona pratica di laboratorio e i Sistemi Qualità prevedono di poter tracciare i lotti di reagenti utilizzati nelle singole sedute analitiche (ISO 15189:2007; punto 4.13.3). Scopo del lavoro: valutare l'efficacia di un sistema informatizzato, che consente di eseguire in modo semplice tutte le attività richieste per la gestione degli approvvigionamenti, dalla valutazione di consumi e scorte, alla formulazione delle richieste di materiale per il fornitore, alla registrazione delle operazioni di carico e scarico con l'evidenza del numero di lotto e scadenza del prodotto, l'evidenza dei reagenti in scadenza o sotto il livello di scorta previsto.

*Materiali e Metodi:* sono stati valutati tre anni di attività di gestione degli approvvigionamenti utilizzando il software DinamicoXP (EOS – Cervarese S. Croce, PD) considerando l'andamento del valore economico dei reagenti in giacenza e la praticabilità del sistema. L'attività di gestione di approvvigionamento riguarda 1271 prodotti diversi da 83 fornitori, per un anno di attività sono formulati circa 500 ordini e vengono eseguite mediamente 2500 operazioni di carico e 12000 operazioni di scarico.

*Risultati:* l'introduzione del sistema ha semplificato sia le operazioni di riordino che le registrazioni, che consentono la completa tracciabilità dei reagenti utilizzati, con un modesto impegno da parte degli operatori. La praticabilità del sistema è dimostrata dall'incremento, del 10% al secondo anno e del 30% al terzo anno di utilizzo, del numero medio delle operazioni di carico per prodotto, mentre rimane invariato il numero medio delle operazioni di scarico. La semplicità delle operazioni di riordino, associata ad una immediata trasmissione delle richieste ai fornitori, consente di ridurre il valore medio dei reagenti in giacenza presso il laboratorio. Nella nostra esperienza, considerando 12 prodotti scelti come indicatore (maggiore costo per confezione), il valore del materiale in giacenza corrente presso il laboratorio è stato ridotto del 3% e del 7% rispettivamente dopo uno e due anni dall'introduzione del nuovo sistema di gestione.

*Conclusioni:* nelle attuali condizioni di costante richiesta di riduzione della spesa per la diagnostica, per i laboratori è uno strumento importante il controllo dei costi di approvvigionamento. Inoltre la tracciabilità del materiale utilizzato, come previsto dai sistemi qualità, garantisce un migliore monitoraggio delle attività analitiche.

## IMPLEMENTAZIONE DEI PROTOCOLLI DIAGNOSTICI. LA PRESCRIZIONE DI ESAMI DI 2° LIVELLO: UNA ATTIVITÀ DEL MEDICO DI LABORATORIO

G-22

**M. Golato\***, **F. Stante\*\***, **N. Litterio\*\***

\*Patologia Clinica O.C. Lanciano; \*\*MMG

*Scopo del Lavoro:* migliorare l'appropriatezza dei tests diagnostici con scelte e metodologie condivise tra Patologi Clinici(PC), Medici di Medicina Generale (MMG) e Clinici Ospedalieri (CO) con adozione di procedure formali di prescrizione di esami di 2° Livello (Liv) da parte del Patologo Clinico, traguardo di un percorso attivato da oltre due anni con i MMG e precedentemente con i Clinici Ospedalieri.

*Materiali e Metodi:* Fasi del percorso: 1) identificazione di aree diagnostiche in cui erano incrementate le richieste con inapproprietezza delle stesse (m. autoimmuni, oncologiche, tiroidee, celiaca ed emoglobinatie) 2) costituzione di un gruppo di lavoro multidisciplinare (PC, MMG e CO) per definire percorsi diagnostici di Laboratorio uniformi sul territorio aziendale 3) incontri di formazione con MMG negli anni 2005-2006 con l'obiettivo prevalente di ottenere richieste coerenti alla valutazione clinica 4) implementazione di protocolli successivi a revisione e confronto con linee guida nazionali ed internazionali con distinzione tra esami di 1° e 2° Liv 5) valutazione delle richieste per indagini di laboratorio per le aree diagnostiche interessate anno 2007 (dopo l'attivazione dei percorsi) vs le richieste per pazienti (pz) ambulatoriali anno 2005 6) prescrizione a carico del Medico di Laboratorio su ricettario regionale degli esami di 2° Liv se appropriati, come da protocolli, evitando al pz il ritorno al MMG, posticipando le procedure amministrative alla fine dell'iter diagnostico.

*Risultati:* Valutati aa 2007vs2005: n° di test post e pre implementazione dei protocolli,% dei test patologici totali(tot) 2007vs2005, incidenza di test di 2°Livello vs 1°. M. oncologica: decremento test (NSE, Ca15-3, Ca19-9, Ca125, CEA, AFP) 40,75%; patologici +9,25%; M. autoimmuni: decremento test 8,56%; patologici tot +29%; riduzione ENA e DsDNA del 5,32% vs ANA(1°Liv); M. celiaca: incremento test 60,6%; patologici tot +65%; riduzione EMA del 26% vs Ttg (1°Liv); M. tiroidea: incremento test 107,8%; patologici tot +33,7%, incremento Ft4 del 62,2% vs TSH (1°Liv); Ab anti TPO riduzione del 2% vs TSH; Emoglobinopatie: decremento test 35%; patologici in HPLC + 6,67% vs emocromi con MCV<78fL.

*Discussione:* Le premesse sono orientate ad ottenere ulteriori miglioramenti soprattutto nella diagnostica tiroidea, area di maggiore criticità, mentre nella celiachia tale approccio ha permesso di identificare un maggior n° di pz. affetti da patologia. I risultati, con l'incremento dei patologici anche nei casi di riduzione di richieste, evidenziano, che il percorso, perché condiviso realmente dal gruppo multidisciplinare, è efficace e conduce ad una maggiore appropriatezza attraverso l'adozione dell'atto che formalizza la prescrizione degli esami di approfondimento diagnostico a carico del Patologo Clinico.

## CREAZIONE DI UN CORELAB AD ALTA AUTOMAZIONE: L'ESPERIENZA DEL LABORATORIO ANALISI DI NOVI LIGURE

G-23

**L. Camogliano**, **M. Ginestri**

UOA Laboratorio Analisi - Ospedale "San Giacomo" - Novi Ligure

*Introduzione:* Il Dipartimento interaziendale delle ASL 20 e 22 della Regione Piemonte è costituito dai presidi ospedalieri di Novi Ligure, Acqui Terme, Ovada e Tortona. Nel 2005 si sono riorganizzati i laboratori con un'unica gara che ha portato alla realizzazione di un corelab ad alta automazione per Novi Ligure, il cui volume annuo di attività è di circa 1.500.000 test.

*Scopo del lavoro:* Relazionare il percorso che ha portato alla costituzione del capitolato di gara e all'aggiudicazione; valutare la realizzazione del progetto con il monitoraggio di indicatori di controllo oggettivi.

*Materiali e metodi:* Aprile 2004-gennaio 2005: stesura del capitolato; settembre 2005: delibera; gennaio 2006: installazione; marzo 2006: entrata in rou tine. Dotazione strumentale: sistema automatizzato Power Processor con integrati aliquotatore, doppia centrifuga, un analizzatore di immunometria DxI800 e due di biochimica DxC800, stockyard da 1020 (Beckman Coulter). Si è valutata la rispondenza a lungo periodo agli obiettivi della gara in termini di accuratezza e tempestività; in particolare si sono studiati i TAT.

*Risultati:* Il consolidamento ha ridotto la strumentazione da 7 a 3 analizzatori (più un back up per marcatori cardiaci) e le provette per paziente da 3 a 1-2 con aliquote per elettroforesi, autoimmunità e test off-line. I C.I. e le VEQ confermano le performances di accuratezza. Il TAT medio per il DEA (pre+analitico) è risultato = 36' con SD = 9'. Su 111 campioni con 474 test richiesti, 469 test sono stati refertati entro l'ora e 5 test (1,05%) oltre l'ora. Il TAT medio per la routine veloce (es: oncologia) (pre+analitico) è risultato = 44' con SD = 10'. Su 108 campioni con 662 test richiesti, 641 test (96,83%) sono stati refertati entro l'ora. Le ripetizioni sono circa l'1% del totale dei test.

*Discussione e conclusioni:* Per realizzare un "progetto su misura" occorre tempo, dedizione e coraggio. Durante la stesura del capitolato è fondamentale dialogare con le aziende, valutare in anteprima le possibili realizzazioni. Nella nostra realtà tutto il personale è stato coinvolto nella riorganizzazione e nella scelta, garantendo così il successo del progetto. E' stato superato il concetto di organizzazione a settori abbracciando invece quello più innovativo delle macroaree, suddividendo il laboratorio in 3 aree di lavoro a flusso continuo quali siero, plasma e microbiologia. A distanza di due anni dalla messa in routine del sistema abbiamo indicatori precisi ed accurati non solo sulle performances analitiche e organizzative, ma anche sull'assetto economico. La riorganizzazione non ha incrementato i costi di gestione complessivi pur dotando il laboratorio di un'automazione all'avanguardia e pronta ad espandersi secondo le nuove esigenze territoriali e tecnologiche.

## LA CATENA DEL FREDDO OSPEDALIERA: IMPLEMENTAZIONE DI UN SISTEMA AUTOMATIZZATO DI MONITORAGGIO COSTANTE E DI PRONTO INTERVENTO NELL'A.O. DI DESENZANO DEL GARDA

G-24

**B. Milanesi<sup>1</sup>, M. Viganò<sup>2</sup>, C. Tedoldi<sup>3</sup>, A. Rovere<sup>3</sup>, A. Ghedi<sup>4</sup>, E. Bernardi<sup>1</sup>, G. Cocchi<sup>1</sup>, P. Perini<sup>2</sup>, G. Barboglio<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Laboratori Patologia Clinica A.O Desenzano BS; <sup>2</sup>Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale A.O Desenzano BS; <sup>3</sup>Ufficio Qualità/Rischio Aziendale A.O Desenzano BS; <sup>4</sup>Servizio Ingegneria Clinica A.O Desenzano BS; <sup>5</sup>Direzione Sanitaria Aziendale A.O Desenzano BS

*Scopo del lavoro:* la corretta conservazione degli emocomponenti, degli organi, dei campioni biologici, dei farmaci e dei diagnostici è essenziale per mantenerne inalterate le caratteristiche. Oggi sono disponibili dispositivi elettronici che campionano automaticamente la temperatura, anche durante il trasporto, e che, integrati su infrastrutture di rete già esistenti, permettono di scaricare in tempo reale i dati monitorati e di gestire gli allarmi.

*Materiali e metodi:* da Giugno 2007 i Laboratori di Patologia Clinica e i SIMT dell'A.O (facenti capo al Dipartimento di Medicina di Laboratorio) insieme alle Farmacie sono stati coinvolti in un programma per l'implementazione della "Catena del freddo da -80°C a 20°C", coordinato dall'Ufficio gestione qualità-rischio e dall'Ingegneria Clinica. All'analisi collegiale del quadro legislativo, direttive, norme tecniche ed esigenze formative è seguita la pianificazione e la realizzazione del Progetto secondo le seguenti fasi: 1-definizione obiettivi, 2-valutazione tecnologie e scelta 3-sperimentazione in SIMT, 4-estensione nei Laboratori e nei restanti SIMT, 5-estensione alle Farmacie, 6-individuazione indicatori di risultato.

*Risultati:* ad oggi risulta raggiunta la fase 4. Nei Laboratori e nei SIMT è implementato un sistema di telecontrollo/teleallarme che gestisce tutte le apparecchiature, fisse e mobili, dedicate alla conservazione dei reagenti/emocomponenti basato su un'architettura client/server su rete Ethernet aziendale. Le sonde applicate, di tipo wireless, permettono un campionamento automatico della temperatura e la trasmissione ad un server che memorizza i tracciati. Con un unico server poi si è in grado di monitorare fino a 250 dispositivi. I range di temperatura e le soglie di allarme, permettono un sistema di gestione che va a segnalare, presso una postazione presidiata, anomalie di temperatura e mancanza di rete elettrica. I controlli periodici di funzionamento permettono una garanzia di sicurezza e allineamento.

*Discussione e conclusioni:* tale implementazione tecnologica, considerata la complessità dell'A.O, ha permesso di realizzare un sistema di controllo in rete con accesso da qualsiasi PC aziendale, di facile utilizzo e con responsabilità definite: gli allarmi tecnici sono indirizzati al SIC, gli allarmi di temperatura sono generati quando il sensore va fuori soglia per un numero di 2 campionamenti successivi secondo una tempistica programmata.

## VALUTAZIONE DI UN NUOVO PRODOTTO INFORMATICO PER LA GESTIONE INTEGRATA DI SIEMENS ADVIA Lab Cell

G-25

**M. Marchiando, M. Sciancalepore, M. Faccio, M. Del Pero, C. Cerutti, G. Tornotti, R. Serino, C. Ferraris, L. Ciardi, G. Bellomo**

Laboratorio RR CC, Università del Piemonte Orientale, Novara

*Scopo:* Tecnologie diagnostiche ad elevata automazione e robotizzazione associate ad un consolidamento strumentale permettono la processazione sempre più veloce di un numero più elevato di campioni con un personale sempre più ridotto, a fronte di problematiche relative al controllo della operatività di tutta la strumentazione preparativa ed analitica. Queste sono dovute alla gestione sia della complessità informatica che di quella strutturale. Scopo di questo lavoro è stato di valutare l'impatto sulla operatività tecnica di un nuovo prodotto informatico che permette semplicemente di gestire, in tutto e per tutto, da ogni terminale, tutta la strumentazione del sistema stesso.

*Metodi:* È stato valutato il sistema PILOT messo a disposizione dalla Siemens Healthcare Diagnostics ed implementato su tutti i terminali associati ad una ADVIA LabCell costituita da una catena di trasporto, un Sample Manager, due centrifughe in linea, tre analizzatori ADVIA2400 e due analizzatori ADVIA Centaur. Questo prodotto permette di collegarsi in tempo reale da qualsiasi postazione a qualsiasi terminale collegato e di agire direttamente su di esso. L'efficacia di tale prodotto è stata calcolata misurando il numero di processi che potevano essere effettuati in modo centralizzato ed il numero di spostamenti di un tecnico di Laboratorio da una postazione centralizzata ai terminali operativi della strumentazione collegata.

*Risultati:* Le valutazioni sono state effettuate nel corso di due differenti tipologie di operatività di cui una (A) prevede la contemporanea attività di tutti i sistemi operativi ed il loro controllo da parte di 3 tecnici e l'altra (B) prevede l'attività di un solo ADVIA 2400 e di due ADVIA Centaur ed il loro controllo da parte di 1 tecnico. Sia in A che in B, il numero totale di processi da effettuare per il controllo globale del sistema è risultato essere di 44 di cui 33 (75%) centralizzabili su qualsiasi postazione con l'ausilio di PILOT. In A, ogni tecnico doveva effettuare 26 spostamenti giornalieri per il controllo della strumentazione, mentre in B ogni tecnico doveva effettuare 23 spostamenti. Con l'ausilio di PILOT tali spostamenti si riducevano a 7 in A (-73%) e a 7 in B (-69%). Infine la possibilità di gestire in questo modo la strumentazione preparativa ed analitica permetteva un più semplice utilizzo delle informazioni strumentali al momento di una validazione centralizzata del dato analitico.

*Conclusione:* L'implementazione di PILOT sicuramente riduce in modo significativo l'impegno fisico del Tecnico di Laboratorio operativo su una stazione analitica ad alta automazione, robotizzazione e complessità strumentale, permettendo una più semplice e completa validazione dei dati.

## IMPORTANZA DI INTERFERENZE NELLA MISURA DELLA QUALITÀ DELLA TERAPIA ANTICOAGULANTE ORALE (TAO)

G-26

**A. Cabrini, M. Soldati, R. Mainardi, E. Lanzoni, R. Marchetti, C. Lonardoni, A. Cremon, M. Nicoli, R. Facchinetti, P. Rizzotti**

Centro FCSCA 186. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche Azienda Ospedaliera Verona.

*Scopo del lavoro:* Valutare se e quanto la qualità della TAO è alterata da: 1) fase iniziale del trattamento; 2) sospensioni della TAO o periodi di sua gestione extra Centro FCSCA.

*Materiali e metodi:* Campione: 96433 giorni in TAO di 643 Pazienti consecutivi del nostro Centro FCSCA con 6468 tempi di protrombina e prescrizioni terapeutiche. È stato misurato il tempo trascorso entro, sopra e sotto il range terapeutico: 1) sui dati globali; 2) dopo aver tolto i periodi di sospensione e gestione extra Centro FCSCA (interferenze); 3) dopo aver tolto le due prime visite; 4) dopo aver tolto entrambe le variabili. Statistica: test chi quadrato.

*Risultati:* Sono illustrati in figura 1.

*Discussione e conclusioni:* I periodi di sospensione della terapia o di prescrizione extra Centro FCSCA influenzano la statistica di qualità espressa come tempo in range e tempo sotto il range. La fase iniziale di terapia influenza soltanto il tempo sotto il range. Normalmente i software di gestione della TAO permettono di escludere dalla statistica solamente la fase iniziale di terapia: sarebbe utile se potessero escludere anche le fasi di interferenza durante la TAO.

		SENZA PRIME 2 VISITE		
TEMPO		giorni	%	P
sopra		13612	14.31	0.51
entro		71657	75.32	0.08
sotto		9863	10.37	0.00
Totale		95132	100	

		TUTTE LE VISITE		
TEMPO		giorni	%	P
sopra		13698	14.20	0.99
entro		72312	74.99	0.00
sotto		10423	10.81	0.00
Totale		96433	100	

		SENZA INTERFERENZE		
TEMPO		giorni	%	P
sopra		13373	14.20	0.99
entro		71231	75.64	0.00
sotto		9561	10.15	0.00
Totale		94165	100	

		SENZA PRIME 2 VISITE E INTERFERENZE		
TEMPO		giorni	%	P
sopra		13303	14.30	0.57
entro		70678	75.95	0.00
sotto		9074	9.75	0.00
Totale		93055	100	

## AUTOVALUTAZIONE PER LA PATENTE EUROPEA DEL COMPUTER (ECDL)

G-27

**M. Pradella**

Unità Autorizzazione e Accreditamento, Azienda ULSS n. 8 Asolo, TV; Gruppo di Studio SIMeL Informatica

*Scopo del lavoro.* La Patente Europea del Computer (European Computer Driving Licence, ECDL) è un titolo che attesta il grado di autonomia di un soggetto nell'utilizzo del computer come strumento di attività professionale, sostenuto dall'Associazione per il Calcolo Automatico (AICA) e riconosciuto da molti soggetti privati e pubblici. Nonostante sia stata introdotta da diversi anni e siano universalmente riconosciute la sua validità e la sua utilità, è evidente che nei laboratori medici sia poco diffusa, come in generale nel settore sanitario, tolti forse gli incarichi amministrativi. Tra i motivi della resistenza ad acquisire ECDL, l'idea che si tratti di un obiettivo difficile, impegnativo e costoso. Qui si studia il grado di familiarità degli specializzandi con gli argomenti d'esame per la ECDL, al fine di stimare l'impegno eventualmente richiesto per conseguirla.

*Materiali e Metodi.* Sono stati somministrati agli studenti della scuola di specializzazione in Biochimica Clinica in tre anni accademici consecutivi (2005-6, 2006-7 e 2007-8) sette diversi questionari di autovalutazione, basati sul syllabus di ECDL livello "core". Ognuno ha dovuto valutare la propria familiarità con ciascuna attività del syllabus in una scala da 0 a 10.

*Risultati.* La familiarità con gli strumenti di produttività individuale è decisamente cresciuta nel corso di soli tre anni. Gli specializzandi di Biochimica Clinica sono esperti nell'uso di molte funzioni di base, di gestione testi, di calcolo e di comunicazioni in rete. Ricorrono sistematicamente le incertezze nelle funzioni di data base ed in quelle più sofisticate dei fogli elettronici e dei testi.

*Discussione e Conclusioni.* In pochi anni l'uso dell'informatica con i programmi di produttività individuale e gli strumenti di comunicazione in rete è diventato molto più familiare. Gli specializzandi hanno dimostrato crescente confidenza in quasi tutti gli strumenti. Gestione testi, foglio elettronico e strumenti di presentazione sono quelli più conosciuti, accanto alla posta elettronica ed alla navigazione nel web. La gestione di archivi dati e la sicurezza possono invece essere migliorate. Il conseguimento della ECDL da parte degli specialisti nelle discipline di laboratorio richiederebbe un impegno minimo, ma darebbe importanti vantaggi sia per la sicurezza professionale individuale che per il valore delle risorse umane nelle organizzazioni. La stessa gestione dei sistemi informatici nei laboratori sarebbe molto più facile e meno onerosa se gli operatori avessero maggiore autonomia nell'uso degli strumenti informatici, ciò che l'apprendimento come autodidattica non può garantire.

**SISTEMI INFORMATIVI DI LABORATORIO (LIS) IN FRIULI VENEZIA GIULIA****G-28****M. Morandini, P. Cappelletti**

Laboratorio di Patologia Clinica, DML, AOSMA - Pordenone

*Scopo del lavoro.* Rilevare lo stato dell'arte dell'informatica di laboratorio in FVG.

*Materiali e metodi.* È stato distribuito a 21 laboratori (17 pubblici e 4 privati) un questionario riguardante dimensioni e architettura del LIS, parametri di disponibilità e soddisfazione degli utilizzatori. I questionari elaborati sono stati 19 (17 pubblici e 2 privati).

*Risultati.* Il LIS, inserito nella rete informatica aziendale ed integrato con CUP (79%; 40% con integrazione di tipo standard), ha connessioni con i reparti e con i punti prelievo (74%) e con POCT (21%). La gestione della sicurezza logica è quasi sempre compito dei gestori di sistemi: la presa in carico delle anomalie in 1h (74%) e in 12h (21%), la risoluzione delle emergenze in 1h (39%) e entro 3 ore (49%). Nel 68% dei LIS non vi è documentata la registrazione della manutenzione e non viene prodotta reportistica periodica sulla sicurezza. L'accuratezza e l'efficienza degli aggiornamenti non viene valutata nel 52% dei casi. Il LIS è dotato di firma digitale (68%); è presente un ATNA (32%); la capacità dell'archivio e la frequenza delle copie di sicurezza è adeguata. Estrazioni statistiche sono possibili (89%) e viene registrato il TAT (79%). Nella maggior parte dei LIS le postazioni di Order Entry (OE), Order Filler e strumenti collegati sono >10 e sono presenti middleware anche per l'autoverifica. La richiesta è fatta con OE (83%). I reparti vedono e stampano risultati (100%), i punti prelievo nel 50% e MMG nello 0%. Vi sono risorse professionali di laboratorio dedicate (74%), a cui è richiesta disponibilità nelle 24h e per lo più non dotate di qualifica ECDL. Il 28% degli utilizzatori non è soddisfatto del LIS. I principali problemi sono rappresentati dalla tempestività degli interventi (53%), dalla produzione del referto (42%), dalla interoperabilità e dalla tempestività degli aggiornamenti (41%), dalla facilità d'uso e dalla maggiore relazione col fornitore (32%).

*Discussione e conclusioni.* I limiti dell'inchiesta SIMeL-FVG possono essere la scarsa numerosità del campione, la relativa grossolanità dei descrittori e il bias legato alla compilazione da parte degli addetti al LIS del laboratorio. Tuttavia il questionario ha coperto quasi tutto l'universo esaminato e i descrittori sono mutuati da CNIPA e IHE. Lo stato dell'arte del LIS in FVG mostra che l'interoperabilità è buona all'interno dell'ospedale e del tutto deficitaria con POCT ed esterno. La sicurezza dei dati è buona ma incerta quella delle emergenze e delle rendicontazioni. I problemi più importanti appaiono: la gestione delle emergenze, l'aggiornamento dei collegamenti e del LIS, l'utilizzo dell'audit trail e le risorse professionali. La soddisfazione degli utilizzatori riflette anche la presenza di diversi fornitori in area regionale.

**CONFRONTO TRA LE DETERMINAZIONI DELLA GLICEMIA IN EMERGENZA ESEGUITE SU SANGUE INTERO E PLASMA****H-01****M. Daves\*, M. Riva\*\*, G. Cosio**

\*Laboratorio di Biochimica Clinica, Comprensorio Sanitario di Bolzano, \*\*Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia, Comprensorio Sanitario di Merano, Azienda Sanitaria dell'Alto Adige

*Scopo:* abbiamo confrontato le determinazioni della glicemia eseguite in emergenza a) su plasma lito eparina e b) su sangue intero eparinato che non richiedendo la centrifugazione dei campioni riduce i tempi di refertazione. La necessità di un confronto nasce anche dalla segnalazione da parte dei colleghi clinici di alcune incongruenze riscontrate con i differenti campioni.

*Materiali e metodi:* sono stati valutati 47 pazienti giunti in PS ai quali venivano richiesti alcuni parametri biochimici tra cui la glicemia e contemporaneamente l'emogasanalisi con profilo metabolico (che comprende la misura di glucosio, elettroliti e lattato). Le determinazioni su plasma sono state eseguite su strumento LX20 Beckman Coulter: la glicemia viene determinata con metodo cinetico con elettrodo per ossigeno Beckman che misura il consumo di ossigeno- direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio- che avviene alla stessa velocità con cui il glucosio (in presenza di glucosio ossidasi) reagisce per formare acido gluconico. Su sangue intero la determinazione è stata eseguita con analizzatore ABL 725 Radiometer: la reazione con la glucosio ossidasi libera perossido di idrogeno che si ossida in corrispondenza di un elettrodo con produzione di una corrente proporzionale alla concentrazione di glucosio. Tutte le determinazioni sono state effettuate entro 30 minuti dal prelievo. I valori ottenuti su plasma variano da un minimo di 50 mg/dl a un massimo di 376 mg/dl (media  $\pm$  SD: 150  $\pm$  62 mg/dl) mentre su sangue intero da 59 mg/dl a 361 mg/dl (media  $\pm$  SD 144  $\pm$  58 mg/dl). Ottima la correlazione ( $R^2=0.96$ ). Il T di Student riporta una differenza significativa tra le due metodiche ( $p<0.01$ ). Il Bland Altman plot mostra una differenza percentuale della media del 3.8% (+1.96DS=22.1, -1.96DS=-14.5).

*Conclusioni:* la letteratura riporta che la glicemia nel plasma è circa 11% maggiore che nel sangue intero se l'ematocrito è normale (1); ne segue che anche se è presente una differenza statisticamente significativa, questa non sembra raggiungere rilevanza clinica. Ne risulta che la determinazione della glicemia eseguita su sangue intero, non richiedendo la centrifugazione del campione, presenta un tempo di refertazione inferiore che può essere molto utile nella gestione immediata del paziente che giunge in pronto soccorso con il sospetto di coma diabetico o iperosmolare.

*Bibliografia:* (1) Sacks BD, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald J, Parrot M. Guidelines and Recommendations for laboratory Analysis in the Diagnosis and management of Diabetes Mellitus. Clin Chem 2002; 48: 436-472.

**ANTICORPIANTI SSA E Jo1: VALUTAZIONE IN IFI DI UNO SPECIFICO BIOCHIP****H-02****M. Lotzniker, G. Re, S. Finazzi, M. Curcillo, S. Forlani, C. Alpini\***

Laboratorio Analisi A.O. Ospedale Civile di Legnano, \*Servizio Analisi Chimico-Cliniche IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia

*Scopo del lavoro:* Tutte le linee guida consigliano la richiesta di Ab anti ENA in caso di fondato sospetto clinico di MAIS proprio per la possibile negatività ANA in presenza di Ab anti SSA e Jo1. Mentre per la diagnosi di sindrome antisintetetica la clinica può indirizzare efficacemente, non altrettanto si può dire per la positività anti SSA, che è in assoluto la positività anti ENA più frequente ed è presente in varia patologia autoimmune. Proprio per migliorare la sensibilità di IFI per Ab anti SSA è da tempo stato proposto l'impiego di cellule HEp-2 transfettate con SSA che ne migliorano la rilevazione senza peraltro risolvere il problema. Nel presente studio vengono valutate le performance in IFI di un nuovo biochip che propone l'utilizzo integrato di HEp-2 e di specifici dots fluorescenti.

*Materiali e metodi:* Casistica: 48 sieri anti SSA/Jo1 (45 SSA, di cui 2 positivi anche per Jo1 e 3 sieri Jo1 positivi) tipizzati mediante tecnica ELIA (Phadia) e line immunoassay (INNO-LIA ANA, Innogenetics). Metodi: i sieri sono stati valutati con Microchip Mosaic ANA (Euroimmun); nello stesso pozzetto sono presenti, oltre a cellule HEp-2 e fegato di primate, dots fluorescenti a cui sono adesi gli antigeni Jo1 e Ro 60. Tutti i sieri sono stati testati in precedenza in IFI (HEp-2010, Euroimmun); 14 sieri "ANA negativi" sono stati testati anche su linea cellulare HEp-2000 (ImmunoConcepts).

*Risultati:* Positività per Ab anti SSA:  $27/45 = 60\%$ . Positività per Ab anti Jo1:  $5/5 = 100\%$ . Positività in base a reattività verso le frazioni Ro 52 e 60 (INNO-LIA): 23% in sieri con reattività verso la sola frazione Ro 52, 75% in sieri con reattività verso Ro 52+60 e 100% in presenza di reattività verso la sola frazione Ro 60. In 10 sieri ELIA positivi /INNO-LIA negativi si è riscontrata positività in 7/10. Le positività con Microchip Mosaic ANA non risultano correlate con i risultati quantitativi ottenuti mediante tecnica ELIA; inoltre nei 14 sieri "ANA negativi" si è riscontrata una positività del 57% a fronte di positività del 21% con la linea cellulare Ro 2000.

*Discussione e conclusioni:* La sensibilità per Ab anti Jo1 è risultata ottimale e il dato merita di essere confermato su una numerosità maggiore. La sensibilità per Ab anti SSA può essere considerata buona in presenza di positività per la frazione Ro 60 isolata o in combinazione con Ro 52, mentre, come attendibile, la sensibilità decresce significativamente in presenza di reattività prevalente anti Ro 52, sul cui significato clinico non c'è a tutt'oggi in letteratura univocità di pareri.

**VALUTAZIONE DEI VALORI DI RIFERIMENTO DELLA CREATININA SIERICA CON METODO NON-IDMS E CON METODO STANDARDIZZATO IDMS DELLA DITTA ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS****H-03****E. Bernardi, G. Cocchi, N. Dalè, E. Galletti, B. Milanese**

Azienda Ospedaliera di Desenzano del Garda (BS) - Laboratori di Patologia Clinica – Direttore Prof. B. Milanese

*Scopo:* da alcuni mesi è stata introdotta nei nostri laboratori la refertazione automatica dell'e-GFR (stima della velocità di filtrazione glomerulare), che si basa sulla valutazione della creatinina sierica attraverso l'applicazione di una formula matematica (MDRD) i cui parametri sono, oltre al valore della creatinina sierica, l'età, il sesso e la razza. L'introduzione del e-GFR migliora l'interpretazione clinica della funzionalità renale. La standardizzare della misura della creatinina nel siero è auspicabile al fine di migliorare la diagnosi e il trattamento delle disfunzioni renali croniche, riducendo le variazioni interlaboratorio e migliorando l'accuratezza della stima del GFR. La Ortho Clinical Diagnostics a tale scopo ha ricalibrato il test enzimatico non IDMS con il metodo di riferimento IDMS, uniformandosi alle direttive della UE(2003). Con questo studio abbiamo voluto valutare la sovrapponibilità degli intervalli di riferimento forniti dalla ditta, riferiti alla determinazione della creatinina nel siero, relativi al nuovo test IDMS-CREA rispetto a quelli usati precedentemente con test non IDMS-CREA

*Materiali e Metodi:* sono stati impiegati campioni freschi di siero prelevati a donatori di sangue: per metodo non-IDMS 378 donatori (262 uomini, 116 donne), per metodo IDMS 298 donatori (204 uomini, 94 donne). Lo studio è stato condotto su analizzatore Vitros®5.1 FS prodotto dalla Ortho-Clinical Diagnostics. La creatinina su siero, plasma, urina, viene determinata in Dry Chemistry (reagenti supportati in lastre analitiche VITROS CREA) mediante un test enzimatico a due letture

*Risultati:* metodo non-IDMS popolazione maschile (mediana 1,04 mg/dL, min 0,69 mg/dL, max 1,49 mg/dL, intervallo riferimento 0,8-1,5 mg/dL, bias -13,75% per l'estremo inferiore, -0,67% per l'estremo superiore), popolazione femminile (mediana 0,85 mg/dL, min 0,59 mg/dL, max 1,09 mg/dL, intervallo riferimento 0,7-1,2 mg/dL, bias -15,71% per l'estremo inferiore, bias% -9,17% per l'estremo superiore). Metodo IDMS popolazione maschile (mediana 0,93 mg/dL, min 0,65 mg/dL, max 1,4 mg/dL, intervallo riferimento 0,66-1,25 mg/dL, bias -1,52% per l'estremo inferiore, bias% 12% per l'estremo superiore), popolazione femminile (mediana 0,76 mg/dL, min 0,52 mg/dL, max 0,97 mg/dL, intervallo riferimento 0,52-1,04 mg/dL, bias 0% per l'estremo inferiore, bias% -6,73% per l'estremo superiore).

*Conclusioni:* con entrambi i metodi i valori di riferimento ottenuti sono sovrapponibili a quelli dichiarati dal produttore, in particolare con metodo IDMS sono stati ottenuti bias% molto ridotti. Vista la recente introduzione del metodo IDMS lo studio verrà ampliato con un supplemento di indagini.

## ACIDO ASCORBICO E GLICOSURIA : UN TEST SEMPLICE ED ECONOMICO PER RIDURRE I FALSI NEGATIVI

H-04

**I.M. Ayala<sup>°</sup>, V. Miconi<sup>°°</sup>, M. Pedroni<sup>°</sup>, S. Voltolin<sup>°°</sup>, B. Milanesi<sup>°</sup>**

<sup>°</sup> Dipartimento di Medicina di Laboratorio – A.O. di Desenzano del Garda ; <sup>°°</sup> Laboratorio Analisi della ULLS 5 Ovest Vicentino P.O. di Arzignano

*Introduzione:* la presenza di acido ascorbico nell'urina (eliminato a seguito dell'assunzione di prodotti contenenti vitamina C, oppure aspirina, sali di ferro e altri farmaci) può dare risultati falsamente negativi della determinazione della glicosuria. Durante questo studio sono stati effettuati anche test di validazione strumentale relativi allo strumento CPH 800 prodotto dalla ditta DIRUI Industrial COLTD e distribuito in esclusiva su tutto il territorio Italiano dalla ditta C.P. Company s.r.l. Il test di valutazione strumentale relativo allo strumento CPH 800 è stato realizzato presso il Laboratorio Analisi della ULSS 5 Ovest Vicentino P.O. di Arzignano. L'analisi accurata dei risultati ottenuti dai test di validazione effettuati ci permette di affermare che lo strumento CPH H800 risponde perfettamente agli standard qualitativi interni del Laboratorio Analisi di Arzignano.

*Materiali e Metodi:* nell'ambito della esecuzione delle prove di validazione dell'apparecchiatura CPH-800 per l'analisi automatica delle urine è stato studiato un campione di 50 pazienti diabetici che, dopo assunzione di un grammo di acido ascorbico, sono stati testati per la positività urinaria dello stesso correlandone il risultato con il valore atteso di glicosuria. Tutti i pazienti arruolati avevano un livello di glicemia basale compreso tra 182 e 246 mg/dl ed avevano assunto ac. ascorbico (VC) 1gr in un intervallo compreso tra le 2 e le 5 ore precedenti al prelievo.

*Risultati:* Il 100% dei campioni è risultato positivo al campo di riferimento dell'Ac. Ascorbico. Solo 9 pazienti (18%) sono risultati positivi alla glicosuria.

*Conclusioni:* il test di valutazione della positività all'acido ascorbico urinario si è dimostrato un esame semplice ed utile. Nei campioni da noi studiati il risultato di glicosuria evidenziato è verosimilmente inferiore al reale, a causa della presenza di acido ascorbico. La positività a tale sostanza dovrebbe fornire l'indicazione alla ripetizione dell'esame dopo un "wash-out" di almeno 12 ore dall'assunzione di sostanze contenenti vitamina C. In ogni caso risulta del tutto evidente che l'inaffidabilità analitica del test conferma ulteriormente l'inutilità della determinazione della concentrazione di glucosio nelle urine.

## EVALUATION OF AN AUTOMATED IMMUNOASSAY FOR DNA ANTIBODIES: A NEW AGE WITHOUT CLIFT?

H-05

**A. Melegari, A. Fortuna, F. Roncaglia, R. Roncaglia**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico di Modena

*Background and aims:* The determination of dsDNA antibodies by Indirect Immunofluorescence (CLIFT) assay presents several negative aspects for the variability in results. Our aim was the evaluation of the diagnostic efficacy of an automated detection system for antibodies against dsDNA, comparing the results achieved by this method to our routine tests and CLIFT.

*Methods:* The sera of 308 patients from our routine, were tested in a period from may 2007 to september 2007. Anti dsDNA antibodies were measured by ELiA dsDNA (Phadia) on ImmunoCap 250 and at the same time dsDNA Elisa Generic Assay (Alifax) on Tek4 (in use in our Laboratory) versus Crithidia luciliae immunofluorescence test, using a kit from AlphaDia.

*Results:* We found an overall concordance of 264 samples (85,71%) with both methods ELiA and Generic Assay versus CLIFT, where: 76 samples were LES cases with a Positive concordance with the three methods and 188 samples have a Negative concordance with the three methods. We had 44 (14,28%) discordant samples with: 38 samples with dsDNA ELiA Negative, dsDNA Generic Assay Positive and CLIFT Negative (with no LES), 6 cases had CLIFT Positivity (or equivocal Positivity) and both the two method ELiA and Generic Assay were Negative. We investigated the clinical history of this 6 cases (systemic immune disorder).

*Conclusions:* These results demonstrated that the ELiA dsDNA on ImmunoCap 250 technology has performed characteristics that are well suited for the quantitative determination of autoantibodies. Good correlation was observed between dsDNA antibodies by ELiA and by CLIFT. This system is well fitted into a large laboratory offering advantage for a great number of tests. Utilization of dsDNA CLIFT may be helpful to further-analyze these Autoantibodies and better identify them in a limited number of cases. These findings would suggest that more than one assay should be useful for diagnosis and monitoring only for few cases. The ELiA dsDNA determination seems to fulfill routine laboratory requirements saving cost and time and in combination with clinical manifestations makes diagnostic approach accurate.

**L'ANALISI DEL LIQUIDO SEMINALE IN CITOFLUORIMETRIA: PRELIMINARE ESPERIENZA****H-06****M. Carta, M. Negri, E. Marzot, G. Soffiati**

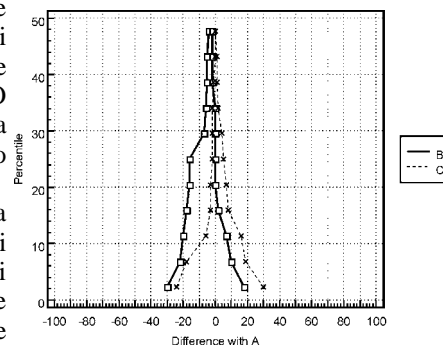
Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "San Bortolo" – Vicenza

*Scopo del Lavoro:* L'infertilità di coppia è un problema medico e sociale emergente. In questo ambito riveste particolare importanza l'analisi del liquido seminale per valutare l'infertilità maschile. Tale analisi viene eseguita usualmente ricorrendo alla microscopia ottica (MO). L'esame così eseguito presenta una elevata variabilità tra diversi operatori, al punto da condizionare largamente la validità del dato fornito. Negli ultimi anni è stata proposta l'impiego della citofluorimetria a flusso (CF) che consentirebbe di eseguire su un unico campione di liquido seminale la concentrazione degli spermatozoi e la loro vitalità.

*Materiali e Metodi:* Abbiamo esaminato al citofluorimetro (Becton Dickinson Fac Scan) 36 campioni di liquido seminale utilizzando il BD Cell viability Kit che offre la possibilità di distinguere cellule morte da cellule vive grazie all'uso di due coloranti, l'arancio di tiazolo (TO) che marca tutte le cellule e lo ioduro di propidio (IP) che marca le cellule morte. Aggiungendo al campione un quantitativo noto di biglie fluorescenti in sospensione è possibile eseguire la conta assoluta degli spermatozoi. Abbiamo valutato la ripetibilità dei conteggi: 3 esaminatori hanno allestito e letto il preparato in maniera indipendente l'uno dall'altro. I risultati ottenuti al CF sono stati confrontati con quelli al MO con camera Cell-VU (Millennium Sciences Inc, New York, USA). È stata valutata la vitalità degli spermatozoi confrontando il risultato ottenuto al CF con quello ottenuto al MO dopo colorazione con eosina.

*Risultati:* L'elaborazione statistica (Mountain Plot) mostra una buona riproducibilità del metodo al CF tra operatori diversi. La correlazione tra i valori ottenuti al CF e al MO è buona ai valori bassi di spermatozoi, mentre per valori assoluti più elevati, al CF il numero di spermatozoi letto è più elevato. Da discutere se questo risultato indichi una sovrastima delle letture al CF o piuttosto un limite dell'operatore nel riuscire a contare correttamente al M.O quando il numero di spermatozoi è molto elevato. Per quanto riguarda la vitalità, la correlazione tra i due metodi è buona (bias -2,2, limiti di concordanza da -17,4 a 12,9).

*Discussione e conclusioni:* Nonostante sia necessario proseguire l'esperienza con altri campioni, tuttavia l'analisi del liquido seminale al CF sembra poter semplificare e standardizzare maggiormente l'esame.

**VALUTAZIONE COMPARATIVA DI METODICHE PER LA DETERMINAZIONE DEL FATTORE REUMATOIDE E DEL TITOLO ANTISTREPTOLISINICO****H-07****L. Loiodice, M. Tampoia, A. Fontana, A. Colacicco, A. Verna, S. Marsico, A. Zucano**

U.O. Patologia Clinica I, Policlinico di Bari

*Scopo del lavoro.* Scopo del nostro lavoro è stato comparare due nuove metodiche immunonefelometriche per la determinazione del Fattore Reumatoide (RFn Dade) e del titolo antistreptolisinico (ASLn Dade) nei confronti di quelle (Dade) già in uso nel nostro laboratorio.

*Materiali e metodi.* Sono stati analizzati 39 sieri per il dosaggio del Fattore Reumatoide e 26 per la determinazione di ASLn provenienti dalla routine. Sui 39 campioni è stato eseguito, nella stessa seduta analitica, il dosaggio RF sia con RFn, dotato di reattivo latex pronto all'uso, sia con RF latex da ricostituire; sui 26 campioni di sieri è stato eseguito il dosaggio dell'ASLn sia con ASLn pronto all'uso sia con ASLn latex da ricostituire. Le determinazioni sono state eseguite su nefelometro BN2 (Dade) in completa automazione. Per tutte le metodiche sono stati utilizzati i parametri analitici e i controlli di qualità interni previsti dalla ditta produttrice (Dade). L'imprecisione è stata valutata con il CV% intraserie per tutti i metodi. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software Analysis.

*Risultati.* Il range di valori per l'RF è stato di 9,2-1800 UI/ml, per l'ASLn è stato di 11,2-799 UI/ml, mentre per l'RFn è stato di 9,4-2690 UI/ml e per l'ASLn è stato di 11,2-828 UI/ml. Il t test di Student con dati appaiati ha evidenziato valori di P=0,54 per RF e P=0,66 per ASLn, entrambi non statisticamente significativi. La comparazione di Passing & Bablok ha riportato i seguenti coefficienti: Pendenza= 1,010, Intercetta = 2,878 per RF; Pendenza = 1,173 e Intercetta= 4,62 per ASLn).

*Discussione e conclusione.* La valutazione comparativa tra le due metodiche per il dosaggio dell'RF e quelle per il dosaggio dell'ASLn ha evidenziato una ottima concordanza su tutti i punti di concentrazione in esame. Pertanto, è stata assicurata l'abilità del laboratorio nel fornire risultati equivalenti per una corretta diagnostica clinica.



**POCT NELLA VALUTAZIONE DELL'HBA1C IN PAZIENTI DIABETICI AMBULATORIALI****H-08****O. Antelmo, G. Daniello, L. Rossi\*, G. Pellegrini\*, C. Consani, E. Matteucci, O. Giampietro**

\*Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Dipartimento Medicina Interna - Diabetologia, Ospedale S. Chiara, AOU Pisana, Pisa

*Scopo del lavoro:* E' stata documentata la relazione tra controllo glicemico, quantificato da determinazioni seriali dell'HbA1c, e rischio di sviluppare le complicanze croniche del diabete mellito. L'American Diabetes Association-ADA raccomanda di eseguire tale dosaggio almeno due volte l'anno. I laboratori dovrebbero usare solo metodiche analitiche certificate dal National Glycohemoglobin Standardization Program-NGSP (interassay CV<5%), cioè calibrate sul metodo di riferimento del Diabetes Control and Complications Trial-DCCT (HPLC cation-exchange method). Lo studio ha permesso di valutare un metodo che utilizza la tecnologia Point of Care Testing (POCT - CLIA waived) per la determinazione dell'HbA1c.

*Materiali e metodi:* Il metodo utilizzato è il sistema A1C Now + Metrika (EXXE, Milano), in grado di eseguire il test utilizzando solo 5 µl di sangue capillare, con metodica di tipo immunologico con anticorpo anti-A1c coniugato con microparticelle blu. Sono stati analizzati 100 test POCT su sangue capillare, confrontati con il dosaggio HbA1c eseguito dal Laboratorio Analisi Chimico-cliniche con metodo HPLC TOSOH. Tutte le determinazioni POCT sono state eseguite direttamente su pazienti diabetici ambulatoriali con puntura del polpastrello, per la raccolta del sangue capillare. Range dei valori di ematocrito dei campioni analizzati compreso tra 26.2 e 50.9% (media 40.5%). Dosati anche: glicemia, colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi, creatinemia e bilirubinemia totale (analizzatore Modular, Roche Diagnostici, Monza).

*Risultati:* A1C Now + determina, oltre all'HbA1c, l'Hb totale (metodo meta-Hb) per il calcolo della percentuale di emoglobina glicata. Il livello medio dell'HbA1c EXXE è risultato 7.3±1.2 vs TOSOH 7.0±1.1 con una differenza media di 0.28 (p<0.0001, t test per dati appaiati). I risultati ottenuti con EXXE correlano in modo altamente significativo con quelli TOSOH (r 0.94, p<0.0001). Il CV intra-dosaggio risulta 3.9% per un livello di HbA1c di 6.5% e 4.1% per un livello di 10.5% (9 replicati ciascuno); il CV inter-dosaggio risulta 4.8 e 4.6%, rispettivamente.

*Discussione e conclusioni:* Solo la concentrazione plasmatica di creatinina interferisce in modo statisticamente significativo (coefficiente 0.186, p = 0.0366) con i livelli di HbA1c misurati con il metodo EXXE. I CV risultano buoni, considerando ottimali per la tecnologia POCT utilizzata CV inferiori al 5%. Il metodo risulta molto funzionale e di semplice utilizzazione; lo strumento, di piccole dimensioni e facile trasporto, permette una valutazione rapida ed estemporanea di pazienti nosocomiali oppure di pazienti diabetici in situazioni esterne al presidio ospedaliero, come il domicilio, la farmacia e lo studio medico.

**VALORE PREDITTIVO DEL DOSAGGIO SIERICO DI CISTATINA C SUL CALCOLO DEL FILTRATO GLOMERULARE****H-09****L. Rossi, O. Antelmo\*, C. Donadio°, L. Olivieri**

U.O. Analisi Chimico-Cliniche - Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana; \*Dipartimento Medicina Interna-Diabetologia, °Dipartimento Medicina Interna-Nefrologia, Università di Pisa

*Scopo del lavoro:* La Cistatina C (Cys) è una proteina ubiquitaria, la cui produzione è costante e non influenzata da processi infiammatori, sesso, età, dieta e stato nutrizionale. A livello del rene essa filtra liberamente attraverso la membrana glomerulare e viene quasi completamente riassorbita dal tubulo prossimale. Ciò la rende un valido indicatore del filtrato glomerulare. Scopo di questo studio è quello di valutare la possibilità di sostituire la determinazione del filtrato glomerulare con un semplice test immuno-turbidimetrico per il dosaggio della Cys da effettuare su analizzatore automatico.

*Materiali e metodi:* Viene utilizzato il dosaggio turbidimetrico Cystatin C Immunoassay, Gentian adattato con metodica aperta su analizzatore Roche Modular (T1) su 160 soggetti adulti donatori di sangue presunti sani (80 maschi e 80 femmine). I risultati sono confrontati con quelli del metodo tradizionale nefelometrico N Latex Cystatin C, Dade Behring (N1). Successivamente vengono confrontati i risultati ottenuti attraverso i metodi T1 e N1 su 150 pazienti nefrologici (68 maschi e 82 femmine) di età compresa tra 15 e 85 anni e con diverso grado di compromissione della funzionalità renale (creatinina 0,4-6,9 mg/dL). I due test vengono infine correlati al calcolo del filtrato glomerulare (GFR) eseguito sugli stessi soggetti. Questo era stato precedentemente determinato in tutti i pazienti mediante il calcolo della clearance renale del 99mTc-DTPA. I campioni sierici prelevati in concomitanza del GFR e immediatamente sottoposti al dosaggio N1, sono stati conservati congelati a -80°C fino al momento del dosaggio T1.

*Risultati:* Il dosaggio T1 sui donatori mostra un valore medio di 0,72 mg/L, con una DS di 0,22, per cui il valore discriminante può essere individuato in 1,16 mg/L. Il CV interserie è pari a 2,7%, mentre quello intraserie risulta essere 2,4%. Non si osservano differenze statisticamente significative tra maschi e femmine. Nell'ambito dei pazienti nefropatici, si evidenziano un CV interserie del 1,8% ed una intraserie di 1,3% su una media di 2,38 mg/L. Il confronto tra i dati T1 e quelli N1 mostra un'ottima corrispondenza ( $y = 1,044x + 0,104$ ;  $r^2 = 0,990$ ). Entrambi i metodi di dosaggio della Cys mostrano un elevato grado di correlazione logaritmica con il GFR ( $r = 0,91$  per N1 e  $r = 0,93$  per T1). Le formule calcolate per predire il GFR sulla base dei due test Cys presi in considerazione sono:  $GFR = 73,084 \times (Cys\ N1) - 1,0642$  e  $GFR = 67,752 \times (Cys\ T1) - 1,2324$

*Discussione e conclusioni:* Alla luce di questi risultati possiamo attestare l'efficacia predittiva dei metodi T1 e N1 sul calcolo del GFR, e questa efficacia appare maggiore usando il metodo T1.

## PERFORMANCES DI UN ALGORITMO PER LO SCREENING DELLE BATTERIURIE ELABORATO DALL'OSSERVAZIONE DI ROUTINE DEI CAMPIONI ANALIZZATI CON STRUMENTAZIONE AUTOMATICA iQ200 Sprint™

H-10

**F. Torricelli, S. Del Buono, G. Patelli, R. Tarozzi, A.M. Cenci**

Nuovo Ospedale S. Agostino-Estense AUSL Modena

*Scopo del lavoro:* valutare le performances e le potenzialità diagnostiche nell'applicazione pratica in routine di un algoritmo per lo screening delle batteriurie, elaborato utilizzando i sistemi IRIS iQ200 Sprint™ (Instrumentation Laboratory), e con il confronto tra l'esame delle urine e l'urinocoltura.

*Materiali e metodi:* Sono stati valutati campioni di urina sterile provenienti da 1076 pazienti afferenti con richiesta di urinocoltura al Laboratorio Centralizzato dell'Ospedale di Baggiovara. Il numero dei campioni è stato ridotto a 1015 per l'esclusione di quanti presentavano flore microbiche miste. Per l'esame chimico-fisico sono stati utilizzati sistemi Menarini (2 AutionMaxAX-4280), per la lettura automatizzata del sedimento 4 IRIS iQ200 (IL), integrati tra loro da software gestionale Director Menarini. Tutti i campioni sono stati sottoposti alla semina routinaria in piastra (metodica semiquantitativa: tecnica dei 4 quadranti con ansa calibrata 10µL), terreni COS ed MCK.

*Risultati:* Il risultato della semina è stato utilizzato come standard di riferimento per la classificazione dei risultati. Per l'analisi del sedimento sono state seguite le regole generali di revisione in uso presso il laboratorio, che prevedono livelli decisionali differenziati in soglie di rilascio per il sistema iQ200 (autovalidazione) e in regole incongruenza tra chimico fisico e sedimento sul sistema esperto Director. Da questa valutazione si è potuto estrapolare un modello per identificare i campioni con probabile urinocoltura positiva (sospetta IVU). I parametri e le relative soglie presi in considerazione sono stati i seguenti: Esterasi  $\geq 75$  WBC  $\geq 71$  Batteri: presenza; Nitriti + EPD  $> 10.000$

*Discussione e conclusioni.* Dalla valutazione ottenuta con le regole sopra esposte il Valore Predittivo Negativo (VPN) viene stimato 95,8% e il Valore Predittivo Positivo (VPP) è di 61,9%, con una percentuale di campioni FN pari a 3,2%. Questi dati confortano l'ipotesi dell'importanza tuttora assunta dall'esame delle urine standard nella valutazione dell'infezione delle vie urinarie (IVU), anche senza l'utilizzo di algoritmi dedicati: senza volersi porre come metodo di screening per la semina su piastra, l'esame automatizzato delle urine si candida a valido ausilio, affiancando il microbiologo nella valutazione delle crescite microbiche, potendo anche indirizzare all'utilizzo della terapia antibiotica empirica, nell'attesa della conferma microbiologica.

## IMPATTO CLINICO DELL'ESAME DEL SEDIMENTO IN AUTOMAZIONE

H-11

**F. Torricelli, D. Guerri, N. Lelli, E.R. Testa, A.M. Cenci**

Nuovo Ospedale S. Agostino-Estense AUSL Modena

*Scopo del lavoro:* evidenziare l'utilità clinica dell'esame delle urine in microscopia automatizzata come contributo nella definizione delle patologie renali e delle vie urinarie.

*Materiali e metodi:* Per l'esame chimico-fisico si utilizzano sistemi Menarini (2 AutionMaxAX-4280), per la lettura automatizzata del sedimento 4 IRIS iQ200 (IL); gli strumenti risultano integrati attraverso il software gestionale Director Menarini. I campioni di urina vengono sottoposti a revisione microscopica da parte del personale laureato in base a regole pre impostate nel software gestionale sia dell'iQ200 che del sistema esperto e finalizzate ad evidenziare i casi significativi.

*Risultati.* Si riportano tre casi presentatisi nel corso della routine afferente al laboratorio dell'Ospedale di Baggiovara-AUSL: 1° caso Bambino di 6aa, ricoverato nella UO di pediatria per gastroenterite. L'esame delle urine giunge ad osservazione del laureato attraverso le regole di autovalidazione per il superamento della soglia di valore degli RBC. Alla revisione delle immagini strumentali si evidenziano formazioni di tipo cilindro eritrocitario, confermati al microscopio. Il quadro del sedimento depone per un'origine glomerulare dell'ematuria, contribuendo alla definizione della diagnosi di glomerulonefrite post-infettiva. 2° caso: ragazzo di 13aa, con esame urine richiesto per idoneità ad attività sportiva, fermato dalle regole di incongruenza per età ( $\leq 13aa$ ): alla revisione dei quadri strumentali appaiono inequivocabili immagini di cristalli di cistina, per cui il paziente viene avviato al centro provinciale per la calcolosi, dove viene confermata la diagnosi di cistinuria e impostata una tempestiva terapia. 3° caso: Bambina di 6aa, con richiesta di esame chimico fisico e colturale delle urine, portata a osservazione del validatore per età ( $\leq 13aa$ ) e per Cellule non squamose(NSE) $> 11$ . A revisione-video si evidenziano cellule di grandi dimensioni assieme a rari leucociti, riconoscibili al microscopio come elementi monocitari; questo ritrovamento induce una prolungata osservazione delle piastre di semina, con successivo isolamento di streptococco  $\hat{a}$  emolitico di gruppo A.

*Discussione e conclusioni.* I casi proposti supportano le seguenti affermazioni: 1) attraverso l'insieme di conoscenza approfondita della strumentazione e creazione di un sistema appropriato di regole efficienti da parte dell'Operatore, può avvenire una selezione di campioni da sottoporre ad approfondimenti diagnostici, efficace e importante come contributo nell'orientamento diagnostico del paziente; 2) tale attività può essere espletata a tutti gli effetti in laboratori di grandi dimensioni e ad alta produttività, anche in ragione dell'impatto organizzativo e della massa critica di test eseguiti.

## COMPARAZIONE FRA CITOFLUORIMETRIA E BIOCHIP ARRAY PER LA DETERMINAZIONE DI CITOCHINE CIRCOLANTI

H-12

**M.C. Tassone, P. Squillace, A. Procopio\*, M.G. Scarmozzino, D.P. Foti**

Cattedra di Patologia Clinica, \*Cattedra di Patologia medica veterinaria, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università "Magna Graecia" di Catanzaro.

Nel laboratorio biomedico trovano sempre più ampie applicazioni le misurazioni di profili multiparametrici. Esse sono basate su metodologie con miniaturizzazione spinta, ridotti tempi di analisi e capacità di discriminare simultaneamente diversi analiti, in piccoli volumi di campioni biologici, utilizzando un unico segnale di lettura. Queste peculiarità rendono tali metodologie attraenti ed applicabili in vari settori della medicina di laboratorio, in particolare nell'ambito di condizioni patologiche caratterizzate da alterata/persistente risposta flogistica, quando è importante lo studio del profilo citochinico. *Scopo del nostro studio* è quello di fornire un confronto fra la determinazione delle citochine circolanti mediante citofluorimetria ed una metodologia di recente introduzione in microarray.

*Materiali e metodi.* La determinazione di citochine circolanti è stata effettuata su 30 diversi campioni di plasma ottenuto da pazienti selezionati. I campioni sono stati conservati a -20°C e scongelati prima dell'uso. In citofluorimetria, è stata utilizzata la metodica cytometric bead assay CBA (kit Th1/Th2 cytokine assay, BD) per la valutazione di IL2, IL4, IL6, IL10, TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$  in un volume di 50 $\mu$ l di campione biologico, da tempo utilizzata nel nostro laboratorio. Biglie ricoperte da anticorpi monoclonali specifici, interagendo con l'anticorpo secondario marcato con PE, permettono di determinare la quantità delle singole citochine. L'altra metodologia studiata è il Biochip array della Randox Laboratories. Sulla strumentazione "Evidence Investigator" mediante il kit "cytokines and growth factors" si possono determinare, in 100 $\mu$ l di campione, IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , MCP1, VEGF, EGF. L'impiego del sistema sandwich consente di misurare simultaneamente tutti gli analiti da testare su ogni singolo biochip utilizzando la chemiluminescenza come unico sistema di rivelazione.

*Risultati.* Abbiamo ottenuto una correlazione molto significativa fra i risultati analitici ottenuti sugli stessi campioni biologici con le due metodologie. In particolare, per IL6, il coefficiente di determinazione  $r^2$  è risultato pari a 0,9214 e per IL10 pari a 0,8726. I CV intra-assay e inter-assay per IL6 e IL10 erano inferiori al 7% in citofluorimetria ed al 10% in microarray.

*Discussione e Conclusioni.* La determinazione delle citochine mediante metodologie multiparametriche offre grandi vantaggi rispetto all'impiego di dosaggi tradizionali. Il laboratorista è, quindi, in condizioni di fornire nuove e sempre più complete informazioni in relazione all'appropriatezza delle richieste analitiche.

## ORGANIZZAZIONE DEI PERCORSI DI CONFERMA IN INFETTIVOLOGIA: I DOSAGGI TOXOPLASMA E ROSOLIA

H-13

**S. Tagliavini, D. Carra, M. Varani, L. Giampaolo, A.M. Cenci**

Lab. Pat. Clin. Corelab NOCSAE – AUSL Modena

*Introduzione:* Il laboratorio BLU esegue circa 8.000.000 di test/anno, 12% immunometrici su piattaforme Abbott e Beckman Coulter fisicamente connesse ad un sistema di automazione Power Processor. I dosaggi per Toxoplasma e Rosolia sono in routine su AxSYM (Abbott), le conferme su un sistema VIDAS (bioMérieux) stand alone.

*Scopo del lavoro:* Essendo presenti in automazione due UniCel DxI800, i test in oggetto sono stati confrontati con i metodi in uso, valutandone le performance, per saggiarne le potenzialità, nell'ipotesi di un nuovo assetto organizzativo completamente automatizzato.

*Materiali e metodi:* Sono stati studiati 110 campioni della routine afferente al laboratorio (interni da 4 ospedali ed esterni di tutta la provincia). Nel comprensorio sono presenti UUOO di Ostetricia e la popolazione servita è multi-etnica. Per i dosaggi IgG i campioni sono stati testati in parallelo su AxSYM (MEIA) e DxI800 (chemiluminescenza), per le IgM anche su VIDAS (ELFA). Il campione è stato arricchito di 20 prelievi da sieroteca di gravide positive a precedenti analisi (15 con dati del test di avidità IgG VIDAS). Sono state poi valutate le performance di precisione e ripetibilità dei 2 metodi in automazione dosando in doppio 40 campioni random.

*Risultati:* Per le IgG, AxSYM e DxI800 hanno mostrato una concordanza del 100%. La concordanza per Toxo IgM e Rubeo IgM è invece risultata rispettivamente del 93,75% e del 96,36%. L'analisi dei discrepanti, valutata in confronto al metodo di riferimento in uso, mette in evidenza per i 5 campioni Rubeo IgM, conferme alternanti, con la necessità di indagini ulteriori. In nessuno dei casi viene comunque registrato un passaggio "+/-". Per quanto riguarda gli 11 campioni discrepanti Toxo IgM si confermano le considerazioni di cui sopra ad eccezione del fatto che in 3 casi compaiono discordanze "+/" (1 falso positivo DxI e 2 falsi negativi AxSYM rispetto al test di riferimento VIDAS). Nel campione selezionato di gravide positive da sieroteca, DxI conferma i dati ottenuti in precedenza. La ripetibilità risulta ottimale per il metodo in valutazione, a qualsiasi concentrazione, con conseguente ipotesi di necessità di verifica solo per valori border-line. Per il metodo in routine si rilevano 2 campioni non ripetibili per Rubeo IgG e 1 per Toxo IgG, con passaggio per quest'ultimo "-/+".

*Discussione e conclusioni:* Le performance ottenute in questo studio preliminare dimostrano che i dosaggi in chemiluminescenza Access® Toxo IgG/IgM e Rubeo IgG/IgM danno risultati ripetibili e accurati, garantendo l'affidabilità necessaria nella risposta ai quesiti clinici. UniCel DxI800 si propone pertanto come un valido sistema alternativo e/o di backup nell'organizzazione del percorso di conferma diagnostica in infettivologia.

## CONFERMA CROMATOGRAFICA (HPLC E GC-MS) DELLA RICERCA DI DROGHE D'ABUSO NELLE URINE: UN ANNO DI ATTIVITA' NEL LABORATORIO ANALISI DI FORLI'

H-14

**L. Ricotti, M. Rosetti, C. Satanassi, E. Ciocca, M. Conti, S. Ruggeri, R. Dorizzi**

Dipartimento dei Servizi, U.O. Laboratorio Analisi Ospedale Morgagni-Pierantoni, Azienda Unità Sanitaria Locale di Forlì, Italia

*Scopo del lavoro:* La tecnica KIMS (Kinetic Interaction of Microparticle in Solution) è stata utilizzata per la messa a punto di metodi automatici di determinazione delle droghe di abuso e rappresenta oggi una alternativa alla tecnica EMIT, CEDIA, FPIA. Lo scopo del lavoro è stato quello di confrontare i risultati ottenuti con tale tecnica nelle determinazioni eseguite (oppiacei, cocaina, cannabinoidi, MDMA/anfetamine e metadone) sui campioni urinari ricevuti dal marzo 2007 al febbraio 2008 dal nostro laboratorio.

*Materiali e metodi:* Gli esami di screening sono state eseguiti con metodica immunometrica (KIMS) su analizzatore automatico Modular (Roche, Basilea, Svizzera). Gli esami di conferma sono stati eseguiti mediante cromatografia liquida ad alta pressione (REMEDI HS BioRad, Hercules, CA, USA) e spettrometria di massa (LXQ Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Sono stati inoltre presi in considerazione i risultati discordanti ed evidenziati gli eventuali interferenti.

*Risultati:* Sono stati analizzati 8867 campioni; 1319 (14.9%) sono risultati positivi ad almeno un test; 84 (6.3%) non sono stati confermati, 65 di questi riguardano l'esame MDMA/anfetamine.

*Discussione e conclusioni:* La tecnica KIMS si è rivelata soddisfacente nell'analisi di oppiacei, cocaina, cannabinoidi e metadone; la ricerca di MDMA/anfetamine si è dimostrata essere soggetta ad interferenti che inducono falsi positivi al test di screening. Fra gli interferenti più frequentemente riscontrati ci sono: Trazodone, Clorpromazina e Ranitidina.

I risultati sono in linea con la letteratura (Schwettmann L et al Clin Chem Lab Med 2006; 44: 479-87; De Giovanni N et al Clin Chem Lab Med 2006; 44: 894-7; Lu NT et al Forensic Sci Intern 2006; 157: 106-16).

## VALUTAZIONE E PROBLEMATICHE DI UN TEST ANALITICO PER D-DIMERO ESEGUIBILE IN POCT

H-15

**R. Giacomello, P. Metus, P. Cappelletti**

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli Pordenone

*Premessa.* L'attivazione di esami in POCT necessita di una attenta valutazione delle performance analitiche e della correlazione dei risultati vs Laboratorio.

*Scopo del lavoro:* valutare le performance analitiche e l'accuratezza diagnostica dei metodi per la determinazione del D-Dimero, in particolare per la diagnostica delle patologie tromboemboliche venose.

*Materiali e metodi.* Il metodo DDMR TestPak per Stratus CS STAT è un test immunometrico a due siti (RPIA). Il metodo D-Dimer HS su ACL Advance utilizza un test immunoturbidimetrico. Per lo studio della linearità sono stati utilizzati 5 pool di plasma a diversa concentrazione tra 3620 e 226 ng/mL, analizzati in doppio. La precisione è stata valutata utilizzando 3 pool di plasma a diversa concentrazione (325, 599, 3616 ng/mL) misurati in doppio per 20 giornate. Sono stati studiati 120 pazienti (70 femmine e 50 maschi con età media 65 anni, range di età 21 - 100 anni) con riscontro diagnostico noto.

*Risultati.* La linearità del metodo DDMR è espressa dalla regressione lineare  $y = 0.994x - 248.56$ ;  $r^2 = 0.9882$ . Lo studio dell'imprecisione ha prodotto rispettivamente CV% di 3.20%, 2.92% e 3.60% nella serie e CV% totale di 3.60%, 2.90% e 1.85% tra le serie. Nel confronto tra metodi non è stato possibile trovare una accettabile correlazione. Infatti eliminando gli outliers è stato ottenuto un R2 pari a 0.46 e a nulla sono valsi i tentativi di normalizzazione dei dati o la calibrazione di entrambi gli strumenti verso un unico standard per soddisfare il requisito di linearità secondo test statistico di Passing&Bablok. Per l'accuratezza diagnostica ai diversi cut-off suggeriti (ACL < 260 ng/mL, Stratus < 552 ng/mL), 30 pazienti hanno dato risultati concordi negativi e 76 concordi positivi, mentre 14 (12%) presentano sui due strumenti risultati discordanti. Le analisi delle curve ROC individuano cut-off (550 ng/mL per DDMR e 220 ng/mL per D Dimer HS) che associano 96.2% di sensibilità, 50.8% di specificità, VPN di 93.8% e 96.4% di sensibilità, il 61.0% di specificità, VPN di 94.7%, rispettivamente.

*Discussione e conclusioni.* Le performance analitiche sono soddisfacenti e corrispondenti a quanto dichiarato, mentre i tentativi di correlazione, normalizzazione e calibrazione contro un unico standard si sono rivelati del tutto insoddisfacenti. In effetti l'antigene DD è un'analita eterogeneo per il quale non vi è alcuno standard di riferimento riconosciuto. Ciò determina valori di cut-off disuguali fra i due metodi in esame, considerando i risultati in termini assoluti. Quindi l'utilizzo di entrambi i metodi per lo stesso paziente può portare a esiti diagnostici contraddittori e fuorvianti.

## EFFICACIA CLINICA DEL DOSAGGIO QUANTITATIVO DEI MARCATORI IMMUNOLOGICI DI GASTRITE AUTOIMMUNE

H-16

**A. Antico, A. Siviero, G. Maragno, S. Masin, A. Pavin, M. Prete, F. Secco, R. Morabito, L. Bacelle**

Dipartimento di Patologia Clinica U.L.S.S. 15-Regione Veneto, P.O. Cittadella (PD)

*Scopo del nostro studio* è stato valutare l'efficacia clinica dei metodi immunoenzimatici (EIA) quantitativi rispetto ai quantitativi discreti immunofluorescenza (IFI) e immunoblotting (IB) nella ricerca degli anticorpi anti cellule parietali gastriche (APCA) e anti Fattore Intrinseco (anti FI).

*Materiali e metodi:* abbiamo arruolato 36 pazienti affetti da patologia gastrica autoimmune dimostrata istologicamente, di età compresa tra 25-87 anni, tutti positivi per APCA all'IFI a titolo significativo:  $> 1:160$  (EUROIMMUN ITALIA); 7 presentavano anche anti FI, determinati con metodo IB (ALIFAX). Sui sieri dei 36 soggetti abbiamo determinato APC A con 2 metodi EIA quantitativi: il primo utilizza come antigene l'enzima adenosintrifosfatasi (ATPase) nativo (AESKU), il secondo ATPase gastrica porcina (ORGENTEC); inoltre gli anti FI con 2 metodi EIA quantitativi che impiegano un antigene ricombinante (AESKU e ORGENTEC). I campioni risultati positivi in IFI su stomaco di ratto sono stati confermati in IFI su stomaco di primate.

*Risultati:* L'EIA con ATPase nativa ha dimostrato sensibilità 97%, specificità 90%, valore predittivo positivo (VPP) 91.7% efficienza 93.8%; quello con ATPase porcina ha evidenziato sensibilità 91.9%, specificità 92.6%, VPP 94.4%, efficienza 92.2%. La concordanza tra i metodi IFI ed EIA nella ricerca di APCA, valutata mediante l'indice di Cohen, è risultata molto buona (IFI/EIA AESKU:  $K = 0.94$ ; IFI/ EIA ORGENTEC:  $K = 0.91$ ). Una casistica più ampia è necessaria per valutare la correlazione tra titolo e U/mL. EIA per il dosaggio di anti FI prodotto da ORGENTEC ha confermato la presenza degli anticorpi nei 7 pazienti positivi con IB; EIA AESKU ha evidenziato positività anche in un altro paziente. La concordanza tra EIA ed IB e tra i 2 metodi EIA è risultata molto buona ( $K > 0.89$ ).

*Discussione e conclusioni:* Studi sperimentali hanno confermato che APCA e anti FI sono predittivi di GAI, la loro variazione correla con l'andamento clinico della malattia e che tali sintomi di laboratorio compaiono molto tempo prima dei sintomi clinici. I nostri dati dimostrano che gli EIA testati correlano bene con IFI e IB; in più possiedono miglior efficacia clinica poiché associano all'ottimo VP il dosaggio quantitativo di APCA e anti FI, non dipendente da variabili analitiche e/o dall'esperienza dell'operatore, che consente di governare diagnosi e monitoraggio della malattia.

## POINT OF CARE TESTING: COMPARAZIONE TRA HEMOCHRON JR E BCS

H-17

**S. Dazzi, S. Deimichei, M.R. Gorza, L.G. Menghini, L. Campagna, P. Caciagli**

U.O. Patologia Clinica – Ospedale S. Chiara Trento

*Scopo del lavoro:* valutare un sistema di microcoagulazione per il tempo di protrombina (PT), da inserire nel punto di primo intervento di un presidio ospedaliero composto da una medicina generale e due day hospital (chirurgico e cardiologia riabilitativa). Il laboratorio di Patologia Clinica opera in un Ospedale certificato con gli standard Joint Commission International (JCI) i quali prevedono che esami fatti al di fuori del laboratorio siano sotto controllo dello stesso (standard JC AOP 5.3 e AOP 5.9).

*Materiali e metodi:* sono stati comparati i valori del PT di 71 pazienti in età adulta (range 28 - 91 anni) in terapia TAO (n° 55) e non (n° 16), raccolti in 6 giorni diversi presso il nostro centro prelievi. Di questi campioni, 54 (n° 39 in TAO e n° 16 "normali") sono stati centrifugati, processati in routine sul coagulometro BCS (Siemens), e poi accuratamente risospesi (sangue intero) e testati su Hemochron Jr (Cremascoli); i rimanenti 17 (tutti in TAO) sono stati prima processati sullo strumento portatile e poi centrifugati per ottenere il plasma utile all'esame su BCS.

*Risultati:* Si è ottenuta una correlazione di  $r = 0.948$  per campioni testati prima sul BCS e poi su Hemochron Jr e una migliore correlazione  $r = 0.966$  sui campioni analizzati prima su Hemochron Jr con sangue intero. Considerando l'esiguità dello scarto tra le due correlazioni, si è disposto di elaborare la totalità dei dati suddividendoli in due gruppi:  $INR \leq 2.00$  e  $> 2.00$ . La correlazione tra i due sistemi nelle due fasce rivela un'ottima corrispondenza nei valori di INR inferiori a 2.00,  $r = 0.919$  (n° 23) e una minor correlazione per la fascia maggiore di 2.00,  $r = 0.90$  (n° 48).

*Discussione e conclusioni:* lo strumento è semplice e comprensibile ai non addetti. Questi dati preliminari indicherebbero la validità del test PT, eseguito sul sistema di microcoagulazione Hemochron Jr, nella gestione di pazienti che arrivano al punto di primo intervento. Da parte del personale del laboratorio come per ogni strumento POCT occorre un vigilante controllo del mantenimento dell'allineamento con gli strumenti della routine così da garantire l'affidabilità dei risultati.

## AN EVALUATION OF THE ACCURACY AND RELIABILITY OF A NEW GENERATION POINT OF CARE HOSPITAL GLUCOSE METER, THAT CORRECTS FOR INTERFERENCE, IN A GENERAL HOSPITAL SETTING

H-18

**L. Cozzi<sup>1</sup>, C. Tartarotti<sup>2</sup>, M. Bonomo<sup>2</sup>, G. Bellavia<sup>3</sup>, G. Venturelli<sup>4</sup>, A. Marocchi<sup>1</sup>**

Niguarda Ca' Granda Hospital, Milan, Italy: <sup>1</sup>Clinical Chemistry Laboratory, <sup>2</sup>Diabetes Unit, <sup>3</sup>Medical Direction, <sup>4</sup>Pharmacy; <sup>5</sup>Gepa Srl, Milan, Italy

**Background:** Measurement and monitoring of blood glucose levels in hospitalized patients is a widely accepted routine and is important in patient management. However the glucose meters commonly used today were initially developed for home glucose testing and have subsequently migrated into hospital use. There is increasing evidence to indicate that interfering substances, such as drugs, metabolites or abnormal hematocrit levels commonly found in hospitalized patients can affect the accuracy of these meters. Recently a new generation glucose meter, StatStrip (Nova Biomedical, Waltham, MA, USA), designed to compensate for interference effects commonly associated with current glucose meters, has become available.

**Work Aim:** The aim of this study was to assess the accuracy and reliability of StatStrip in a general hospital setting alongside the current glucose meter (Ascensia Easyfill Bayer Healthcare, Leverkusen, Germany).

**Materials and Method:** Capillary blood was collected from hospitalized patients in four hospital units (ICU, Dialysis, Nephrology and Liver Transplant), and tested by StatStrip and Ascensia. The results were compared with the central lab hexokinase reference method performed on Roche Modular analyzer. Hematocrit levels were determined by automated hematology instruments (LH700 Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)

**Results:** In all four hospital patient units StatStrip demonstrated a closer correlation to the reference method compared to the meter in use. Analysis of the % bias discrepancy (defined as % bias glucose meter reading compared to reference laboratory glucose value) shows that StatStrip provides more accurate results than Ascensia. Bias plot analysis of patient hematocrit levels demonstrated a significant interference effect on the accuracy of Ascensia glucose meter readings. The accuracy of StatStrip glucose measurements were unaffected by varying hematocrit levels.

**Conclusions:** The StatStrip meter, which has been developed specifically for hospital use and designed to correct for interference factors, demonstrated better accuracy than the current glucose meter in four different hospital populations and was unaffected by varying hematocrit levels commonly found in hospitalized patients method.

Hospital unit	Meter	R <sup>2</sup>	Slope	Intercept (mg/dL)	% < 20% deviation from reference	n
Dialysis	StatStrip	0.974	0.997	8.793	95.5%	67
	Ascensia	0.886	1.284	-20.702	79.1%	67
Liver	StatStrip	0.974	0.898	16.711	95.2%	41
	Ascensia	0.889	1.063	-14.049	79.1%	48
Nephrology	StatStrip	0.952	1.087	1.498	80.0%	100
	Ascensia	0.809	1.300	-8.051	48.0%	99
ICU	StatStrip	0.901	1.010	12.167	84.1%	101
	Ascensia	0.779	1.021	0.472	79.2%	101

## PREANALITICA DELL'OMOCISTEINA: VALUTAZIONE DI UN NUOVO ADDITIVO P PER LA RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

H-19

**F. Manoni, L. Fornasiero, A. Galzignato, M. Nequinio, S. Previato, P. Zavattiero, L. Bussolin, I. Secondin, G. Ditta, T. Ruzzane, A. Robbiati, A. Bazzan, G. Paccagnella, L. Pulze, M. Ferrian**

Servizio Medicina di Laboratorio Este-Monselice Az. ULSS 17 Regione Veneto

**Scopo del lavoro:** Negli ultimi anni numerosi studi hanno dimostrato come elevati livelli di omocisteina rappresentano un fattore di rischio cardiovascolare. La fase preanalitica è cruciale per una corretta determinazione dell'omocisteina: i campioni devono essere conservati in ghiaccio subito dopo il prelievo e centrifugati appena possibile in quanto i globuli rossi rilasciano omocisteina nel plasma (fenomeno sia tempo che temperatura dipendente) determinandone falsi aumenti. Nuovi sistemi sottovuoto contenenti NaF inibendo l'attività enzimatica eritrocitaria ridurr ebbero le criticità legate alla fase preanalitica. Scopo di questo lavoro è quello di valutare la stabilità della omocisteina utilizzando questi nuovi dispositivi.

**Materiali e Metodi:** Sono stati analizzati 50 campioni provenienti da pazienti ambulatoriali afferenti al Servizio di Medicina di Laboratorio dell'ULS 17 di Monselice. I campioni sono stati raccolti in tre provette: una con K3EDTA conservata in ghiaccio fluente +2°C (procedura in uso) due con NaF (Ditta BD) di cui una conservata a t° ambiente (+22°C) e una in ghiaccio fluente. A 3 ore dal prelievo le provette sono state centrifugate e il plasma separato. Il dosaggio dell'omocisteina è stato eseguito con metodo in chemiluminescenza su ADVIA CENTAUR, Siemens. Per l'analisi statistica sono stati utilizzati i test T per dati appaiati.

**Risultati e conclusioni:** La sperimentazione condotta evidenzia diverse concentrazioni tra i campioni conservati in EDTA rispetto a quelli in NaF indipendentemente dalla t° di conservazione. Infatti si sono ottenuti i seguenti risultati: EDTA +2 °C = 27,95 uMol/L ± 14,98 vs NaF +2 °C 23,81 ± 12,23 con p<0,0001. EDTA +2 °C = 27,95 ± 14,98 vs NaF +22 °C = 23,58 ± 12,38 con p<0,0001. Non si sono evidenziati risultati diversi tra le concentrazioni dei campioni in NaF conservati a t° ambiente o a +2 °C: NaF +2 °C 23,81 ± 12,23 vs NaF +22 °C = 23,58 ± 12,38 con p= 0,40.

**Discussione e conclusione:** Dalla nostra esperienza il sistema sottovuoto contenente Na Fluoruro (BD) risulta essere in grado di inibire il rilascio di omocisteina sia a t° ambiente che a +2°C, migliorando le performances preanalitiche rispetto al metodo in uso. Infatti i valori medi di omocisteina nei campioni in K3EDTA risultano sempre significativamente più elevati rispetto a quelli con NaF indipendentemente dalla t° di conservazione utilizzata. Questo si traduce in una semplificazione operativa ed in una migliore garanzia di qualità pre-analitica soprattutto nei prelievi decentrati.

## VALUTAZIONE DI EVIDENCE INVESTIGATOR™ IN PAZIENTI CON SINDROME CORONARICA ACUTA

H-20

**D. Rubin, P. Cappelletti, B. Bertoli, E. Ottavian, M. Cassin\***

Laboratorio di Patologia Clinica Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Cardiologia\* AOSMA Pordenone

*Premessa.* Le associazioni internazionali raccomandano un approccio multimarker nella diagnosi di Sindrome Coronarica Acuta (SCA) dei pazienti afferenti al Dipartimento di Emergenza (DE) per dolore toracico acuto non traumatico.

Scopo del lavoro è valutare le performance di Evidence Investigator™ (Randox), strumento che permette la rilevazione quantitativa simultanea in un singolo campione oltre che di Troponina I (TnI), CK-MB e mioglobina (Myo) anche di “nuovi” parametri come Anidrasi Carbonica III (CAIII), Glicogeno Fosforilasi BB (GPBB) e Proteina Legante gli acidi grassi (FABP).  
*Materiali e Metodi.* Sono stati studiati 96 pazienti afferenti al DE del nostro Ospedale con dolore toracico acuto non traumatico divisi in tre gruppi in base alla diagnosi di dimissione: 34 pazienti (19 maschi e 15 femmine, età 42-94 anni) con Sindrome Coronarica Acuta con sopraslivellamento del tratto ST (SCAST, 31 pazienti (19 maschi e 12 femmine, età 42-91 anni) con SCANST e 31 pazienti (15 maschi e 16 femmine, età 31-94 anni) dimessi con diagnosi di dolore toracico non dovuto a causa cardiaca (TnI <0.05 ng/mL) e considerati “normali”. La diagnosi di SCA è stata effettuata sulla base dei dati clinico-laboratoristici secondo raccomandazioni ESC/ACC. Tutti i parametri sono stati valutati per accuratezza diagnostica tramite curve ROC mentre per quanto riguarda la TnI è stato effettuato un confronto con il metodo in uso presso il nostro laboratorio (Xpand Siemens).

*Risultati.* La correlazione dei dati ottenuti con i due strumenti evidenzia una pendenza di 0.69 (0.59-1.02) con intercetta 0.14 (0.13-0.15). Le curve ROC ottenute studiando i pazienti normali vs SCAST e SCANST evidenziano per: TnIAUC: 0.81, 95% CI: 0.72-0.89; FABPAUC: 0.89, 95% CI: 0.81-0.95; CKMBAUC: 0.82, 95% CI: 0.73-0.89; GBPPAUC: 0.72, 95% CI: 0.62-0.81; MyoAUC: 0.80, 95% CI: 0.71-0.88; CAIIIAUC: 0.62, 95% CI: 0.51-0.72. Pazienti normali vs SCAST: TnIAUC: 0.91, 95% CI: 0.80-0.97; FABPAUC: 0.95, 95% CI: 0.86-0.99; CKMBAUC: 0.93, 95% CI: 0.83-0.98; GBPPAUC: 0.85, 95% CI: 0.74-0.93; MyoAUC: 0.92, 95% CI: 0.82-0.97; CAIIIAUC: 0.63, 95% CI: 0.50-0.75. Pazienti normali vs SCANST: TnIAUC: 0.74, 95% CI: 0.62-0.84; FABPAUC: 0.84, 95% CI: 0.73-0.92; CKMBAUC: 0.73, 95% CI: 0.61-0.83; GBPPAUC: 0.61, 95% CI: 0.48-0.73; MyoAUC: 0.71, 95% CI: 0.58-0.82; CAIIIAUC: 0.61, 95% CI: 0.48-0.73.

*Conclusioni.* Per quanto riguarda l'aspetto analitico i due metodi correlano in maniera soddisfacente. Per quanto riguarda l'accuratezza diagnostica si conferma il valore della TnI e si evidenzia la possibile importanza della FABP. Nei sottogruppi l'accuratezza appare essere diversificata ma per conclusioni definitive sono necessari ulteriori studi.

## POCT: VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE DI UN COAGULOMETRO PORTATILE

H-21

**R. Giacomello, P. Metus, P. Cappelletti**

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli Pordenone

*Premessa.* L'utilizzo nei POCT dei “coagulometri portatili” ha aumentato notevolmente la difficoltà di progettazione di validi processi di standardizzazione e confrontabilità nella determinazione del PT-INR.

*Scopo.* Valutare il coagulometro portatile Hemochron® Jr. Signature Whole Blood Microcoagulation System (ITC USA), al fine di definire il suo utilizzo in termini di diagnosi e di monitoraggio delle alterazioni della coagulazione.

*Materiali e metodi.* Lo studio della precisione è stato effettuato su tre campioni di sangue intero con livelli differenti di PT analizzati 20 volte nell'arco di un ora. In 132 pazienti (63 maschi e 69 femmine; media 67 anni; range di età da 22 anni a 86 anni) di cui 75 in terapia anticoagulante orale e 57 no, i campioni sono stati processati prima su Hemochron e poi su ACL Advance come riferimento.

*Risultati e discussione.* Lo studio della precisione ha espresso un CV% di 11.77% nella serie con campione ad un valore medio di 1.1 INR; un CV% di 9.16% nella serie col campione in range terapeutico (TAO) con un valore medio di 2.8 INR; e un CV% di 4.96% nella serie col campione fuori range terapeutico (TAO) con un valore medio di INR di 7.3. L'analisi della regressione lineare del PT Hemochron verso ACL, su tutti i 132 campioni in esame, ha registrato i seguenti parametri: pendenza = 0.864; intercetta = 0.306 INR ( $r^2 = 0.8801$ ); per i campioni di plasma ottenuti da pazienti in TAO e non in TAO, le correlazioni ottenute sono rispettivamente: pendenza = 0.7169; intercetta = 0.879 INR ( $r^2 = 0.8145$ ) e pendenza = 1.126; intercetta = -0.1817 INR ( $r^2 = 0.457$ ). Il 5,3 % dei risultati con Hemochron è al di fuori dei limiti di confidenza al 95% del bias medio ottenuto dalla differenza dei valori di INR su Hemochron e ACL (+0.61 -0.77).

*Discussione e Conclusioni.* I nostri dati indicano che l'imprecisione del metodo in esame è peggiore di quella dichiarata dalla ditta nelle informazioni allegate al kit e in particolare rispetto al metodo di riferimento su ACL. L'analisi di campioni, i cui valori di INR oscillano nell'ambito del “range terapeutico”, risulta essere qualitativamente poco soddisfacente. La variabilità ottenuta al 95% del bias medio della differenza dei valori di INR su Hemochron e ACL potrebbe condurre ad una errata interpretazione terapeutica. L'insieme dei dati suggerisce che l'utilizzo di Hemochron possa avvenire, seppur con qualche cautela, in termini di diagnosi rapida di alterazioni della cascata coagulativa, ma non appaia come un buon metodo per il monitoraggio dei pazienti TAO. Di ciò i clinici dovrebbero essere a conoscenza e tener conto per poter usare la strumentazione proposta in modo appropriato.