

## CONFRONTO TRA MICROSCOPIA E METODI DIAGNOSTICI RAPIDI PER LA DIAGNOSI DI MALARIA "NEL VIAGGIATORE DI RITORNO"

D-01

**M. Dayes, E. Peer, G. Cosio, F. Rizza**

Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Sanitaria di Bolzano, Bolzano

**Introduzione.** La necessità che la diagnosi di malaria nel "viaggiatore di ritorno" febbrile sia tempestiva, accurata e di facile esecuzione, ha comportato l'introduzione nel nostro Laboratorio di un test immunocromatografico rapido (ICT Malaria P.f./P.v.). Scopo del nostro lavoro stabilire la validità di tale metodo.

**Materiali e metodi.** In un anno sono pervenute 56 richieste di ricerca plasmodi per sospetta malaria. Per ciascuno di questi pazienti sono stati eseguiti sia il test ICT che la ricerca microscopica. Per l'esame microscopico sono stati allestiti quattro "strisci sottili" osservati ciascuno da due operatori per 20'; solamente nei casi dubbi (ICT positivo e ricerca microscopica negativa) si è utilizzata la tecnica della "goccia spessa", che rispetto allo striscio sottile presenta una sensibilità notevolmente superiore pur essendo di più difficile interpretazione. Il test ICT è stato eseguito su sangue intero ricercando gli antigeni HRP-2 specifico per *Plasmodium (P.) Falciparum* ed un altro antigene comune sia al *P. Falciparum* che al *P. Vivax* (Kit AMRAD) (1).

**Risultati.** Dei 56 pazienti, 52 erano negativi e 3 sono risultati positivi ad entrambi i metodi; un paziente negativo alla ricerca microscopica (striscio sottile e goccia spessa) era positivo al metodo ICT.

**Discussione e Conclusioni.** Nella nostra casistica si è osservato un solo paziente che pur positivo alla indagine immunocromatografica era negativo alla ricerca microscopica; l'anamnesi ha stabilito trattarsi di un paziente con un pregresso trattamento per malaria e quindi una persistente antigenemia. La sensibilità diagnostica del metodo è risultata essere del 100%, la specificità del 98.1%. Concludendo si può affermare che in condizioni particolari ove non sia possibile utilizzare il microscopio, il metodo ICT possa costituire una corretta alternativa, senza però essere considerato sostitutivo alla diagnosi microscopica.

**Bibliografia.** 1) Gatti S, Bernuzzi AM, Bisoffi Z, Raglio A, Gulletta M, Scaglia M. Multicentre study, in patients with imported malaria, on the sensitivity and specificity of a dipstick test (ICT malaria P.f./P.v.) compared with expert microscopy. *Ann Trop Med Parasitol* 2002 Jan;96(1):15-8.

## EPIDEMIOLOGIA DELLE URINOCOLTURE NEL BAMBINO

D-02

**Podda R., Porcu P.P., Sanna M.**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia - Ospedale Oncologico "A. Businco - Cagliari

Questo studio si prefigge lo scopo di valutare l'incidenza e il tipo di infezioni riscontrate sulle urinocolture di bambini con sospetta infezione delle vie urinarie (I.V.U.), esaminate nel corso dell'anno 2002.

**Materiali e metodi.**

Per la valutazione sono state considerate le urinocolture di pazienti con età inferiore ai 12 anni. Tutti i campioni, in totale 2107, sono stati processati col sistema Linearcount della Microbiol, che consiste in una struttura plastica trasparente suddivisa in 5 scomparti in ognuno dei quali è stratificato un diverso terreno di coltura: Cled, Mac Conkey, Sabouraud, MSA, Enterococco Agar. Questo sistema consente di valutare la presenza di crescita microbica, di discernere tra gram negativi, stafilococchi, streptococchi e miceti, e, grazie ad una apposita scala graduata stampata sul bordo, di quantificare la carica microbica dei campioni risultati positivi.

**Risultati**

Sui 2107 campioni esaminati, 1671 pari al 79.3% sono risultati negativi. I campioni risultati positivi sono stati 436 (20.7%) così suddivisi: 391 gram negativi (90%), 40 gram positivi (9%) e 5 miceti (1%).

Tra i gram negativi i microrganismi più frequentemente identificati sono stati *E. coli* (214 casi), *Proteus mirabilis* (67), *K pneumoniae* (33), *Ps aeruginosa* (31), *Morganella morganii* (20)

Tra i gram positivi è stata riscontrata in 17 casi la presenza di *E. faecalis*, in 8 casi di altri streptococchi del gruppo D, e in 7 casi di *St. aureo*.

Tra i miceti è stata identificata in 5 casi *Candida albicans*.

**Conclusioni**

Dai dati esposti si evince che nelle urinocolture del bambino con sospetta IVU si riscontrano:

- un numero molto elevato di campioni positivi;
- una elevata percentuale tra i gram negativi oltre che di *E.coli*, di *Proteus mirabilis*;
- una bassa incidenza rispetto alla popolazione adulta di gram positivi e di miceti

Bibl. *Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infections in 1510 hospitalized patients: Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2001,40:3:129-136

D-03

**INDAGINE RETROSPETTIVA SULLE INFEZIONI GENITALI NELLA COPPIA INFERTILE****Podda R., Porcu P.P., Sanna M.***Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia - Ospedale Oncologico "A. Businco - Cagliari*

Presso il nostro laboratorio vengono effettuati gli esami microbiologici relativi alle coppie infertili afferenti al Centro per il Controllo della Sterilità. Scopo del nostro lavoro è valutare l'incidenza di infezioni genitali in questa popolazione.

**Materiali e metodi**

Nel corso del 2002 sono stati esaminati 2062 tamponi vaginali e 1283 liquidi seminali. Tutti i campioni sono stati seminati su Agar cioccolato, MacConkey, MSA e Sabouraud (Microbiol). I campioni risultati positivi sono stati identificati con sistema Vitek della BioMerieux.

**Risultati**

I campioni vaginali risultati positivi sono stati 874 (42%) così rappresentati: 519 Gram negativi (59%), 119 Gram positivi (14%) e 236 miceti (27%) .

I microrganismi isolati più di frequente sono stati: E coli (40%), C albicans (14%), K. pneumoniae (11%), C. glabrata (7%), S. agalactiae (4%), E. faecalis (3%), S. cerevisiae (3%) e S. aureus (3%).

I campioni di liquido seminale positivi sono stati 333 (26%), in questo modo suddivisi: 263 Gram negativi (79%), 66 Gram positivi (20%) e 4 miceti (1%).

In particolare sono stati isolati: E coli (50%), S. aureus (7%), K. pneumoniae (6%), P. mirabilis (6%), M. morganii (6%), E. faecalis (4%) e Ps aeruginosa (3%).

**Conclusioni.**

I risultati mostrano che nella donna la percentuale di positività è maggiore che nell'uomo; la causa di ciò è probabilmente da ricondurre alla particolare conformazione dell'apparato genitale femminile, più facilmente esposto alle infezioni soprattutto da parte di microrganismi endogeni. E' notevole anche la diversa frequenza dei microrganismi implicati nelle infezioni nei due sessi; in particolare si evidenzia nella donna rispetto all'uomo una incidenza molto elevata di miceti e di S. agalactiae e viceversa nell'uomo rispetto alla donna una maggiore incidenza di E coli, dei germi del genere Proteus e di S. aureus.

**INDAGINE PRELIMINARE SULL'INCIDENZA DI ISOLAMENTO DI STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (SGB) NEI TAMPONI VAGINO-RETTALI IN DONNE GRAVIDE.**

D-04

**M. Pautasso, P. Ferraguti, M. P. Sanna, G. Melis, M. D. Sofia, F. Tiddia;***Laboratorio Analisi Chimico- Cliniche e Microbiologia -P.O. San Giovanni di Dio - A.S.L.8-Cagliari*

**Scopo del lavoro.** Lo *Streptococco β emolitico di gruppo B (SGB)* o *Streptococcus agalactiae*, responsabile di sepsi neonatale (precoce o tardiva) che può portare ad exitus, è in grado di colonizzare le vie genitali e l'ultima parte del tratto gastro-enterico. La trasmissione di questo microrganismo da madre a feto è nella maggior parte dei casi verticale: avviene cioè al momento del passaggio del neonato nel canale del parto. Una identificazione dei principali fattori di rischio infettivo materno e feto-neonatale associata, soprattutto, ad un accertamento diagnostico precoce e ad una corretta antibiotico terapia, costituiscono un presupposto essenziale per prevenire le infezioni e limitare le relative manifestazioni morbose neonatali. Per questi motivi è stata messa a punto e verificata nell'arco di 9 mesi una procedura per cultura, isolamento e accertamento dello SGB.

**Materiali e Metodi.** Da Ottobre 2002 a Maggio 2003, nelle procedure diagnostiche microbiologiche per l'isolamento dell'SGB che prevedevano l'es. colturale del tamp. vaginale, è stato introdotto anche l'es. colturale del tampone rettale e del tampone vagino-rettale delle gestanti a termine presentatesi presso l'ambulatorio della Cl. Ostetrica del P.O. S.Giovanni di Dio di Cagliari. Su 154 donne alla 38<sup>a</sup>- 40<sup>a</sup> settimana di gestazione è stato applicato il nuovo protocollo: 1) un tamp. vaginale esaminato secondo le procedure di routine; 2) un tampone rettale seminato in una piastra di Ag.sangue Columbia; 3) un tampone vagino-rettale seminato in Istant Granada Medium (IGM) e incubato a 37 °C per 18-48 ore.

**Risultati.** Le percentuali di isolamento del SGB sono le seguenti: nei tamponi vagino-rettali 13,6% (21 campioni positivi su 154); nei tamponi vaginali 7,14% (11campioni positivi su 154); nei tamponi rettali 7,79% (12 campioni positivi su 154).

**Discussione e Conclusioni.** Il lavoro dimostra che la coltura dei tamponi prelevati in entrambi i siti di potenziale colonizzazione, associata all'uso di un terreno (IGM) che evidenzia la presenza di colonie di SGB già dopo 12-18 ore, ha significativamente migliorato la diagnostica microbiologica dello SGB. A seguito dell'introduzione di questo protocollo associato ad antibiotico profilassi intrapartum nessun neonato di madre colonizzata ha manifestato segni clinici di infezione precoce da SGB.

**Bibliografia.** S. Schrag et al. *Prevention of Perinatal Group B St.Disease* CDC, AUG. 16, 2002;51: 1-22.

D-05

**ANTIBIOTICO RESISTENZE DI S.AUREUS DI ISOLAMENTO CLINICO****R.Penna, M.L.Negro, O.Ponta, A.M.Rabagliati\***

Laboratorio di Patologia Clinica, Casa di Cura "Salus", Alessandria

\*Laboratorio Centrale Analisi, IRCCS G.Gaslini, Genova

*Scopo del lavoro.* Nel presente lavoro si è voluto : a) determinare la resistenza (-R) "in vitro" di stipti di *S.aureus* di isolamento clinico ai seguenti antibiotici: oxacillina (OXA), penicillina (P), eritromicina (E), gentamicina (Gm), ciprofloxacina (CFI), norfloxacina (Nor), CAF (C ), tetraciclina (Te), trimetoprim-sulfametossazolo (SXT), nitrofurantoina (NF), quinupristina-daflopristina (SYN), linezolid (LZD); b) valutare la frequenza di resistenza a 3 o più antibiotici ( multi -R ) negli stipti OXA -R.

*Materiali e Metodi.* La R agli antibiotici di 222 stipti di *S.aureus* isolati da vari materiali patologici (essudato nasofaringeo (ENF), auricolare (EA), congiuntivale (EC), articolare (EArt), vaginale (EV), tracheobronchiale (ETB), da ferita chirurgica (EFC); sangue (S), urina (U), è stata definita con il metodo standard di diffusione in agar sec. Kirby Bauer.

*Risultati.* La percentuale di stipti R alla OXA è stata complessivamente del 40,2, con valori del 45,3 per ceppi isolati nel periodo 1999-2000 e del 35,5 per quelli del periodo 2001-2002. La frequenza di resistenza agli altri antibiotici è stata la seguente: P=90,2 %, E=67 %, Gm=45,9 %, CFI=50,9 %, Nor=63 %, C=34,8 %, Te=22,1 %, SXT=41,4 %, NF=9,4 %, SYN=0 %, LZD=0 %. Sono risultati OXA-R : il 30% degli stipti di *S.aureus* isolati da EC, il 42,4 % di quelli da ENF, il 55,5 % da EV, il 55,4 % da EFC, il 72 % da EA, il 76,4 % da ETB, l'81 % da U e il 100 % di quelli dal sangue. Il 66,6 % degli stipti OXA-R ha presentato multi-R ad almeno 3 antibiotici.

*Discussione e conclusioni.* La percentuale degli stipti di *S.aureus* OXA-R riscontrata è simile a quella segnalata da altri studiosi italiani ma la contemporanea resistenza a più antibiotici di tali stipti è piuttosto alta e rende ragione della crescente preoccupazione che tali isolati suscitano nel microbiologo e nel clinico . Non si sono riscontrati stipti R a SYN e a LZD.

D-06

**Studio di prevalenza intervallare delle Infezioni Ospedaliere delle Vie Urinarie**° Trabuio E., ° Colpo M., ° Miconi V., \* Borga M.

° Laboratorio Patologia Clinica Ospedale di Valdagno ULSS n. 5 Ovest Vicentino

\* Direzione Medica Ospedale di Valdagno ULSS n. 5 Ovest Vicentino

Le Infezioni delle vie urinarie costituiscono mediamente il 40 % delle Infezioni Ospedaliere e sono in larga parte associate a cateterismo urinario o a similari presidi. Le Infezioni Ospedaliere, in generale costituiscono un tema d'estrema attualità sia per le possibili complicanze sullo stato di salute del paziente, con una percentuale di morte nel 14-38 % dei casi, sia per un aumento dei costi derivati da un prolungamento delle degenza (mediamente 60 ore) che dall'uso degli antibiotici. Il nostro studio ha valutato, nei 6 mesi d'osservazione (da ottobre 2002 a marzo 2003) le cartelle cliniche di 148 pazienti a cui sono state richieste le uroculture per stimare il tasso d'Infezione Ospedaliere delle vie urinarie nel nostro ospedale.

**Materiali e Metodi:** Sono stati arruolati tutti pazienti (n.148) a cui il medico di reparto aveva richiesto un'urocultura nel periodo considerato (da ottobre 2002 a marzo 2003). Tutti i dati relativi alla diagnosi, alla terapia e alle procedure strumentali a cui sono stati sottoposti questi pazienti sono stati raccolti in un'apposita scheda. La diagnosi di Infezioni Ospedaliere delle vie urinarie sono state fatte seguendo i criteri del CDC di Atlanta.

**Risultati:** Le analisi delle cartelle cliniche hanno rilevato che 13 pazienti su 148 (8,7 %) hanno sviluppato un'Infezione Ospedaliere delle vie urinarie, di cui 9 pazienti di questi erano cateterizzati (69,2%).

**Discussione:** Dai dati preliminari del nostro studio possiamo valutare che il tasso d'infezione ospedaliere delle vie urinarie risulta leggermente inferiore ad altri dati presenti in letteratura. Questo può esser spiegato in quanto presso il nostro ospedale viene usato il sistema "catetere a circuito chiuso". Tuttavia una stretta osservanza delle misure raccomandate per le "indicazioni all'uso del catetere" e delle "misure assistenziali preventive" potrebbero sicuramente contribuire ad abbassare la frequenza delle Infezioni Ospedaliere delle vie urinarie.

**INFEZIONE "OCCULTA" DA HBV: EVIDENZA DI CASI CLINICI****D-07****D. Bassetti<sup>a</sup>, P. Caciagli<sup>b</sup>, C. Paternoster<sup>b</sup>, F. Branz<sup>b</sup>, N. Dorigoni<sup>b</sup>, P. Delle Foglie<sup>b</sup>**<sup>a</sup>Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica II; Microbiologia Immunologia<sup>b</sup>Reparto Malattie Infettive, Ospedale S.Chiera, A.P.S.S. Trento

*Scopo del lavoro.* Nell'ultimo decennio è stata dedicata un'attenzione crescente al possibile contributo di ceppi mutanti "escape" di HBV nello sviluppo e nel decorso clinico dell'infezione acuta e cronica. Numerosi studi hanno dimostrato che vi può essere infezione da HBV anche in soggetti HbsAg negativi con o senza altri marcatori sierici, dando luogo ad infezioni c.d. occulte.

*Materiali e metodi.* Nell'Ospedale S.Chiera di Trento sono stati evidenziati due casi clinici nel 2001 e 2002, sospetti per infezione da HBV, ma entrambi negativi nella ricerca di HbsAg. Il primo caso si riferiva ad un paziente di 65 a. affetto da insufficienza renale cronica terminale, posto in dialisi dal 1997 e pertanto sottoposto a vaccinazione contro HBV, pur senza apprezzabile sieroconversione. Nel gennaio 2001 il paziente, cui era stato effettuato 6 mesi prima un doppio by-pass aortocoronarico, con supporto di trasfusioni multiple, presentava un riscontro casuale di innalzamento di AST e ALT, con negatività nella ricerca di HbsAg e di anticorpi verso HCV, HAV, nonché di HCV-RNA e positività per HBcAb (IgG, IgM) e HBsAb.

Il secondo caso si riferiva ad una paziente di 37 a., donatrice volontaria di sangue, pervenuta all'ambulatorio di infettivologia per comparsa di ipercromia urinaria ed ipocolia fecale, con sintomatologia artralgica febbrile. Gli esami di laboratorio riscontravano elevati indici di citolisi epatica con grave compromissione emocoagulativa, ma negatività per HbsAg, per anticorpi anti HCV, HAV e HCV-RNA e positività per HBcAb (IgG, IgM).

*Risultati.* In entrambi i casi è stata dirimente la ricerca di HBV-DNA: nel primo caso la positività della determinazione, inizialmente risultata negativa con l'utilizzo di un kit di ibridizzazione con amplificazione del segnale "branched DNA" in fase solida, era evidenziata dalle metodiche successivamente adottate di "hybrid capture" e di amplificazione del target mediante P.C.R. Nel secondo caso la positività di HBV-DNA era stata subito possibile per l'adeguamento tecnologico operato.

*Discussione e Conclusioni.* I casi clinici citati pongono l'attenzione sul necessario confronto fra il medico clinico e di laboratorio nella definizione di epatiti atipiche e nella scelta di test molecolari idonei nonché una revisione dei criteri di ammissione alla donazione di sangue o emoderivati.

**APPROPRIATEZZA DELLE INDAGINI DI LABORATORIO NELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE****D-08****Maria G. Scarmozzino, Maria C. Berlinghieri, F. Abenavoli, E. Gulletta**

Patologia Clinica, DMSC, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università "Magna Graecia" Catanzaro.

*Scopo del Lavoro.* La gravità e l'evoluzione clinica delle malattie neurodegenerative ed il rispetto del malato, ci hanno indotto a ricercare marcatori di fase acuta di malattia, tali che il loro dosaggio sia appropriato ed utilmente impiegabile nella implementazione di linee guida diagnostiche e prognostiche. In questo studio presentiamo i dati ottenuti dai dosaggi della proteina TAU nel liquor e di TNF- $\alpha$ , IL-10 ed IL-6 nel siero di soggetti che presentavano segni e sintomi di pertinenza neurologica.

*Materiali e Metodi.* Finora sono stati arruolati 160 pazienti con sospetta malattia neurodegenerativa, di entrambi i sessi ed età superiore ai 60 anni. Tutti i pazienti sono stati sottoposti, prima dell'inizio di terapie specifiche, contestualmente a prelievo di sangue e liquor. Le aliquote dei campioni sono state conservate a -80°C fino all'esecuzione dei dosaggi. Il dosaggio della proteina TAU nel liquor è stato eseguito con una metodica immunoenzimatica (Innotest hTAU Ag, Innogenetics). Il cut-off di riferimento, per i soggetti sani di età superiore ai 60 anni, da noi adottato è  $\leq 180$  pg/ml. Le citochine sono state dosate nel siero con metodiche ELISA HybriDomus ed i cut-off di riferimento sono 5 pg/ml per IL-10, 50 pg/ml per TNF- $\alpha$  ed IL-6.

Routinariamente in tutti i pazienti sono stati dosati gli anticorpi sierici anti-neuronali con metodica IFI, Mosaic Neuroscreen 5, Euroimmun, alla diluizione sierica di 1:10.

*Risultati.* Dei 160 pazienti studiati, 66 (41.5%) sono risultati positivi al dosaggio della proteina TAU liquorale, con valori variabili da 220 a 1000 pg/ml. In nessuno dei 94 pazienti negativi è stata confermata clinicamente la diagnosi di Malattia di Alzheimer. Tutti i pazienti hanno mostrato valori inferiori al cut-off nel dosaggio di IL-10. Valori elevati di TNF- $\alpha$  solo stati riscontrati solo in quattro casi. Valori elevati di IL-6 sono stati riscontrati sia in tutti i pazienti positivi per autoanticorpi neuronali sia in quelli che presentavano evidenti segni di fase acuta di malattia.

*Discussione e Conclusioni.* I nostri dati, valutati assieme a quelli ottenuti in precedenza, suggeriscono che il dosaggio della proteina TAU nel liquor dei pazienti con malattia di Alzheimer può risultare un'indagine diagnostica appropriata, con un buon valore predittivo negativo. Il dosaggio nel siero delle citochine proinfiammatorie, in particolare IL-6, rappresenta una appropriata indicazione per la valutazione di fase acuta e di progressione delle malattie neurodegenerative.

**SOMMINISTRAZIONE SOTTOCUTANEA DI ERITROPOIETINAE DOSAGGIO SIERICO NEL PAZIENTE EMODIALIZZATO** **D-09**

dott. De Paola Luciano\*, dott. De Paola Loredana\*\*, dott. Donato Domenico\*\*, dott. Urzino Paolo\*\*, dott. Grandinetti Francesco\* - \* U.O. Dialisi, \*\* U.O. Patologia Clinica, P.O. Soverato (CZ)

Nel paziente emodializzato la perdita del bio-feedback, rende la concentrazione sierica dell'Epo dipendente dal feed-back iatrogeno. Scopo del nostro studio è ottimizzare il raggiungimento del target emoglobinico( = o > 11,5 gr / dl ) Epo -- mediato analizzando i fattori di rischio relativi alla somministrazione sottocutanea . L'indagine analitica ha coinvolto 23 pazienti emodializzati di età anagrafica 61,43 ± 11,59 a. e di età dialitica 82,73 ± 67,08 mesi di cui 7 HCV-pos e 2 con diuresi residua. Tutti i pazienti erano in terapia con epoietina a ( 70 % ) ed epoietina b (30% ). I pazienti sono stati sottoposti a prelievo per la determinazione sierica dell'eritropoietina con metodica immunometrica in chemoluminescenza ( Kit- immunolite ) ed a prelievi predialitici per il dosaggio dell'Hb. Ht, Sat transferrina %, Alluminio, albumina, Kt/V n, PCRn. I dati, espressi come media e Ds, sono relativi alla media dei tre mesi precedenti, range minimo entro il quale il dosaggio della terapia con epo sottocute ( UI / Kg ) non è stata cambiata. Oltre alla quantità di Epo somministrata, è stato calcolato il numero di punture x paziente nell'arco degli ultimi 2 anni, ed il tipo di dialisi ( Hd vs HDF o HF ). E' stato altresì preso in considerazione il Ratio Epo ( Epo somministrata UI/Kg / Epo s mU / ml ). All'analisi multivariata di regressione lineare, il Ratio è risultato essere fattore predittivo indipendente negativo ( P 0,01 ). Nei confronti del target emoglobinico, il Ratio Epo ( LR+ 1,79 ) è risultato essere più specifico e più sensibile rispetto all'Epo s ( LR+ 1,27 ). All'analisi univariata l'Hb non è risultata correlata con alluminemia ( r 0,004 ; P0,98 ), con la sat % transf ( r 0,17 ; P 0,43 ), con il PTH ( r 0,23 ; P0,27 ), con il PCR n ( r0,013 ; P0,95 ), con l'albumina ( r -0,08 ; P 0,70 ). Si è invece significativamente correlata all'Epo s ( r -0,66 ; P<0,001 ), al ratio ( r -0,45 ; P <0,03 ), all'Epo somministrata ( r 0,66 ; P <0,001 ), al KT/Vn ( r -0,44; P<0,03 ). L'analisi multivariata ha confermato il ruolo predittivo vs emoglobina del ratio ( P 0,013 ) e dell' Epo s ( <0,01 ) in correlazione negativa, escludendo le altre due variabili. Nei confronti del ratio epo sono risultati predittivi in maniera statisticamente significativa il numero di punture ( P 0,011 ), l'età dialitica ( P 0,047 ) e la presenza di epatopatia ( P 0,014 ). Dal nostro studio emergono quindi indicazioni alla somministrazione sottocutanea di Epo in luoghi anatomici di volta in volta diversi, per un periodo inferiore a due anni dall'instaurarsi della necessità terapeutica e comunque non in soggetti con età dialitica superiore a dodici mesi o con epatopatia cronica HCV- correlata. Stratificare per ulteriori variabili ( dosaggio anti Epo ) porterà ad incrementare il potere predittivo del ratio.

**LA CISTATINA C E L'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA IN STADIO AVANZATO** **D-10**

R. Irde<sup>1</sup>, G. Cogoni<sup>1</sup>, G. Nespolo<sup>1</sup>, M Angius<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale San Martino di Oristano

<sup>2</sup>Servizio di Nefrologia e Dialisi, Ospedale San Martino di Oristano

*Scopo del lavoro.* Per la valutazione della funzionalità renale accanto a metodo matematici come gli studi di Clearance, al dosaggio della creatinina e della azotemia, sono state identificate altre molecole in grado di dare una indicazione fedele della Velocità di Filtrazione Glomerulare (GFR). La Cistatina C, un inibitore endogeno della cisteina proteasi prodotta da tutte le cellule nucleate, ha la particolarità di essere liberamente filtrata a livello glomerulare e di essere completamente riassorbita e catabolizzata a livello dei tubuli renali non ritornando in circolo. Le concentrazioni sieriche di Cistatina C aumentano progressivamente e precocemente al diminuire della GFR e sono un indice particolarmente precoce, sensibile (97%) e specifico (65%) di un alterazione della funzionalità renale altrimenti espressa come GFR particolarmente indicato, vista la alta sensibilità, come marker di screening della funzionalità renale. Scopo dello studio è stato valutare le prestazioni della Cistatina C negli stadi avanzati della Insufficienza Renale Cronica (IRC)

*Materiali e Metodi.* La valutazione della Cistatina C in gruppo di 32 pazienti (14 Femmine - 12 Maschi) di età media 70,36 ± 15,59 anni con IRC in predialisi (Clearance Creatinina media 22,9 ± 13,5 mL/min) ha mostrato livelli medi di 2,97 ± 0,83 mg/L.

Correlazione: r Pearson (p)	Creatinina	Clearance Creatinina	Cockcroft Gault	GFR parametri sierici
Cistatina C	0,7492 (p<0,0001)	-0,5188 (p=0,0023)	-0,623 (p<0,0001)	-0,7647 (p<0,0001)

La Cistatina C è risultata correlata con la creatinina sierica e la Clearance della Creatinina ed in particolare con la misura indiretta della GFR attraverso parametri sierici (creatinina, azotemia, albumina) e demografici che a sua volta correla con la GFR misurata con metodi diretti (<sup>125</sup>Iotalamato) di riferimento (R<sup>2</sup>=91,2).

La sua valutazione nelle fasi terminali della IRC potrebbe concorrere alla migliore valutazione degli stadi terminali della malattia e alla migliore definizione della indicazione alla terapia sostitutiva dialitica attualmente valutata con la sola creatinina sierica e con la misura della Clearance della Creatinina.

*Bibliografia.* 1) Levey as e al. "A more Accurate Method to estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine. A New Prediction Equation". Ann Intern Med 1999; 130: 461-470; 2) Laterza OF e al. "Cystatin C: An Improved Estimator of Glomerular Filtration Rate?" Clin Chem 2002; 48:5, 699-707

**MISURA INDIRETTA DELLA VELOCITA' DI FILTRAZIONE GLOMERULARE:  
APPLICAZIONE DI UNA FORMULA CON SOLI PARAMETRI SIERICI E DEMOGRAFICI  
NELLA VALUTAZIONE DELLA FUNZIONALITA' RENALE**

D-11

**R. Irde**

Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale San Martino di Oristano

*Scopo del lavoro.* La valutazione della funzionalità renale rappresenta una delle indagini maggiormente richieste e la Velocità di Filtrazione Glomerulare (GFR) viene tradizionalmente considerata il miglior indice globale di funzionalità renale. Nella pratica comune viene valutata con la misura di sostanze endogene quali la Creatinina e la Azotemia e con gli studi di Clearance. Questo metodi hanno numerosi limiti legati alla fisiologia e alle modalità di eliminazione renale di queste due sostanze che tendono a sotto o sovrastimare la GFR. Con lo scopo di avere un'indicazione più correlata ai metodi di misura diretta della GFR sono state sviluppate numerose formule che operano delle correzioni alla tradizionale valutazione della Clearance della creatinina introducendo variabili legate alla superficie corporea, all'età, al sesso e che fanno uso di coefficienti di correzione.

*Materiali e Metodi.* Una formula di particolare interesse elimina una delle componenti che comportano la maggiore variabilità nelle misure tradizionali rappresentata dalla raccolta delle urine nelle 24 ore e utilizza unicamente i parametri sierici della creatinina, della azotemia e della albumina operando delle correzioni per il sesso, e l'età raggiungendo una buona correlazione con la GFR misurata con  $^{125}$ Iotalamato ( $R^2=91.2$ ).

La applicazione della formula ad una popolazione di 1601 soggetti di età media  $61.45 \pm 20.94$  anni (min 4 giorni, max 99,9 anni) ha mostrato una correlazione negativa con la creatinina sierica ( $r=-0.432$ ) e una correlazione positiva con la GFR calcolata con il reciproco della creatinina ( $0.69 * 100/Crs$ ) ( $r=0.859$ ).

Risulta correlata negativamente con l'età ( $r=-0.513$ ) e influenzata dai valori bassi della creatinina sierica particolarmente nei soggetti in età pediatrica.

La applicazione di questa formula ad un gruppo di 203 soggetti con sospetta o accertata alterazione della funzionalità renale per un totale di 389 determinazioni e con Clearance Creatinina media di  $47.2 \pm 52.2$  mL/min (min 1.3 max 258.8 mL/min) ha mostrato una buona correlazione con le formule tradizionali con r Pearson=0.796  $p<0.0001$  ( $Y=0.6063X+9.2007$ ) mostrando valori più bassi rispetto al calcolo tradizionale.

*Bibliografia.* Levey as e al. A more Accurate Method to estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine. A New Prediction Equation. Ann Intern Med 1999; 130, 461-470

**LA CINETICA DELLA TROPONINA (cTnI) PREDICE LA RICANALIZZAZIONE  
DELL'ARTERIA INFARTUATA?**

D-12

**D. RUBIN, P. BULIAN, M. CASSIN\*, F. MACOR\*, GL NICOLOSI\*, P. CAPPELLETTI**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio; Cardiologia\*. Azienda Ospedaliera "S. Maria degli Angeli", Pordenone.

*Scopo del lavoro.* Verificare se lo studio della cinetica di cTnI consente di predire la ricanalizzazione dell'arteria infartuata.

*Materiali e metodi.* Sono stati studiati 61 pazienti al primo infarto con sopraslivellamento ST persistente. cTnI plasmatico (Dade Behring) è stato misurato all'ingresso ed ogni 4 ore fino al raggiungimento di un picco. Il limite decisionale è 0.13 ng/mL. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a coronarografia prima della dimissione e pertanto classificati in due gruppi: a) ricanalizzati (n=49), b) non ricanalizzati (n=12). In tutti i pazienti è stato calcolato il rapporto tra il valore di cTnI alla quarta ora dopo il ricovero ed il limite decisionale.

*Risultati.* La distribuzione dei valori è asimmetrica in entrambi i gruppi e si normalizza su scala logaritmica. I confronti sono stati fatti con test non parametrici. Il gruppo dei ricanalizzati ha valori mediamente più elevati; un valore  $< 10$  predice la mancata ricanalizzazione con sensibilità di 0.83 e specificità di 0.76.

*Discussione e conclusioni.* Nella nostra casistica il rapporto tra il valore alla quarta ora e il valore al ricovero è quello che dimostra il massimo incremento rispetto ai rapporti calcolati ai tempi successivi. Tuttavia non sempre questo dato riflette il reale andamento della curva di rilascio: infatti il valore basale è in alcuni casi già elevato alla determinazione al ricovero e gli incrementi successivi non sono più esponenziali, riflettendo il fatto che non sempre i pazienti giungono all'osservazione nella fase iniziale dell'infarto. Una misura più realistica della cinetica è fornita dall'incremento relativo (rispetto al limite decisionale), perché non risente della variabilità nel momento di ricovero rispetto alla dinamica dell'infarto ed è un parametro indipendente dal metodo utilizzato. La valutazione alla quarta ora consente di predire la ricanalizzazione dell'arteria infartuata. Dato che in termini di costi è più importante riconoscere i pazienti non ricanalizzati va dato maggior peso alla sensibilità: il cut-off di 10 mostra una sensibilità di 0.83. Ulteriori incrementi di sensibilità sono raggiungibili solamente riducendo eccessivamente la specificità perché in alcuni infarti estesi la cinetica dei marcatori cardiaci è indipendente dallo stato di ricanalizzazione.

D-13

### PER UNA DETERMINAZIONE OTTIMALE DEL PEPTIDE NATRIURETICO DI TIPO-B (BNP) CON ADVIA CENTAUR.

**S.Meneghelli<sup>a</sup>, N.Lerose<sup>a</sup>, R.M.Dorizzi<sup>a</sup>, L.Zanolla<sup>b</sup>, M.A.Cicoira<sup>b</sup>, A.R.Gandini<sup>c</sup>, I.Crocco<sup>c</sup>, P.Rizzotti<sup>d</sup>**

<sup>a</sup>Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche; <sup>b</sup>Divisione di Cardiologia; <sup>c</sup>Servizio Immunotrasfusionale, Azienda Ospedaliera di Verona

*Scopo del Lavoro.* Nell'ambito della valutazione clinica del metodo Advia Centaur per la determinazione del Peptide Natriuretico di tipo B (BNP) si sono confrontati i risultati ottenuti in plasma EDTA ed in plasma EDTA addizionato con aprotinina e si sono determinati gli intervalli di riferimento per il BNP nei maschi e nelle femmine di età < 50 anni e > 50 anni.

*Materiali e Metodi.* Sono stati raccolti: a) 25 campioni di plasma EDTA ed in plasma EDTA addizionato con 100 KU/mL di aprotinina in pazienti seguiti presso il Servizio di Cardiologia della nostra Azienda; b) 49 campioni di plasma in donatori maschi con < 50 anni; 45 in maschi con > 50 anni; 40 in donatrici con < 50 anni; 41 in donatrici con > 50 anni che si sono presentati al Servizio Trasfusionale della nostra Azienda. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Azienda ed è stato raccolto il consenso informato scritto da parte di tutti i soggetti. I campioni sono stati congelati a -40 °C e sono stati analizzati in batch con reagenti ed analizzatore automatico Advia Centaur (Bayer, Milano, Italy).

*Risultati.* La media dei risultati ottenuti in plasma ed in plasma/aprotinina è risultata rispettivamente di 33.76 ng/L e di 33.26 ng/L; la mediana di 24.76 ng/L e di 22.77 ng/L. La regressione di Passing e Bablok è risultata: Plasma:Aprotinina = 0.0906 + 0.9965 plasma. Il coefficiente di correlazione è risultato di 0.9977 (95% Intervallo di confidenza: 0.9946-0.9990). Il Bland Altman plot ha mostrato una differenza percentuale dello 0.7%.

Gli intervalli di riferimento sono risultati rispettivamente: maschi < 50 anni: 11.3 ± 7.85 (95% IC: 9.0-13.5) ng/L; mediana: 8.83 ng/L; maschi > 50 anni: 12.4 ± 10.62 (95% IC: 9.2-15.6) ng/L; mediana: 9.41 ng/L; femmine < 50 anni: 15.4 ± 7.81 (95% IC: 12.9-17.9) ng/L; mediana: 13.71 ng/L; femmine > 50 anni: 23.0 ± 17.05 (95% IC: 17.6-28.4) ng/L; mediana: 18.32 ng/L; maschi (94): 11.9 ± 9.18 (95% IC: 9.99-13.75) ng/L; mediana: 8.96 ng/L; femmine (81): 19.24 ± 13.77 (95% IC: 16.2-22.3) ng/L; mediana: 16.48 ng/L; maschi-femmine (175): 15.3 ± 12.08 (95% IC: 13.5-17.1) ng/L; mediana: 11.62 ng/L.

*Discussione e conclusioni.* Campioni di plasma e plasma/aprotinina possono essere usati in modo intercambiabile per la determinazione del BNP. Gli intervalli di riferimento del BNP nei maschi non cambiano con l'età (almeno fino a 65 anni) mentre nelle femmine aumentano in modo significativo.

### DIAGNOSTICA DI LABORATORIO DELLE GONALGIE E MARCATORI BIOCHIMICI DELL'OSSO

D-14

**P. M. Accettura\*, T. Iacobellis\***

\*Medicina di Laboratorio,-P. O.Castel di Sangro-Direttore: Dr. G.Pulella -AUSL Avezzano-Sulmona- Abruzzo

*Scopo del lavoro.* Le principali patologie ossee del ginocchio sono : *gonartrosi, condromalacia della rotula, osteocondrite dissecante e osteonecrosi asettica.* Lo scopo del lavoro è dimostrare come l'utilizzo di alcuni marcatori biochimici del rimodellamento osseo possono, già in un primo step, porre diagnosi e diagnosi differenziale tra le principali patologie ossee del ginocchio con evidenti ripercussioni in chiave economica e psicologica per il paziente.

*Materiali e Metodi.* Sono stati analizzati i sieri di pazienti con diagnosi certa per le patologie ossee suddette. I sieri sono stati divisi in 4 gruppi: ogni gruppo corrispondente ad una delle patologie considerate.

I sieri lasciati per un'ora a temperatura ambiente, quindi centrifugati a 4000 rpm per 10 minuti e congelati.

Sul materiale si è eseguita la ricerca ed il dosaggio di tre marcatori biochimici del rimodellamento osseo:

Piridinoline, PTH, Pro-Collagene C Terminale. Piridinoline e PTH sono stati processati in immunochimica ( Elecsys-Roche ), Procollagene C-Terminale in HPLC ( Varian 5000, Detector 2050, integr. 4270 ), PTH dopo un pre-trattamento ( cromatografia per affinità colonnine Up-ch 1042 da 1 ml ) per allontanare alternativamente il frammento 1-34 e quello 35-84, è stato processato in immunochimica (Elecsys-Roche).

*Risultati.* E' risultata una omogeneità dei risultati per i singoli gruppi studiati.

Patologia	Piridinoline	Pro-Collag C-ter	frazione 1-34 PTH	frazione 35-38 PTH
Gonartrosi	Aumento		Aumento	
Condromalacia rot	Aumento			
Osteocondrite diss.	Aumento	Aumento		
Osteonecrosi asett.	Aumento			Aumento

*Conclusioni.* La gonalgia è un sintomo comunissimo che evidenzia un iter diagnostico non sempre ottimale.

Spesso è conseguenza di un problema patologico dell'articolazione dell'anca, del piede o della colonna vertebrale, oppure è espressione di un problema locale. Se il dolore è atipico o persistente o il trattamento effettuato è inefficace, è necessario rivedere la diagnosi e correggere l'iter diagnostico. Non è sempre corretto inviare il paziente a visita specialistica senza aver eseguito accertamenti di laboratorio. Lo studio ha evidenziato un aumento delle Piridinoline in tutte le patologie ossee del ginocchio, espressione questa del riassorbimento osseo. La positività di un altro marcatore associato al primo permette di fare a) diagnosi della patologia ossea di base b) diagnosi differenziale tra le patologie ossee del ginocchio.

## VALUTAZIONE DI MARCATORI SIERICI DI TURNOVER OSSEO IN PAZIENTI EMODIALIZZATI

D-15

A. Fontana<sup>^</sup>, M. Tampona<sup>^</sup>, M.C. Petrelli<sup>^</sup>, G. Tarantino<sup>o</sup>, D'Elia<sup>o</sup>, M. Virgilio<sup>o</sup>, N. Pansini<sup>^</sup><sup>^</sup>Patologia Clinica Azienda Policlinico Bari<sup>o</sup>U.O Nefrologia e Dialisi Molfetta ASL/BA2*Scopo del lavoro.* Valutare nuovi markers sierici di turnover osseo in pz emodializzati rispetto a un gruppo controllo.*Materiali e metodi.* Sono stati valutati due markers sierici di riassorbimento: N-Telopeptidi a catena crociata del collagene di tipo I (NTx) e i crosslinks del collagene di tipo I (B-CrossLaps) e due markers di neoformazione: l'Osteocalcina-intatta e l'Osteocalcina N-MID. NTx e Osteocalcina-intatta sono stati determinati con metodica EIA (BOUYT); B-CrossLaps, N-MID Osteocalcina con metodica di chemio-elettroluminescenza (ROCHE) Sono stati valutati 72 pz emodializzati (età media 54 a) e 30 pz sani (età media 42 a) Analisi statistica: il confronto dei markers nei due gruppi (pz emodializzati e gruppo controllo) è stato effettuato mediante il test di Wilcoxon per campioni indipendenti. La correlazione tra i markers di riassorbimento (NTx e B-CrossLaps) e di neoformazione (l'Osteocalcina-intatta e N-MID Osteocalcina) è stata valutata mediante il coefficiente di correlazione di Kendall*Risultati.* Dal confronto fra i due gruppi è emerso che tutti i markers di turnover considerati sono significativamente più elevati nei pz emodializzati rispetto ai soggetti del gruppo controllo, eccetto per N-MID Osteocalcina, per i quali si ha la situazione inversa. I markers di riassorbimento risultano positivamente correlati sia nei dializzati ( $r=0,4$   $p<0,001$ ) che nei soggetti sani ( $r=0,34$   $p<0,001$ ); la correlazione tra markers di neoformazione è molto significativa nei pz dializzati ( $r=0,17$   $p=0,047$ ) e non significativa nei soggetti normali ( $r=0,16$   $p=0,34$ )*Discussione e Conclusioni.* Da una valutazione preliminare dei risultati emerge che i markers da noi considerati hanno avuto un differente comportamento nel gruppo dei pz emodializzati rispetto ai soggetti sani. Nei pz dializzati i markers di riassorbimento hanno mostrato valori più elevati e questo trova un riscontro clinico trattandosi di pz con alterato metabolismo osseo, in cui prevalgono fenomeni di riassorbimento rispetto ai fenomeni di neoformazione.

I nostri risultati incoraggiano l'utilizzo di tali markers sierici nel monitoraggio dell'osteodistrofia uremica nelle sue varie forme a basso (osteomalacia e osteopatia adinamica) ed alto (osteite fibrosa ed osteopatia mista) turnover, affiancandoli ad altri markers di turnover osseo, come l'isoenzima osseo della fosfatasi alcalina e il PTH, il cui utilizzo è ormai indiscutibile.

## VARIAZIONI SERICHE DELLA PROTEINA CATIONICA EOSINOFILA IN PAZIENTI CON CANCRO MAMMARIO DOPO CHEMIOTERAPIA ADIUVANTE.

D-16

G. Pigoli (a), D Dolci (a), M Fantini (a), S Tedoldi (a), A Bottini (b), D Generali (b), S Bonardi (b)

(a) Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Patologia Clinica Az. Istituti Ospitalieri, Cremona

(b) Dipartimento di Chirurgia, Breast Unit, Az. Istituti Ospitalieri, Cremona

*Scopo del lavoro:* precedenti osservazioni compiute dal nostro gruppo (1) hanno evidenziato un calo dei livelli ematici della proteina cationica eosinofila (ECP) in pazienti affetti da vari tipi di neoplasia dopo trattamento. Il presente lavoro ha lo scopo di compiere ulteriori indagini relative all'attivazione eosinofila in pazienti affette da carcinoma mammario dopo chemioterapia prechirurgica.*Materiali e metodi:* a 22 pazienti cui era stato diagnosticato carcinoma mammario, dopo stadiazione veniva somministrata chemioterapia prechirurgica come descritto altrove (2). Sia la valutazione clinica che la determinazione dei livelli ematici di ECP e degli eosinofili / $\mu$ L. erano eseguiti 1) alla diagnosi, 2) al termine del trattamento chemioterapico.

L'ECP veniva dosata con metodo immunometrico (IMMULITE, Diagnostic Products Corporation) dopo stretta osservanza della condizioni preanalitiche raccomandate (centrifugazione a 1200 g a t.a. non oltre le due ore dal prelievo). Le concentrazioni degli eosinofili erano determinate sull'analizzatore NE 9500 (Dasit). Ogni campione era sottoposto a controllo microscopico. Seguiva valutazione statistica mediante l'uso del SPSS computer program installato su Window-NT.

*Risultati:* 19/22 pazienti mostravano riduzione della massa tumorale al termine della chemioterapia. Nelle stesse pazienti veniva evidenziata una significativa riduzione dei livelli ematici di ECP rispetto ai valori trovati al momento della diagnosi ( $P < 0,005$ ). Fra le pazienti che non mostravano una soddisfacente risposta terapeutica (3/22), non sono state evidenziate variazioni dei livelli di ECP. In nessuno dei casi contemplati nello studio è stato possibile evidenziare alcuna variazione delle concentrazioni eosinofile.*Discussione e conclusioni:* unitamente alle precedenti nostre esperienze, questo studio conferma il diretto coinvolgimento della funzione eosinofila come meccanismo di difesa cellulare rivolto contro il tessuto neoplastico. Sono in corso altri studi al fine di definire il ruolo prognostico dell'ECP nella malattia tumorale.*Bibliografia:* 1) G Pigoli, S Testa, D Dolci, M Fantini et al. Eur J Lab Med 1999; 7:145-7,

2) Bottini A, Berruti A, Bersiga A, Brizzi MP et al. Br J Cancer 2001; 85 (8):1106-12.



### LA DETERMINAZIONE DEL PSA COMPLESSATO (cPSA): UN NUOVO "STANDARD" PER LA VALUTAZIONE DELLA MALATTIA PROSTATICA

D-17

A. Fortunato<sup>1</sup>, D. Giavarina<sup>1</sup>, R. Dittadi<sup>2</sup>, M. Gion<sup>2</sup>, G. Soffiati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia - Ospedale "San Bortolo" Vicenza

<sup>2</sup>Centro Regionale Indicatori Biochimici di Tumore Ospedale Civile - Azienda ULSS 12 Veneziana

**Scopo del lavoro.** La determinazione del PSA totale (tPSA) per la diagnosi ed il monitoraggio delle patologie prostatiche benigne o neoplastiche è una pratica nota per i laboratori clinici. La determinazione del tPSA, nonostante la elevata specificità d'organo della molecola, si è dimostrato poco efficace nella distinzione tra iperplasia benigna e carcinoma. La determinazione della forma libera del PSA, usata nel calcolo del rapporto tra PSA libero (fPSA) e tPSA per aumentare la specificità clinica, è influenzata da numerosi fattori. La misura delle forme legate alle proteine migliorano la specificità, senza perdita di sensibilità, nell'intervallo tra 4.0 e 20.0 µg/L o tra 2.0 e 4.0 µg/L.

L'obiettivo del presente studio è la valutazione del metodo Bayer cPSA per la determinazione automatica del PSA legato delle proteine sull'analizzatore ADVIA Centaur. Questo saggio rileva tutte le forme di PSA legate a proteine ad eccezione della molecola legata alla α-2-macroglobulin non reattiva immunologicamente.

**Materiali e metodi.** È stata fatta una valutazione preliminare del metodo per la determinazione del cPSA in un campione di 100 pazienti, con l'età compresa tra 47 e 89 anni, con i valori di tPSA compreso tra 4.0 e 18.9 µg/L e sono stati confrontati i valori del rapporto di fPSA/tPSA ottenuti con i metodi in uso e quelli ottenuti calcolando la frazione libera con l'equazione di fPSA = tPSA - cPSA.

La regressione secondo Passing & Bablok è data dalla retta con coefficiente angolare 0.96 ed intercetta 0.12 dimostrando una ottima correlazione tra i due metodi di valutazione come si evidenzia elaborando graficamente i dati con il diagramma di Bland & Altman.

È stata fatta una valutazione multicentrica del metodo cPSA in 137 campioni di pazienti con una diagnosi definitiva istologica (95 BPII e 42 Ca) e, utilizzando due metodi per tPSA (ADVIA Centaur Bayer e Immulite 2000 DPC) e con l'ADVIA Centaur cPSA, sono state ottenute le seguenti aree sotto le curve nell'analisi ROC: 0.708 (tPSA ADVIA Centaur), 0.718 (tPSA Immulite 2000 DPC) e 0.751 per cPSA.

**Conclusioni.** Anche se sono necessari ancora altri studi con la valutazione della corretta classificazione clinica dei campioni ottenuta utilizzando il solo cPSA, l'uso di tale parametro per il calcolo del rapporto tra la frazione libera del PSA e quella legata alle proteine comporta dei vantaggi analitici (stabilità del campione, sensibilità e riproducibilità del metodo) non trascurabili.

### 'CONFRONTABILITA' DELLA DETERMINAZIONE DI PSA TOTALE E PSA LIBERO CON ANALIZZATORI AUTOMATICI DIMENSION E IMMULITE 2000

D-18

E. Da Prati, C. Cocco, N. Lerose, R.M. Dorizzi, A. Ferrari, P. Rizzotti

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

**Scopo del Lavoro.** Le recenti problematiche trapiantologiche hanno portato alla necessità di misurare "in urgenza" PSA totale (tPSA) e PSA libero (fPSA) 24 ore al giorno, 365 giorni l'anno. La disponibilità di questi esami nel pannello dell'analizzatore di chimica clinica impiegato nel nostro laboratorio ha indotto a valutare la confrontabilità dei risultati prodotti da questo con quelli ottenuti con il metodo usato in routine.

**Materiali e Metodi.** PSA totale e PSA libero sono stati misurati in 46 campioni di siero selezionati casualmente dalla routine in modo da rappresentare un intervallo di concentrazioni clinicamente significativo. Le determinazioni sono state eseguite con l'analizzatore ed i reagenti usati in routine (Immulite 2000, DPC, Los Angeles, USA) (DPC) e con l'analizzatore ed i reagenti Dimension Rxl (Dade Behring, Newark, DE, USA) (DADE). Le determinazioni sono state eseguite nella stessa giornata da un operatore esperto.

**Risultati.** DPC: tPSA: intervallo= 0.55-51.5 µg/L; media = 5.50 µg/L (IC 95%: 3.29-7.72); mediana= 4.04 µg/L (IC 95%: 3.33-4.76); fPSA: intervallo= 0.07-15.3 µg/L; media = 1.28 µg/L (IC 95%: 0.61-1.95); mediana= 0.83 µg/L (IC 95%: 0.59-1.03); f/tPSA: intervallo= 2.5-44.4%; media = 22.7% (IC 95%: 19.0-25.3); mediana= 21.87% (IC 95%: 16.0-26.4). DADE: tPSA: intervallo= 0.56-61.52 µg/L; media= 6.37 µg/L (IC 95%: 3.71-9.03); mediana= 4.45 µg/L (IC 95%: 3.61-5.55); fPSA: intervallo= 0.07-16.0 µg/L; media= 1.16 (IC 95%: 0.46-1.86); mediana= 0.65 µg/L (IC 95%: 0.49-0.86); f/tPSA: intervallo= 2.5-50.4%; media= 16.7% (IC 95%: 14.3-19.1); mediana= 16.1% (IC 95%: 11.5-20.4). Correlazione e regressione di Passing Bablok risultano rispettivamente: tPSA: r= 0.9988 (IC95%= 0.9978-0.9993); fPSA: r= 0.9969 (IC95%= 0.9943-0.9983) f/tPSA: r= 0.9366 (IC95%= 0.8877-0.9647); TPSADADE=-0.18 + 1.19 TPSADPC; FPSADADE= -0.011 + 0.880 FPSADPC; f/tPSADADE= 0.35 + 0.744 f/tPSADPC. Eliminando il risultato più elevato (intervallo: tPSA=0.55-13.6 µg/L; fPSA= 0.07-3.81 µg/L; f/tPSA= 2.5-50.4%) si ottengono i seguenti risultati: tPSA: r= 0.9915 (IC95%= 0.9844-0.9953); fPSA: r= 0.9799 (IC95%= 0.9635-0.9890) f/tPSA: r= 0.9378 (IC95%= 0.8890-0.9656); TPSADADE=-0.16 + 1.18 TPSADPC; FPSADADE= 0.003 + 0.870 FPSADPC; f/tPSADADE= 0.469 + 0.734 f/tPSADPC.

**Discussione e conclusioni.** Dimension fornisce dei risultati moderatamente confrontabili a Immulite per tPSA (10% misclassificazioni al cut-off di 4 µg/L) e confrontabili per f/tPSA (nessuna misclassificazione al cut-off dell'8%). L'impiego di Dimension per la determinazione in "urgenza" di PSA e f/tPSA appare quindi proponibile.

D-19

**RICERCA DI CATENE LEGGERE LIBERE MONOCLONALI  
( PROTEINE DI BENGE JONES) NELLE URINE; APPROCCIO PRATICO ALLA VALUTAZIONE.**

**AUTORI: N.CAMUSSO, A.SANNA, Z.FANARI, S.NONNIS, P.CONTINI, G..MEAGGIA, R.IRDE,  
G.NESPOLO, M.ANGIUS.**

**Servizio di Medicina di Laboratorio P.O. " San Martino" A.S.L n° 5 ORISTANO**

Scopo del lavoro. La richiesta della valutazione della proteinuria di Bence Jones, viene prevalentemente riservata ai pazienti di età superiore ai 65 anni che devono sottoporsi ad esami radiologici con mezzo di contrasto, oltre che nella diagnostica e nel monitoraggio delle Gammopatie Monoclonali. Il numero di richieste risulta notevole avendo le proporzioni di uno screening di massa al fine di escludere la presenza di una Gammopatia Monoclonale in tutti i soggetti candidati a ricevere un mezzo di contrasto. Con lo scopo di coniugare la necessaria accuratezza, precisione, e specificità con l'altrettanto necessario risparmio economico, è stata accoppiata alla metodica di scelta, rappresentata dall'elettroforesi in gel d'agarosio, una metodica immunoturbidimetrica che precede la valutazione elettroforetica.

Metodo. Sono stati valutati 438 campioni di urine del primo mattino con il metodo immunoturbidimetrico che utilizza un anticorpo di capra diretto verso le Catene Leggere Libere (CLL) e valuta la presenza di CLL contro standard ( 50 mg/dl) attraverso la valutazione a 405 nm della torbidità legata all'eventuale formazione di immuno-complessi con sottrazione del bianco campione. La presenza di torbidità superiore ai 30 mg/dl veniva considerata positiva e il campione veniva analizzato con elettroforesi in gel d'agarosio (HELENA). L'assenza di torbidità o assorbanze contro standard inferiori a 30mg/dl sono considerate negative per CLL.

Risultati. Su 438 campioni analizzati con metodo immunoturbidimetrico 109 sono risultati positivi e inoltrati all'analisi Elettroforetica. Tra questi 87 sono risultati negativi all'elettroforesi, 22 positivi. Tra i 329 campioni negativi con metodo immunoturbidimetrico uno è risultato positivo all'elettroforesi.

Accoppiare le metodiche, forzando la sensibilità del metodo immunoturbidimetrico, con lo scopo di limitare al massimo i falsi negativi e riservando il metodo elettroforetico, più laborioso, ai soli positivi ci ha garantito una sensibilità del 96 % una specificità del 79% un valore predittivo positivo del 20% un valore predittivo negativo del 100% e un'accuratezza del metodo del 79.9 % e la possibilità di reperire il 75 % delle indagini con i tempi rapidi e poco costosi del metodo immunoturbidimetrico riservando l'indagine elettroforetica più laboriosa e costosa ai campioni dubbi

D-20

**Nefelometria o turbidimetria?**

Maria Ruggeri Azienda Ospedaliera S.Giovanni - Addolorata - Calvary Roma

Scopo del lavoro:

Valutare l'appropriatezza della risposta quantitativa delle Ig determinata con metodo nefelometrico e turbidimetrico in due pazienti ematologici affetti da : Paziente n°1 :Mieloma IgG (Componente Monoclonale in zona beta-gamma) Paziente n°2: Malattia di Waldenstrom (Componente Monoclonale in zona gamma)

Materiali e metodi:

Per la valutazione sono stati utilizzati i seguenti sistemi con i relativi reagenti: Nefelometro BN II (Dade Behring), Turbidimetro LX 2200 (Alpha W.), Elettroforesi Jokoh CTE8000 (Alpha W.), Immunofissazione Hydrasys (Sebia).

Risultati:

Campione n°1: PT 10,8 g/dL; Elettroforesi presenza di C.M. in zona beta-gamma 62% (dosaggio densitometrico della C.M. 6690 mg/dL), identificata alla immunofissazione del siero come una doppia IgG monoclonale di tipo k e k libere.

Dosaggio turbidimetrico: IgG 3698 mg/dL, IgA 8 mg/dL, IgM 15 mg/dL, k 878 mg/dL, λ 432 mg/dL

Dosaggio nefelometrico: IgG 6940 mg/dL, IgA 22 mg/dL, IgM 18 Mg/dL, k 8019 mg/dL, λ 47 mg/dL

Campione n°2: PT 8,2 g/dL; Elettroforesi presenza di C.M. in zona gamma anodica 41% (dosaggio densitometrico della C.M. 3362 mg/dL), identificata alla immunofissazione sierica come IgM monoclonale di tipo k (Anomala polimerizzazione)

Dosaggio turbidimetrico IgG 455 mg/dL, IgA 27mg/dL, IgM 11478 mg/dL, k 2550 mg/dL, λ 182 mg/dL

Dosaggio nefelometrico: IgG 355 mg/dL IgA 23 mg/dL, IgM 6880 mg/dL, k 3234 mg/dL, λ 125 mg/dl

Conclusioni:

Il dosaggio nefelometrico delle immunoglobuline ha mostrato una migliore concordanza con la quantizzazione densitometrica all'elettroforesi della C.M., considerato a tutt'oggi metodo di riferimento.

Ci sembra importante, in questo momento di consolidamento su sistemi unificati di test di chimica clinica ed immunometria, considerare che in alcuni casi possono aversi risultati fortemente inaccurati.

**DIFFERENZE TRA SOCIETÀ SCIENTIFICHE NELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO CORONARICO****D. Giavarina, E. Barzon, M. Cigolini, G. Mezzena, G. Soffiati.**

Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

*Scopo del Lavoro.* Confrontare diverse carte internazionali e nazionali di rischio coronarico su uguali popolazioni.

*Materiali e Metodi.* Dati anamnestici, obiettivi e parametri biochimici necessari al calcolo del rischio sono stati ottenuti da 536 soggetti donatori di sangue e 213 soggetti diabetici. Le carte ed i calcolatori utilizzati sono riportati in tabella. Per ogni carta di rischio, sono stati applicati i

<i>Risultati.</i>		Donatori di Sangue			Soggetti diabetici		
		N.	N. pos	% pos	N.	N. pos	% pos
Framingham Study equation	15% a 10 a.	536	54	10,1%	213	141	66,2%
New Zealand	>15% a 5 a.	536	31	5,8%	213	102	47,9%
New Zealand	>20% a 5 a.	536	6	1,1%	213	51	23,9%
Shieffield table	15% a 10 a.	536	68	12,7%	213	148	69,5%
Shieffield table	30% a 10 a.	536	0	0,0%	213	20	9,4%
Joint Task Force of European Societies on Coronary Prevention	>20% a 10 a.	536	65	12,1%	213	99	46,5%
American Heart Association	>20% a 10 a.	536	11	2,1%			
Joint British Societies	>15% a dieci a.	536	46	8,6%	213	134	62,9%
Carta italiana del rischio	M: >20% a 10 a.	536	9	1,7%	210	20	9,5%
	F: >7% a 5 a.						
Calcolatore ISS - Italia	M: >20% a 10 a.	398	0	0,0%	195	36	18,5%
	F: >7% a 5 a.						

cut-off indicati per la terapia farmacologica, ove indicato. La carta neozelandese non riporta il limite decisionale per la terapia con statine, per cui sono stati valutati due livelli di cut-off. La tavola di Shieffield riporta due livelli di rischio per intervento comportamentale e farmacologico (15 e 30% di rischio).

*Discussione e conclusioni.* La valutazione multifattoriale del rischio coronario è oggi sostenuta dalle maggiori linee guida. L'uso di carte del rischio è proposto anche dalle note CUF del Ministero della Salute (nota 13). Le carte del rischio cardiovascolare derivano in gran parte dalla formula di Framingham o dallo studio PROCAM. Nel loro processo di semplificazione queste carte introducono margini di errore rispetto alle formule originarie. Tuttavia, le differenze riscontrate sono in alcuni casi impressionanti e non giustificabili su questa base. In particolare, la nuova carta del rischio coronario italiana, recentemente pubblicata dall'Istituto Superiore di Sanità, dimostra una percentuale di classificazione ad alto rischio molto inferiore alle altre carte di oltre il 50%.

Il metodo della valutazione del rischio deve essere criticamente scelto, poiché esistono marcate differenze tra le carte, prodotte in parte dalla semplificazione, in parte dall'obiettivo che si propongono.