

## Migliorano le regole per la qualità

In scadenza definitivamente (dopo tre proroghe) il 31 dicembre 2000, le regole del *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) '88 stanno per essere cambiate, con effetti prevedibili su scala mondiale.

L'organizzazione del controllo di qualità, della garanzia di qualità ed in genere delle attività gestionali viene allineata al flusso operativo del laboratorio, ossia suddivisa nelle fasi pre-analitica, analitica e post-analitica. Si chiederà non solo il monitoraggio della qualità, ma la riduzione degli errori. Il controllo di qualità dovrà prevedere indicatori non solo per i sistemi analitici, ma anche per l'ambiente (temperatura, umidità, etc...) e per gli operatori (addestramento, verifica periodica).

Le nuove regole faranno riferimento esplicito alla linea-guida NCCLS GP26: non sarà un trasferimento pari pari, ma si ritroveranno nei CLIA diversi concetti del sistema qualità secondo NCCLS, come il flusso operativo, la gestione della qualità etc..

**New CLIA QC regulations imminent.** Clin Lab Strategies 2000:5(5);2

## Attenzione ai falsi positivi

Almeno 13 procedimenti giudiziari sono stati aperti negli USA contro laboratori ritenuti responsabili di aver causato danni ai pazienti rilasciando risultati falsi positivi. La letteratura recente riporta diversi casi clinici e studi accurati sui meccanismi.

Si tratta per lo più di interferenza con i dosaggi immunometrici di anticorpi eterofili. Anche se i casi sono pochi, in rapporto al numero totale degli esami di questo tipo, il rischio non è trascurabile. Anticorpi di questo tipo possono essere secondari ad autoimmunità, vaccinazioni, infezioni virali, contatto con animali (magari a scopo terapeutico di medicina alternativa), allergie, diete speciali.

L'esame che più frequentemente risente dell'interferenza è la determinazione di hCG, con la conseguente falsa diagnosi di coriocarcinoma. Tuttavia, la lista dei dosaggi "a rischio" non è piccola (Tabella I).

Chi paga per gli errori? Se il laboratorio ha un sistema qualità efficiente e ben documentato, può cavarsela, scaricando la responsabilità sul produttore. Negli USA è sufficiente dimostrare il rispetto dei requisiti del CLIA. I produttori, a loro volta, ritengono di esaurire il loro compito facendo riferimento ai casi descritti in letteratura ed accompagnando i reagenti con dettagliate specifiche tecniche.

Tutto ciò non è sufficiente ad evitare il danno al Paziente. Alcuni laboratori hanno quindi organizzato vere e proprie campagne informative verso gli utenti. Esiste altresì la possibilità di trattare i campioni (eventualmente con criteri selettivi) bloccando gli anticorpi eterofili.

Ai laboratori è raccomandato di stendere un piano contro gli effetti degli anticorpi eterofili ripetere i dosaggi sospetti con un trattamento bloccante o con un metodo differente o diluendo il campione per evidenziare non-linearità eventualmente ripetere il dosaggio dopo incubazione con proteine animali.

**Tabella I. Esami a rischio di interferenza da anticorpi eterofili**

ACTH	CA125	CYFRA	PSA
AFP	CA153	FSH	PTH
$\beta$ -microglobulina	CA125	Gastrina	Renina
Calcitonina	CA153	hCG	SCC
CA15-3	CEA	LH	Somatomedina C
CA72-4	CK-MB	Mioglobina	Tireoglobulina
CA19-9	Cortisolo	NSE	TPA
CA72-4	C-peptide	PAP	Troponina I e T
		Prolattina	TSH

**Is your Lab liable for false positives? Taking a closer look at phantom hCG.** Clin Lab Strategies 2000:5(5);3-5

## USA: gli esami di laboratorio vanno eseguiti da chi sa interpretarli

L'American Medical Association (AMA), su stimolo della American Society of Clinical Pathologists, sostenuta dalla American Academy of Family Physicians e dalla American Academy of Anesthesiologists, ha deciso di sostenere gli sforzi contro le proposte di legge di alcuni stati che vorrebbero estendere ai farmacisti il permesso di eseguire analisi di laboratorio, senza la supervisione di un laboratorio, di un ente di controllo o di un medico. La risoluzione dell'AMA afferma che "i farmacisti non possiedono formazione e addestramento clinici per valutare accuratezza, affidabilità o appropriatezza degli esami di laboratorio". In particolare, la posizione degli anestesisti è preoccupata della interpretazione dei risultati ottenuti dal paziente che si rivolga ad una farmacia.

Wilson K. **AMA reaffirms support for trained lab personnel.** Lab Med 2000;31:474

## Abuso di sostanze adrenergiche e allucinogene

Cocaina, amine simpaticomimetiche (anfetamina e metanfetamina) e anfetamine allucinogene (3,4-metilenediossi-metanfetamina, MDMA, 3,4-metilenediossianfetamina, MDA, 3,4-metilenediossietanfetamina, MDEA, e metcatinone) sono contenute nelle droghe oggi di crescente diffusione. La diagnosi di intossicazione è spesso difficile. Il laboratorio viene coinvolto per emogas, elettroliti, glucosio, funzione renale ed epatica, marcatori cardiaci, emocromo, coagulazione. Nelle urine si ricercano i metaboliti di anfetamine e cocaina. Lo screening per anfetamine dà spesso falsi positivi e falsi negativi. L'analisi per scopi legali deve essere quindi seguita dalla conferma dei positivi mediante GC-MS.

Per la cocaina si cerca la benzoilecgonina nelle urine (soglia 300 ng/mL per lo screening, 150 ng/mL per la conferma) e nel meconio (sospettando l'intossicazione della madre). I metodi immunometrici per anfetamina possono dare falsi positivi con sostanze contenute in numerosi medicinali "da banco" e non (efedrina, fenilpropanolamina, fenfluramina, ranitidina, L-metanfetamina di preparati per inalazione, etc..). Alcune interferenze vengono eliminate dal trattamento con periodato. I valori soglia legali negli USA sono 1000 ng/mL per screening e 500 ng/mL per conferma.

Williams RH, Erickson T, Broussard L. **Evaluation of sympathomimetic intoxication in an emergency setting.** Lab Med 2000;31:497-506

## Osteocalcina: marcatore osteoblastico frenato dalla mancanza di standardizzazione

Il peptide di 49 aminoacidi dell'osteocalcina è sintetizzato sotto la regolazione della vitamina D3 e  $\gamma$ -carbossilato mediante la regolazione della vitamina K. Oltre alla molecola intatta, circolano i frammenti N e C terminali, quello intermedio e frammenti combinati N-intermedio e C-intermedio. In alcune situazioni, come la terapia steroidea, è considerato marcatore di osteosintesi più sensibile della fosfatasi alcalina. Non è ancora stato raggiunto un consenso sul frammento più significativo sul piano clinico. Venne suggerito l'impiego nel monitoraggio (non per la diagnosi) della osteoporosi postmenopausale e come indice predittivo della perdita di osso. Venne segnalato la correlazione con il PTH, sia nelle condizioni primitive che in quelle secondarie e la diminuzione nell'ipercalcemia neoplastica. Vitamina D e antiepilettici la innalzano, i cortisonici, antiepilettici e anticoagulanti (sia eparina che orali) la abbassano. Il polipeptide è molto instabile in vitro ed i metodi di dosaggio sono poco o nulla standardizzati. Tutti questi elementi pongono in serio dubbio l'opportunità di continuare a fornire questo tipo di misura nei laboratori clinici.

Lee AJ, Hodges S, Eastell R. **Measurement of osteocalcin.** Ann Clin Biochem 2000;37:432-46

## Nella spondilite anchilosante aumenta l'attività osteoclastica

Piridinoline e desossipiridinoline urinarie sono elevate, rispetto ai controlli, nei pazienti con spondilite anchilosante, specie in quelli con VES superiore a 20 mm/h. Fosfatasi alcalina totale, isoenzima osseo e osteocalcina non mostrano invece differenze, come PTH e calcitonina.

Yilmazan N, Ozaslan J. **Biochemical bone turnover markers in patients with ankylosing spondylitis.** Clin Rheumatol 2000;19:92-8

## Osteoclasti geneticamente più attivi nella ipercalciuria idiopatica da “digiuno”

Nella ipercalciuria del tipo “digiuno”, a differenza di quella “da assorbimento”, si osserva aumento della fosfatasi alcalina ossea e dell'idrossiprolinuria, nonché l'espressione del gene iNOS che regola la produzione di ossido nitrico (NO) ed il suo metabolismo da parte dell'anione superossido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), dimostrata anche dall'aumento dei livelli di perossinitrito nel plasma. Calo L, Giannini S, Bonvicini P, Nobile M, Cantaro S, Plebani M et. al., **Idiopathic hypercalciuria: O<sub>2</sub>(-)/NO relationship and altered bone metabolism.** J Endocrinol Invest 2000;23:78-83

## Osteopenia diabetica da squilibrio endocrino

L'osteopenia diabetica, misurata con la densità ossea metacarpale, risulta collegata alla concentrazione di calcio nel siero, al PTH ed al peptide correlato al paratormone (PTHrP).

Suzuki K, Sugimoto C, Takizawa M, Ishizuka S, Kikuyama M, Togawa H, et. al. **Correlations between bone mineral density and circulating bone metabolic markers in diabetic patients.** Diabetes Res Clin Pract 2000;48:185-91

## Osteocalcina in semi-automazione

Il primo metodo semiautomatizzato per l'osteocalcina si basa su palline di polistirene ricoperte di anticorpi contro il peptide C terminale dell'osteocalcina. La reazione avviene nel sistema COBAS® EIA.

Craciun AM, Vermeer C, Eisenwiener H-G, Drees N, Knapen MHJ. **Evaluation of a bead-based enzyme immunoassay for the rapid detection of osteocalcin in human serum.** Clin Chem 2000;46: 252-7.

## Piridinoline nel sudore come nelle urine

I metaboliti del collagene con legami incrociati piridinolina e desossipiridinolina possono essere misurati nel sudore raccolto con un impacco cutaneo non occlusivo. Nei soggetti in menopausa o sottoposti a terapia con GnRH per cancro alla prostata sono stati trovati aumentati in media del 36%, proprio come si osserva nelle urine.

Sarno M, Powell M, Tjersland G, Schoendorfer D, Harris H, Adams K. **A collection method and high-sensitivity enzyme immunoassay for sweat pyridinoline and deoxypyridinoline cross-links.** Clin Chem 1999;45: 1501-9.

## Osteocalcina intera, frammento e carbossilata

L'osteocalcina (hOC) può essere misurata con anticorpi verso la molecola intatta, verso il peptide N-terminale o verso la molecola  $\gamma$ -carbossilata. Nelle donne in menopausa si riscontrano valori elevati, ridotti dalla terapia ormonale. Il trattamento con anticoagulanti orali influenza la forma carbossilata.

Käkönen S-M, Hellman J, Karp M, Laaksonen P, Obrant KJ, Väänänen HK, et. al. **Development and evaluation of three immunofluorometric assays that measure different forms of osteocalcin in serum.** Clin Chem 2000;46: 332-337.

## Il monitoraggio del metabolismo osseo.

Desossipiridinolina (DPD, CrossLaps (CTx) e galattosilidrossilisina (GHYL) presentano elevata variabilità biologica interindividuo (indice di individualità: circa 0.5) ma la variabilità individuale consente di calcolare la differenza di riferimento (cambiamento di riferimento: 0.58 per DPD, 0.54 per CTx e 1.08 per GHYL). DPD e Ctx sono marcatori più adatti al monitoraggio. Plebani M, Bernardi D, Meneghetti MF, Ujka F, Zaninotto M. **Biological variability in assessing the clinical value of biochemical markers of bone turnover.** Clin Chim Acta 2000;299:77-86

## La conservazione del campione per i marcatori del metabolismo osseo.

Il propeptide N-terminale del procollagene tipo I nel siero (PINP), gli N-telopeptidi urinari del collagene tipo I (Ntx), le piridinoline (PYD) e desossipiridinoline (DPD) sono stabili a 2-9°C per almeno una settimana. La stabilità dopo congelamento può essere considerata valida per alcuni mesi. Piridinoline e desossipiridinoline sono molto sensibili alla temperatura, quindi richiedono la refrigerazione immediata delle urine.

Lomeo A, Bolner A. **Stability of several biochemical markers of bone metabolism.** Clin Chem 2000;46:1200-2.

## I principali marcatori del metabolismo osseo.

Il propeptide N-terminale del procollagene tipo I (PINP) ed il propeptide C-terminale del procollagene tipo I nel siero (P1CP) sono indicatori di formazione dell'osso. Il PINP sembra però più sensibile e più specifico del P1CP.

La fosfatasi alcalina specifica dell'osso (BSALP) è un enzima di membrana liberato dalle fosfolipasi C e D. La differenza con le forme non specifiche risiede nella catena carboidratica. I metodi di denaturazione al calore, inibizione chimica, elettroforesi e precipitazione sono stati soppiantati da quelli immunometrici. Il dosaggio della BSALP invece dell'attività totale è utile nel Paget, nell'osteomalacia, nella osteodistrofia renale, per la guarigione dalle fratture. Non distingue però nettamente gli individui con osteoporosi. E' utile per il monitoraggio della terapia con bifosfonati. Alti livelli di isoforma epatica possono interferire con il dosaggio.

Il dosaggio dell'Osteocalcina presenta ampia variabilità tra metodi e varie limitazioni.

Nessun marcatore è risultato utile per la diagnosi di osteoporosi. Possono però essere utilizzati per predire la velocità di perdita dell'osso, determinare il rischio di fratture o monitorare la terapia.

Nonostante sia stata dimostrata retrospettivamente la correlazione tra BSALP, osteocalcina, calciuria, idrossiprolina o piridinoline con la perdita di osso, non è chiaro il loro valore prospettivo.

L'osteocalcina decarbossilata, non la totale, sembra correlata con il rischio di fratture.

BSALP è stata utilizzata per comprovare la risposta alla terapia con pamidronato.

I marcatori biochimici ancora non sostituiscono la misura della massa ossea.

I marcatori di riassorbimento dell'osso sono la fosfatasi acida tartrato-resistente, le piridinoline, i peptidi del collagene, l'idrossiprolina, i glicosidi dell'idrossilisina, la sialoproteina ossea. Non sostituiscono la misura della densità ossea, ma possono aiutare a predirne la perdita. Non abbiamo tuttavia ancora un consenso sul marcatore da utilizzare nella pratica. Analogamente, è stata dimostrata la correlazione tra marcatori e rischio di fratture, ma il valore nel singolo paziente rimane ancora da determinare. Anche la diagnosi di osteoporosi, nonostante le numerose segnalazioni di differenze significative, non può avvalersi dei marcatori biochimici.

Nel corso della terapia i marcatori biochimici possono essere utilizzati per verificare la compliance, la risposta terapeutica e l'efficacia della terapia stessa. Misurazioni seriate dopo l'inizio della terapia potrebbero indicare se il paziente risponde o no. Il concetto, di per sé logico, non è stato ancora confermato in alcun studio prospettico.

Gundberg CM. **Risk Assessment for Osteoporosis III - Biochemical Markers of Bone Formation.** In Clifford Rosen, ed Clin Lab Med 2000; 30:489-501

Woitge WW, Seibel MJ. **Risk Assessment for Osteoporosis II - Biochemical Markers of Bone Turnover - Bone Resorption Indices.** In Clifford Rosen, ed Clin Lab Med 2000; 30:503-25

## Norme, regole, "mercato" e qualità

«Se la qualità è verificabile, l'impresa riesce a "comunicare" con il mercato ed a consolidare, nel breve o medio periodo, la propria reputazione. Se invece la qualità del bene non è verificabile dai consumatori, il meccanismo reputazionale non si attiva, dal momento che i consumatori non riescono a distinguere prodotti di alta e bassa qualità. In queste circostanze, per tutti i beni verrà richiesto lo stesso prezzo, indipendentemente dalla effettiva qualità. Tale prezzo è inferiore al valore dei prodotti migliori, che non verranno quindi scambiati. A causa dell'incertezza sulla qualità del prodotto, i prodotti peggiori "scacciano" dal mercato i prodotti migliori. E' questo il cosiddetto *lemon problem* studiato da Akerlof (1) nel mercato delle auto usate»

Bortolotti R, Siniscalco D. **Regole senza regolatori?** U&C 2000;6:6-10

1. Akerlof G. The market of lemons, uncertainty and the market mechanism. Quarterly Journal of Economics 1970;60:488-500

## Norma, standard e la stele di Eleusi

Nel 1983, ad Eleusi, in Grecia, viene scoperta una stele incisa nel IV secolo a.C.. Il testo è un decreto che riporta i requisiti di alcune parti metalliche (dadi e bulloni) noti come *empolia* e *poloi*. I cittadini di Eleusi erano stati chiamati ad esprimere il loro voto sul testo: esattamente come oggi avviene per una “norma tecnica”.

Standard deriva, attraverso l'inglese, dal francese antico “estendart”, ossia gonfalone, stendardo, con il significato di “punto di riferimento” in battaglia.

Norma, dal latino *norma*, incrocio tra il greco *gnomon* ed il latino *forma*, significava “squadra”, ossia strumento per misurare angoli retti. Oggi ha vari usi e significati, a seconda del contesto: diritto, statistica (= moda), petrografia, matematica (= distanza), antropometria, produzione e tecnica (= metodo), metrologia e tecnica (= condizioni di realizzazione)

Greco R. **Norma normae**. U&C 2000;8:16-17

## Organismi di accreditamento italiani presenti in Europa

SINAL, SINCERT e SIT hanno attivato, fin dalla loro nascita, collegamenti con gli analoghi sistemi d'accREDITAMENTO degli altri paesi europei.

SINAL (Sistema Nazionale per l'AccREDITAMENTO dei Laboratori, costituito da UNI e CEI, con il patrocinio del Ministero dell'Industria, del CNR, dell'ENEA e delle Camere di Commercio) ha come finalità l'accREDITAMENTO di laboratori di prova in relazione alle normative accettate in ambito comunitario.

SINCERT (Sistema Nazionale per l'AccREDITAMENTO degli Organismi di Certificazione, costituito da UNI e CEI, con il patrocinio del Ministero dell'Industria, del CNR, dell'ENEA) ha come finalità l'accREDITAMENTO di organismi di certificazione di prodotti, di sistemi qualità, di sistemi di gestione ambientale e del personale, nonché di organismi di ispezione.

SIT (Sistema Nazionale di Taratura, istituito dalla legge 273/91) si basa sugli Istituti Metrologici Primari: Gustavo Colonnetti del CNR, Galileo Ferraris di Torino, Metrologia delle Radiazioni Ionizzanti dell'ENEA.

Bianco P, Mosca M, Perissi R. **La presenza internazionale degli organismi di accREDITAMENTO italiani**. U&C 2000;7:20-2