

Automazione in allergologia: valutazione del sistema ADVIA Centaur nella determinazione delle IgE specifiche del siero

Eliana Baghino*, Eugenia Bovina*, Gaetano Magrì*, G. Domenico Poggi*, Anna Tinivella**, Giuseppe Ricchetti*
Gianluca Garello*

*Laboratorio Analisi, Ospedale di Imperia (Direttore Dr. Gian Domenico Poggi)

**Laboratorio Analisi Ospedale di Galliate (Direttore Dr.ssa Anna Tinivella)

ABSTRACT

Automation in allergology: evaluation of the ADVIA Centaur system for the measurement of serum specific IgE

The availability of new automatic systems allows the laboratories involved in immunochemical measurements to consolidate immunochemical tests and specific IgE measurements on the same analytic platform. This work's aim was to verify if such a technological innovation allows specific serum IgE to be measured with the accuracy level required by allergologic diagnostics. To this aim we have compared the analytical results from a new system, the ADVIA Centaur (Bayer), with those from an accepted and largely used alternative system, the UniCAP (Pharmacia).

RIASSUNTO

L'introduzione di nuovi sistemi automatici che permettono ai laboratori che effettuano determinazione immunochimiche di integrare facilmente ed in modo efficace i test allergologici nella loro pratica quotidiana sono una valida premessa per un efficiente consolidamento nell'area siero delle determinazioni immuno-allergologiche di routine. Questo lavoro si propone di valutare se questa innovazione tecnologica, caratterizzata da migliorata velocità d'analisi e ridotta manualità dell'operatore, consenta la accuratezza qualitativa richiesta dalle determinazioni delle IgE allergene-specifiche. Abbiamo confrontato i sistemi Pharmacia UniCAP e Bayer ADVIA Centaur analizzando 50 campioni di pazienti con differenti IgE specifiche, per un totale di 202 determinazioni di IgE specifiche. In base ai dati ottenuti possiamo affermare il buon livello qualitativo ottenuto per lo strumento ADVIA Centaur (Bayer). Ciò consente di realizzare il consolidamento tecnologico anche per la diagnostica allergologica.

INTRODUZIONE

Il cambiamento a cui oggi assistiamo nella organizzazione del laboratorio è avvenuto prevalentemente ai fini del miglioramento dell'efficienza: i laboratori che prima erano organizzati in sezioni separate (per esempio chimica clinica, immunometria, ematologia) hanno seguito la strada del consolidamento. Tale modalità operativa, indotta dalla disponibilità di strumentazione capace di gestire tecnologie diverse su piattaforme analitiche unificate, è in grado di eseguire contestualmente esami di chimica clinica, immunometria, determinazioni di farmaci e sierologia (1).

Cenerentola di queste trasformazioni è rimasta l'allergologia, spesso limitata dalla impossibilità di consolidare la determinazione delle IgE specifiche del siero (sIgE) su piattaforme multifunzionali. Peraltro, si sente oggi la necessità di disporre anche in questo settore di una più spinta automazione, che si sviluppa più lentamente e che, per una serie di motivi, non riesce a raggiungere un modello organizzativo basato sul consolidamento.

La nostra ricerca è stata motivata dal desiderio di fare il punto sullo stato dell'arte dei traguardi raggiunti dalle

nuove e sofisticate tecnologie disponibili nell'ambito delle analisi allergologiche, che necessitano di una verifica in routine della qualità diagnostica ottenibile. In questo contesto, abbiamo voluto valutare se la qualità analitica raggiunta dall'innovativo sistema Bayer ADVIA Centaur fosse adeguata, confrontandone l'accuratezza qualitativa con il sistema Pharmacia UniCAP. A tale fine, abbiamo elaborato un protocollo operativo che partisse dalla fase preanalitica fino alla comparazione di campioni scelti in maniera critica (2).

MATERIALI E METODI

Abbiamo selezionato 50 campioni di siero da pazienti di ambo i sessi con differenti età e con differenti sIgE. Su questi campioni sono state determinate le seguenti sIgE: d1, d2, e1, f1, g2, g3, g4, g5, m6, t3, t9, w1, w5, e w19, per un totale di 202 sIgE. Di questi 50 pazienti 5 erano negativi a tutte le sIgE determinate, mentre 45 presentavano diverse positività e negatività. I campioni di siero sono stati congelati subito dopo la centrifugazione e dopo la prima analisi sono stati conservati in frigorifero per un periodo non superiore ai 15 giorni. Le determinazioni delle sIgE

sono state effettuate sul sistema Bayer ADVIA Centaur, che esegue misurazioni quantitative completamente automatizzate, e sul sistema Pharmacia UniCAP.

Per quanto concerne la valutazione della fase preanalitica, sono state eseguite determinazioni successive sui medesimi campioni di siero, sia ripetendo le misurazioni dopo due settimane di conservazione a 4°C (campioni non congelati), sia su campioni congelati (conservati a -20°C) dopo due e tre successivi cicli di scongelamento e ricongelamento.

RISULTATI

Fase preanalitica

Dalla media tra le serie di 15 sieri rianalizzati si è evidenziato che il CV% era:

- 4,52% tra le aliquote dei sieri conservati per due settimane in frigo a 4 °C e le aliquote dei sieri rianalizzati dopo il 2° scongelamento;
- 4,21% tra le aliquote dei sieri conservati per due settimane in frigo a 4°C e le aliquote dei sieri rianalizzati dopo il 3° scongelamento.

Essendo evidente che i ripetuti scongelamenti e ricongelamenti non modificavano i risultati al pari della conservazione a 4°C e che i risultati ottenuti si dimostravano affidabili, abbiamo deciso di mantenere le procedure di laboratorio in cui tutti i sieri prelevati per la determinazione delle IgE specifiche vengono aliquotati e congelati, quindi al momento della seduta analitica scongelati e mantenuti in frigorifero a 4°C per eventuali controlli, nel nostro caso rianalizzati con il sistema ADVIA Centaur della Bayer (3).

Volendo comparare in maniera immediata sistemi differenti abbiamo fatto riferimento in prima analisi a un

cut-off di 0.35 kU/L per la positività o negatività del risultato e abbiamo verificato nei positivi la differenza di appartenenza alle classi allergologiche corrispondenti ai valori di sIgE misurate. In seconda istanza è stato preso in considerazione il risultato quantitativo delle misure allergologiche mediante analisi statistica con regressione lineare (4-6).

Valutazione per classi allergologiche

Le 202 determinazioni di sIgE effettuate con il metodo in valutazione hanno mostrato, nei confronti con il metodo alternativo, sensibilità e specificità complessive rispettivamente dell'87.1 e 97.4%. Complessivamente, i risultati sono stati i seguenti: concordanti positivi 142; concordanti negativi 38; concordanti totali 180 (89,1%); discordanti 22. Una analisi più dettagliata delle concordanze/discordanze, includente nei casi di discordanza anche l'ampiezza della discordanza espressa in classi allergologiche, è riportata nelle tabelle 1 e 2.

Tabella 1

Confronto positività/negatività per 202 sIgE misurate con i due sistemi ADVIA Centaur (Bayer) e UniCAP (Pharmacia)

		UniCAP Pharmacia	
		positivi	negativi
ADVIA Centaur	Positivi	142	1
	Negativi	21	38

Tabella 2

Confronto tra singole sIgE misurate con i due sistemi ADVIA Centaur (Bayer) e UniCAP (Pharmacia), per classi allergologiche

SgE	Numero di determinazioni	Valori concordanti	Valori discordanti		
			1 classe	2 classi	3 classi
d1	33	20	13	0	0
d2	33	11	18	4	0
e1	8	4	4	0	0
f1	1	1	0	0	0
g2	10	4	4	2	0
g3	25	19	6	0	0
g4	18	13	3	2	0
g5	8	7	1	0	0
m6	2	2	0	0	0
t3	19	11	6	1	1
t9	18	13	3	2	0
w1	1	0	1	0	0
w19	23	16	5	2	0
w5	3	1	1	1	0
TOTALE	202	122	65	14	1

Tabella 3

Coefficienti di correlazione "r" nel confronto dei valori di sIgE misurati con i sistemi ADVIA Centaur Bayer (y) e UniCAP Pharmacia (x).

Allergene	Numero di determinazioni	Intercetta (k U/L)	pendenza	r
d1	33	4.0	0.75	0.818
d2	33	4.7	1.14	0.789
g2	10	0.3	1.03	0.929
g3	25	0.3	1.03	0.982
g4	18	0.9	1.04	0.955
t3	19	1.9	0.85	0.928
t9	18	0.7	0.54	0.846
w19	23	5.0	0.75	0.771
Tutti	202	2.4	0.93	0.876

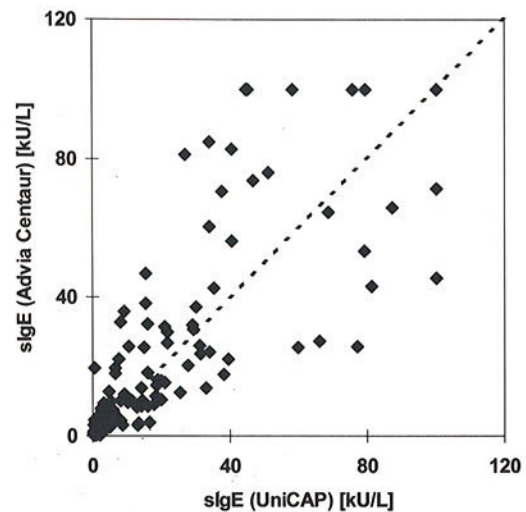
Valutazione del risultato quantitativo delle misurazioni

Per questa valutazione si sono calcolati coefficienti di correlazione delle coppie di valori ottenuti con i due sistemi per i singoli allergeni, per quegli allergeni dove la numerosità era più elevata. I risultati sono riportati nella tabella 3. Si sono considerate complessivamente tutte le sIgE misurate (n = 202), analizzando statisticamente i dati mediante calcolo del coefficiente di correlazione, che è risultato r = 0.876 e della regressione lineare [valori del metodo in valutazione (ADVI Centaur, y) su valori del metodo di confronto (UniCAP, x)], la cui retta è risultata $y = 0.94x + 2.4$ (Figura 1).

CONCLUSIONI

In lavori di recente pubblicazione si assiste ad una crescente attenzione al risultato quantitativo anche per le analisi di allergologia. La necessità di una precisa valutazione anche per le concentrazioni più basse nasce dal fatto che la patologia allergica dei pazienti sembrerebbe direttamente correlata con l'esposizione all'allergene scatenante. Da queste considerazioni deriva la necessità del confronto statistico dei valori quantitativi sia dei singoli allergeni, che nella loro complessità (7).

Sulla base dei dati qui riportati possiamo affermare di aver ottenuto risultati di un buon livello qualitativo-quantitativo,

**Figura 1**

Confronto tra i valori quantitativi di differenti sIgE (n = 202) misurati con il sistema in valutazione (ADVIA Centaur, Bayer) e con il sistema di confronto (UniCAP, Pharmacia). L'equazione della retta di regressione lineare è risultata $y = 0,94x + 2,4$; il coefficiente di correlazione è risultato $r = 0,876$.

tativo, che consentono di realizzare l'idea del consolidamento nell'area siero anche degli esami allergologici (determinazione delle IgE specifiche del siero).

BIBLIOGRAFIA

1. Robin A.Felder, D., Il Laboratorio prossimo venturo : politiche, modelli e risorse. 134° Corso CEFAR, Montecatini 2002
2. Geibig CB., Mansur JM., Medema PG., Nold EG. Pharmacy-controlled documentation of drug allergies. Am J Hosp Pharm 1991; 48(2): 260-4 .
3. Prandini B. Ascarì E. et al. La fase preanalitica in laboratorio: Raccolta, preparazione e conservazione dei campioni biologici. Ed. Sorbona, Milano 1996
4. Ricci M.-O. Rossi- A. Matucci: Argomenti di allergologia ed Immunologia Clinica 1996 -4.3
5. Ishikawa T. School hygiene and allergic rhinitis in children . Asian Med J 1991; 34(1):41-5.
6. Lundbland FP. House dust mite allergy in an office building. Appl Occup Environ Hyg 1991, 6(2):94-6.
7. Plebani M. et al. Clinical evaluation of a new quantitative method for specific IgE antibodies. Eur. J Clin Chem Biochem 1996; 34: 579-584.