

G075

Rossi L., Lucchetti A., Innocenti B., Rocchi V.*, Ambrogio F., Melchiorre D.°

IGE TOTALI COSTANTEMENTE ELEVATE IN PAZIENTE ASINTOMATICO: CASO CLINICO

U.O. Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche I, *Immunoallergologia Clinica Dipartimento Medicina Interna, °Reumatologia Dipartimento Medicina Interna, Università di Pisa, Azienda Ospedaliera Pisana

Si è presentato presso il Dipartimento di Medicina Interna un uomo di 54 anni, operaio in una fabbrica di pellami, affetto da monoartrite di ginocchio e dermatite delle mani. Contemporaneamente all'appropriata terapia farmacologica, sono stati consigliati alcuni esami ematochimici da cui sono emersi i seguenti dati: positività del fattore reumatoide (ANCA e crioglobuline nella norma), ed elevati livelli sierici di IgE totali (eseguito nell'Azienda Usl di provenienza). A distanza di 2 anni dalla prima visita, le alterazioni ematochimiche precedentemente citate permangono, malgrado il paziente non abbia presentato ulteriori episodi artritici e goda di buona salute. Si è proceduto quindi all'esecuzione di accertamenti diagnostici e clinici. Il paziente è risultato positivo per HBV e HCV, pur in presenza di transaminasi ed ecografie addominali nella norma; pannello ematochimico standard (chimica clinica, elettroforesi, coagulazione ed emocromo) e tiroidei nei limiti, markers neoplastici (PSA, CEA, alfa-fetoproteina, CA 19/9), esame parassitologico e ricerca sangue occulto nelle feci, ricerca cisti di echinococco negativi. La visita allergologica richiesta a seguito dei continui valori elevati di IgE totali ha permesso di escludere la presenza di ipersensibilità immediata verso i principali allergeni inalanti ed alimentari, sia in vivo (prick test) che in vitro (IgE specifiche). L'esecuzione di patch test serie STANDARD e serie professionale (calzaturieri e pellettieri), non ha evidenziato ipersensibilità ritardata da contatto. Sono stati eseguiti dosaggi di IgA, IgG, IgM, catene leggere K e λ sul siero del paziente, catene leggere K e λ sulle urine (tecnica nefelometrica, nefelometro BN2 Dade Behring), immunofissazione siero ed urine su gel di agarosio (Autoife Helena), immunosottrazione capillare (CZE 2000 Beckman Coulter) con risultati negativi o nella norma. Il siero del paziente non presenta componenti monoclonali di natura IgE (Autoife Helena). Attualmente il paziente è totalmente asintomatico, esegue periodicamente il dosaggio delle IgE totali e visite cliniche di controllo. Ci è parso opportuno segnalare questo caso di rilevante interesse clinico e laboratoristico.

G076

Cinapri V., Rossi L.*, Lucchetti A.*, Innocenti B.*, Calvi D., Marchini F., Grandi G., Mariani S., Fagnani F., Giampietro O., Matteucci E.

LA CONCENTRAZIONE PLASMATICA DI OMOCISTEINA NEI DIABETICI TIPO 1 E NELLE LORO FAMIGLIE.

*Lab. Analisi Chimico Cliniche I, Azienda Ospedaliera Pisana; Dip. Medicina Interna, Università di Pisa.

Nel diabete mellito tipo 1 senza complicanze renali, sono stati osservati livelli circolanti di omocisteina (tHcy) sia elevati che normali o ridotti rispetto ai soggetti sani di controllo. Gli autori concordano invece sulla presenza di elevati livelli circolanti di tHc in associazione con la nefropatia diabetica. Abbiamo misurato la concentrazione di tHcy mediante metodo immunologico a fluorescenza (Imx system, Abbott Diagnostics) in 60 controlli sani (età 20-75 a), 71 diabetici tipo 1 (39 ± 13 a, senza complicanze note, $n=30$, con retinopatia, $n=21$, con nefropatia, $n=20$), i loro parenti non diabetici (47 genitori, 60 ± 10 a; 36 fratelli, 39 ± 13 a). La concentrazione plasmatica di tHcy era maggiore nei controlli di sesso maschile che femminile ($p < 0.001$), nei fumatori ed ex-fumatori che nei non fumatori ($p < 0.05$). I livelli di tHcy erano inferiori nei diabetici rispetto ai controlli ($p < 0.01$). I pazienti tipo 1 con nefropatia diabetica presentavano livelli di tHcy maggiori dei pazienti senza complicanze o con retinopatia ($p < 0.05$). Non era osservabile alcuna differenza nei livelli di tHcy tra i parenti di primo grado dei diabetici tipo 1 ed i rispettivi controlli. Nel diabete tipo 1, i livelli di tHcy erano associati ($R 0.98$, $p < 0.001$) con: creatinemia, SGOT, pressione arteriosa media (correlazione positiva), lipoproteina (a), bilirubinemia, cupremia (correlazione negativa). Concludiamo che: 1) nel gruppo di controllo, il sesso maschile ed il fumo sono associati ad alti livelli circolanti di tHcy; 2) la tHcy è ridotta nel diabete mellito tipo 1 (accelerata transsulfurazione epatica?); 3) la concentrazione plasmatica di tHcy è elevata in presenza di nefropatia diabetica.

Cosio G., Peer E., Müller H., Floreani M.

L'ESAME DEL LIQUIDO SEMINALE NELLA DIAGNOSTICA DELL'INFERTILITÀ MASCHILE

Laboratorio di Biochimica Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale Regionale, Bolzano

Nelle più recenti statistiche del WHO viene riportato che problemi di fertilità coinvolgono circa il 15-20% delle coppie in età fertile nei diversi paesi compresa l'Italia: i soggetti maschi, che dopo un anno di rapporti liberi con una partner normale non hanno concepito, vengono definiti infertili e sono sottoposti ad una serie di indagini clinico-laboratoristiche atte all'approfondimento del potere fecondante del seme.

L'esame standard del liquido seminale rimane il test di elezione per valutare il potenziale di fertilità maschile in patologie uro-andrologiche che possono in qualche modo compromettere la fertilità.

Nel nostro Laboratorio sono state eseguite negli ultimi due anni 535 analisi del liquido seminale: dall'anamnesi si è rilevato che il 55% (n°=291) dei pazienti presentava problemi di sterilità di coppia, il 21% (n°=112) di varicocele, il 9% (n°=48) di infezioni uro-genitali, l'8% (n°=44) si era sottoposto ad un intervento di vasectomia, il 7% (n°=40) non ha risposto all'indagine anamnestica.

I dati analitici di concentrazione, motilità progressiva, morfologia degli spermatozoi e i parametri del WHO hanno consentito un confronto tra dati anamnestici e classificazione dei pazienti: solo il 30% dei pazienti sottoposti all'esame hanno presentato una normalità dei parametri seminali. Invece il 69% dei pazienti con sterilità di coppia, il 59% dei pazienti affetti da varicocele, il 68% dei pazienti con infezioni uro-genitali hanno presentato anomalie di uno o più degli stessi parametri; inoltre il 19% di soggetti vasectomizzati presentavano a distanza di tempo una criptozoospermia persistente. Una ricerca bibliografica accurata (MEDLINE, key-word: male infertility) ha dimostrato che per quanto riguarda i pazienti con sterilità di coppia o varicocele i nostri dati correlano con quelli della letteratura internazionale; una discordanza (nella nostra casistica solo il 32% dei pazienti presenta normozoospermia, contro il 57% della letteratura) si verifica con il gruppo di pazienti con infezioni urogenitali. Ci sembra di poter concludere che l'esame del liquido seminale può rappresentare in modo efficace la risposta del Laboratorio alla diagnostica del soggetto infertile. Inoltre la confrontabilità dei nostri dati con quelli della letteratura internazionale ci indica che l'utilizzo di criteri standard (OMS 1992) per la valutazione dell'esame ha contribuito a renderlo più accurato e preciso.

Ciuti R., Bergesio F.*, Monzani G.°, Chiaroni R., Larini F., Giovannini F.

PEROSSIDAZIONE LIPIDICA ED ATTIVITÀ DI ENZIMI ANTIOSSIDANTI ERITROCITARI IN PAZIENTI DIALIZZATI E TRAPIANTATI.

Laboratorio di Biochimica Clinica, Endocrinologia e Tossicologia, *U.O. Nefrologia, A.O. Careggi; °U.O. Nefrologia, Ospedale S.Giovanni di Dio - Firenze

I pazienti uremici sono soggetti particolarmente esposti al rischio cardiovascolare per alterazioni del metabolismo lipidico e maggiore suscettibilità all'insulto ossidativo che si aggrava con l'emodialisi (HD) o con la dialisi peritoneale continua (CAPD). Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare l'effettivo danno ossidativo subito da questi due tipi di uremici sottoposti a dialisi a confronto con pazienti che hanno avuto ripristinata la funzionalità renale tramite trapianto. Abbiamo reclutato 22 pazienti in HD (11M,11F), 18 in CAPD (10M,8F) e 36 trapiantati, di questi abbiamo selezionato un gruppo con buona funzionalità renale T1 (Creat.< 1.3mg/dl) (11M,7F) un altro con parziale compromissione (Creat> 1.5 mg/dl) T2 (15M,3F). Su tutti questi, confrontati con un gruppo di 20 soggetti sani (10M,10F), abbiamo analizzato i principali marker di liperossidazione determinando i TBARS sia su siero che su eritrociti e i livelli circolanti nel plasma di anticorpi anti-LDL ossidate (ox-LDL-IgG ELISA, Gull). Il potere di difesa ai radicali liberi è stato investigato valutando l'attività enzimatica dei due più importanti enzimi eritrocitari antiossidanti: la SOD e la Catalasi(CAT). Ai principali fattori di rischio aterogenico (HDL% e ApoA1/B) abbiamo aggiunto, come fattori indipendenti, la Lp(a) e l'Omocisteina (Hcy).

Risultati e conclusioni:

I marker di aterogenicità sono alterati non solo nei dializzati, ma anche nei trapiantati con crisi di rigetto:

	HDL%	A1/B	Hcy µM/l	Lp(a)mg/l
HD	32(p<.02)	1.3(p<.02)	30(p<.0001)	244 (n.s.)
CAPD	28(p<.01)	1.2(p<.001)	38(p<.0001)	253 «
T1	43 (n.s.)	1.6 (n.s.)	13 (n.s.)	192 “
T2	32(p<.03)	1.5 “	27(p<.001)	200 “

L'aumento della liperossidazione nei dializzati, riscontrato sia come TBARS che come Ac-LDLox, può spiegarsi con il forte calo degli enzimi di difesa all'insulto ossidativo: la CAT e soprattutto la SOD (975Uvs1330U).L'aumento degli Ac-LDLox correla positivamente con il n° di sedute dialitiche. La terapia immunosoppressiva non sembra influire sullo stato ossidativo anche se c'è una correlazione positiva tra livelli di Ciclosporina e produzione di Ac-antiLDLox. Nei trapiantati con buona funzionalità renale si nota un miglioramento dell'assetto lipidico con una %HDL che aumenta coll'età dell'organo trapiantato (r=0.52).

Ciuti R., Bergesio F.*, Monzani G.°, Chiaroni R., Larini F., Giovannini F.

ASSETTO LIPIDICO E STRESS OSSIDATIVO NELLA PROGRESSIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE

Laboratorio di Biochimica Clinica, Endocrinologia e Tossicologia, *U.O. Nefrologia, A.O. Careggi; °U.O. Nefrologia, Ospedale S.Giovanni di Dio- Firenze

Le malattie cardiovascolari sono la maggiore causa di morbilità e mortalità nell'uremia. Il nostro studio si è a valutare se un aumento di produzione di radicali liberi, deplezione di anti-ossidanti e composizione lipoproteica poteva correlarsi con la gravità dell'insufficienza renale. A tale scopo abbiamo reclutato 72 pazienti uremici raggruppati in funzione della gravità della funzione renale: IRC1 (n=20) con Creat. tra 1.5 e 3 mg/dl, IRC2 (n=20) con Creat. tra 3 e 6, IRC3 (n=21) con Creat >6. È stato selezionato anche un gruppo di uremici gravi che seguivano una dieta vegetariana supplementata con chetoanaloghi: α K (n=11). Tutti i gruppi sono stati confrontati con un gruppo di soggetti sani omogenei per età e sesso (n=21). Sono stati esclusi tutti i pazienti affetti da obesità, diabete e altre malattie metaboliche. Come marker di stress ossidativo abbiamo valutato il grado di lipoperossidazione con la misura spettro-fotometrica dei TBARS nel plasma e negli eritrociti, il contenuto di anticorpi rivolti verso le LDL ossidate (ox-LDL-IgG ELISA, Gull). Il potere di difesa ai radicali liberi è stato analizzato misurando l'attività degli enzimi SOD e Catalasi eritrocitari e la capacità totale antiossidante nel plasma (PAO, Med.Dia) con la riduzione di ioni rameici. Abbiamo considerato come indice di aterogenicità la % di Col HDL, il rapporto ApoA1/ApoB, la Lp(a) e l'Omocisteinemia.

Risultati e conclusioni:

I valori mediani dei TBARS sono più elevati in tutti i gruppi degli uremici tranne che negli α K, positiva è la correlazione tra TBARS plasmatici e creatinina ($r=0.40$, $p<.001$), il livello degli Ac antiLDLox cresce con la gravità dell'insufficienza renale, ma non in modo significativo. L'aumento dell'Omocisteinemia è assai elevato nei 2 gruppi a uremia grave, IRC3 e α K ($p<.0001$) e positiva la progressione ($r=0.40$). La capacità di difesa ai radicali liberi nel plasma (PAO) risulta paradossalmente aumentata negli uremici, ma ciò è dovuto agli alti livelli di ac. urico di questi pz. La SOD aumenta negli uremici mentre la Catalasi decresce, ciò può essere causa di aumento di H2O2. Sia la HDL% ($r=-0.37$) che A1/B ($r=-0.30$) correlano con la progressione dell'uremia ad eccezione del gruppo α K, così la Lp(a) risulta elevata nei IRC3 (238 mg/l) e non negli α K (104 mg/l) indicando che la dieta può influire positivamente sulla riduzione dei fattori di rischio cardiovascolare negli uremici.

Torelli F., Lodolini S., Ricciotti R., Boemi M.*

INCIDENZA DI INDICI ANTROPOMETRICI SU FATTORI BIOCHIMICI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE

Radiochimica I.N.R.C.A., Ancona; *U.O. Diabetologia, I.N.R.C.A. Ancona

L'omocisteina (Hcy), la lipoproteina a [Lp(a)], il Diabete Mellito, rappresentano indubbiamente fattori di rischio cardiovascolari. L'importanza del diabete è anche funzione del suo grado di compenso glico-metabolico, valutato attraverso la determinazione della emoglobina glicata (HbA1c) e della fruttosamina (FRUTT.) i cui livelli plasmatici riflettono in qualche maniera il rispetto del regime dietetico suggerito. Lo scopo di questa indagine è stato quello di valutare se esiste una relazione tra alcuni fattori antropometrici e i livelli plasmatici di Hcy e di Lp(a), determinati in pazienti diabetici compensati e in soggetti di controllo sani. Sono stati reclutati: 34 pazienti diabetici di tipo I (IDDM), di età media 42.3 ± 14.4 e durata della malattia 13.0 ± 11.0 anni, i quali seguivano una dieta di circa 2000 Kcal ma standardizzata con 20% di proteine, 27% di grassi e 53% di carboidrati; 34 soggetti sani di controllo, parenti di I° grado (genitori o figli) dei pazienti IDDM, di età media 45.4 ± 11.8 , i quali erano a dieta libera. A ciascun individuo sono stati misurati, a digiuno: HbA1c, FRUTT., Hcy, Lp(a), body mass index (BMI), peso corporeo. I risultati ottenuti, espressi come media \pm DV, dai soggetti sani di controllo e dagli IDDM, sono rispettivamente: BMI: 25.5 ± 4.2 Kg/m², 24.0 ± 3.4 Kg/m² (-5.9%); peso corporeo: 70.9 ± 12.8 , 68.4 ± 12.2 Kg (-3.6%); HbA1c: $5.08 \pm 0.49\%$, $8.32 \pm 2.12\%$; FRUTT.: 243 ± 29.7 mmol, 381 ± 81.5 mmol; Hcy: 6.45 ± 1.9 μ mol, 5.38 ± 2.1 μ mol (-16.6%, $p = 0.066$); Lp(a): 8.21 ± 7.6 mg/L, 12.62 ± 11.6 mg/L (+53.7%, $p = 0.124$). Pertanto si può dedurre che una dieta equilibrata, i cui benefici sono evidenziati dal BMI e dal peso corporeo, è in grado di ridurre la concentrazione plasmatica della Hcy, seppure in maniera non statisticamente significativa, indipendentemente dalla patologia diabetica. La dieta è inefficace sulla Lp(a), la cui concentrazione è principalmente determinata geneticamente.

Bibliografia

- C.D. AGARDH et al. Lack of association between plasma homocysteine levels and microangiopathy in type I diabetes mellitus., Scand J Clin Lab Invest 1994; 54: 637-641.
- CHRISTA COBBAERET et al. Significance of various parameters derived from biological variability of lipoprotein(a), homocysteine, cysteine, and total antioxidant status. Clinical Chemistry 1997; 43(10): 1958-1964.

Galluzzo C.¹, Accinni R.², Bartesaghi S.¹, Patrosso C.³, De Leo G.¹, Parolini M.², Cursano C.², Campolo J.², Maiorana A.⁴, Vegezzi G.¹, Parodi O.²

OMOCISTEINA TOTALE PLASMATICA NEL NEONATO: COMPORTAMENTO ANOMALO DURANTE I PRIMI 20 GIORNI DI VITA.

¹Ospedale "Sacra Famiglia" FBF-AFaR, Erba (CO); ²Ist. di Fisiologia Clinica-CNR, Milano; ³Ospedale Niguarda, Milano; ⁴Ospedale S. Giovanni Calibita FBF-AFaR, Roma.

Numerosi lavori hanno evidenziato un aumento dei livelli di omocisteina totale plasmatica (tHcy) nei pazienti affetti da malattie coronariche, cerebrovascolari o da arteriopatie periferiche. Sono scarsi tuttavia i dati sui valori di tHcy dei neonati nei primi giorni di vita. Scopo dello studio è stato di stabilire i valori medi di concentrazione della tHcy in una popolazione di neonati apparentemente sani. La determinazione della tHcy è stata effettuata in 4^a giornata di vita, senza che i neonati venissero sottoposti ad alcun trauma aggiuntivo rispetto ai normali screening neonatali. Questo è stato possibile utilizzando un nuovo micrometodo in HPLC, sensibile e specifico, in grado di analizzare un campione estremamente ridotto di sangue. Il prelievo ed il dosaggio di tHcy è stato ripetuto in 20^a giornata di vita. Il metodo ha mostrato ottima linearità ($r=0.99$), buon recupero (97-102%) e precisione sia intra che inter-analisi (C.V. 1.3-0.82% e 1.94-1.81%, rispettivamente). In 768 neonati la media di tHcy in 4^a giornata di vita è risultata di $4.98 \pm 2.63 \mu\text{M}$. In 469 di questi è stata effettuata una seconda misurazione di tHcy in 20^a giornata di vita ($5.00 \pm 2.74 \mu\text{M}$ e $5.43 \pm 2.72 \mu\text{M}$ in 4^a e 20^a giornata, rispettivamente, $p=0.008$); 11 neonati hanno mostrato un aumento anormale (più di 2 SD rispetto all'aumento medio fra la prima e la seconda determinazione) della tHcy in 20^a giornata; 30 hanno mostrato una riduzione significativa ($>6.64 \mu\text{M}$) e 428 un tracking fisiologico. Inoltre non è stata evidenziata correlazione significativa fra i livelli di tHcy degli etero e degli omozigoti rispetto ai soggetti normali per la mutazione termolabile della metilentetraidrofolato reductasi ($p=0.44$). In conclusione i neonati apparentemente sani mostrano un progressivo e lieve, ma tuttavia significativo, aumento dei valori di tHcy nei primi 20 giorni di vita. La determinazione ripetuta a distanza (20^a giornata di vita) della tHcy permetterebbe un precoce riconoscimento nella popolazione neonatale dei "veri" soggetti iperomocisteinemici.

De Lucia D., De Francesco F., D'Alessio D.#, Goffredi G.§, Talento B.§, Pisano R.§, Pezzella S., Del Giudice V., Marotta R., Maisto G., Lauretano M., Rapacciuolo L., Sorrentino M., Insegnante V., Papa M.L.°, Dente B.*

PROTEINA TAU QUALE MARKER PROGNOSTICO DI MALATTIA DI ALZHEIMER

Istituto di Patologia Generale ed Oncologia, II Università di Napoli; #Unità Cerebrovascolare, Azienda Ospedaliera G.Moscati, Avellino; §Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Oliveto Citra, Salerno; °Laboratorio di Emostasi e Trombosi, Ospedale San Giovanni Bosco, Napoli; *Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale San Paolo, Napoli.

La Diagnosi di malattia di Alzheimer (MA), può essere posta in pazienti con storia clinica di Demenza Progressiva e presenza di placche senili e gomitoli neurofibrillari all'esame autoptico del cervello. Di grande interesse è quindi la necessità di un test diagnostico che permetta in vita di confermare il sospetto clinico di MA. Perciò risulta utile sviluppare un marker biologico che abbia una adeguata sensibilità e specificità per distinguere la MA da altre forme di demenze (vascolari, metaboliche, infettive, disimmuni). Inoltre, l'indicatore biologico dovrebbe aiutare a riconoscere la MA nelle sue fasi più precoci o anche possibilmente prima dell'insorgenza della malattia per permettere l'adozione di decisioni terapeutiche. Infine, i markers biologici potrebbero servire a monitorare i pazienti anche in risposta all'azione di farmaci specifici. Per tale scopo abbiamo misurato i livelli liquorali di tau (CSF-tau) in 20 pazienti con compromissione della memoria e non dementi per misurare le concentrazioni di questa proteina ed eventualmente stabilire la loro eventuale utilità nel diagnosticare la MA negli stadi iniziali. Le concentrazioni di CSF-tau furono determinate mediante un test ELISA standard a sandwich (Innogenetec, Belgium). Nel follow-up (24 mesi), 10 pazienti manifestarono segni progressivi di deficit cognitivi multipli, fino a soddisfare i criteri NINCDS ADRDA per demenza di Alzheimer. Come gruppo di controllo erano scelti 20 soggetti affetti da emorragia sub-aracnoidea e meningite cerebrospinale di natura batterica e/o virale. Nei 10 pazienti con progressivi deficit cognitivi i livelli liquorali di CSF-tau erano significativamente più elevati ($85.5 \pm 35.0 \text{ pg/mL}$) rispetto a quelli dei 10 pazienti che non svilupparono MA nel loro follow-up ($25.7 \pm 15.5 \text{ pg/mL}$, $p < .001$; Mann-Whitney U test) e a quelli dei soggetti di riferimento ($p < .0001$). Nel gruppo controllo, infatti, i valori di CSF-tau erano pari a $15.7 \pm 5.5 \text{ pg/mL}$. I nostri risultati evidenziano una buona sensibilità e specificità della CSF-tau nel liquor di soggetti con segni iniziali di Demenza di Alzheimer. Riteniamo, pertanto, che le concentrazioni liquorali di CSF-tau potrebbero servire per predire l'insorgenza e quindi la progressione della MA.

Papa M.L.*, Capasso F.*, Pedone L.*, Torre S.*, Demurtas F.*, Russo V.*, De Felice E.#, Vecchione G.§, Bossone A.§, Rocino A.*, De Francesco F.§, De Lucia D.§, Margaglione M.§

IL RUOLO DELL'OMOCISTEINA NEI PAZIENTI IN TRATTAMENTO EMODIALITICO

*Laboratorio di Emostasi e Trombosi, Ospedale San Giovanni Bosco, Napoli; §Unità di Aterosclerosi e Trombosi, IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo; #Servizio di Nefrologia ed Emodialisi, Clinica "Nostra Signora di Lourdes", Napoli; §Laboratorio di Emostasi e Trombosi, Istituto di Patologia Generale ed Oncologia, II Università di Napoli; Italy.

Studi epidemiologici hanno evidenziato che l'iperomocisteinemia è un rischio indipendente di aterosclerosi nella circolazione coronarica, cerebrale e periferica. Elevati livelli di omocisteina si riscontrano nell'insufficienza renale. Sebbene i livelli di omocisteina sono correlati positivamente con la creatinina, la causa dell'incremento di omocisteina nell'insufficienza renale cronica ancora non è stata del tutto chiarita. Nel nostro studio abbiamo misurato i livelli plasmatici di omocisteina per valutare l'impatto come nuovo fattore di rischio prematuro di aterosclerosi nei pazienti in trattamento emodialitico cronico (EC).

Abbiamo studiato 74 pazienti uremici in EC (44 M e 30 F, di età media 61 ± 14.3 anni). Cento soggetti sani dello stesso background di origine, di pari sesso ed età rappresentavano il gruppo di controllo.

I livelli di omocisteina totale furono dosati mediante metodica HPLC con elettroforesi capillare.

I livelli di tHcy nei pazienti maschi in EC erano significativamente più elevati rispetto a quelli dei controlli ($54.8 \pm 40 \mu\text{M/L}$ vs. $12.6 \pm 4.3 \mu\text{M/L}$) e nelle pazienti donne comparate rispetto ai controlli ($38 \pm 37 \mu\text{M/L}$ vs. $7.8 \pm 3.2 \mu\text{M/L}$). Livelli elevati di tHcy (> 95th percentile) pari a $19.3 \mu\text{M/L}$ nei soggetti maschi e $13.5 \mu\text{M/L}$ nelle donne furono riscontrati in 38 dei 44 maschi ($X^2=22.2$; $p<.001$) ed in 28 delle 30 femmine ($X^2=14.0$; $p<.001$).

L'iperomocisteinemia riscontrata nel gruppo pazienti non si associa ad un'elevata frequenza per il polimorfismo +/- della MTHFR (16% vs. 14%; $p=ns$).

L'iperomocisteinemia nell'insufficienza renale cronica aumenta il rischio di aterosclerosi nei soggetti in EC. Tutto questo verosimilmente dovrebbe essere correlato al danno vascolare in corso di EC che produce uno stato di ipercoagulabilità con conseguente rischio trombotico.

Agape V., Farina M., Locatelli M., Murone M.

VALUTAZIONE DELL'UTILIZZO DELLA SPETTROMETRIA DI MASSA PER LA DIAGNOSI ED IL MONITORAGGIO DELLA TERAPIA ANTIBIOTICA PER L'INFEZIONE DA *HELICOBACTER PYLORII*

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale San Raffaele, via Olgettina 60, 20132, Milano.

Helicobacter Pylorii è un batterio Gram-negativo che colonizza elettivamente la mucosa gastrica umana, nella quale sopravvive producendo l'enzima ureasi, che idrolizza l'urea gastrica in anidride carbonica ed ammoniaca, aumentando il pH gastrico. E' ritenuto l'agente etiologico della gastrite cronica ed un importante cofattore nell'evoluzione delle patologie peptiche e neoplastiche dello stomaco. L'infezione da *Helicobacter Pylorii* può essere diagnosticata con diversi test: ELISA, CLO test, Cp test, ^{13}C -Urea Breath Test, test istologico (Giemsa), test colturale.

Per questo studio abbiamo utilizzato ^{13}C -Urea Breath Test (^{13}C -UBT). Con lo spettrometro di massa (Breathmat^{PLUS}, Finnigan, sensibilità 98%, specificità 99%) si misura la quantità di $^{13}\text{CO}_2$ emessa con l'espiazione prima e 30 minuti dopo l'assunzione di ^{13}C -Urea. In presenza di infezione da *H.Pylorii* vi sarà un eccesso di $^{13}\text{CO}_2$ nell'espiazione eseguita dopo l'ingestione di ^{13}C -Urea.

Tra i casi analizzati ($n=2251$), sono stati selezionati i pazienti che non avevano eseguito nessun test per la ricerca di *Helicobacter Pylorii* ($n=105$) e tra questi si sono determinati 5 gruppi:

1. pazienti che hanno eseguito un primo (^{13}C -UBT) con risultato positivo, hanno effettuato una terapia antibiotica, ed hanno eseguito un secondo (^{13}C -UBT) con esito negativo ($n=43$).
2. pazienti che hanno eseguito un primo (^{13}C -UBT) con risultato positivo, hanno effettuato una terapia antibiotica, ed hanno eseguito un secondo (^{13}C -UBT) con esito positivo ($n=27$).
3. pazienti che hanno eseguito un primo (^{13}C -UBT) con risultato positivo, hanno effettuato una terapia antibiotica, hanno eseguito un secondo (^{13}C -UBT) con esito negativo ed un terzo (^{13}C -UBT) con esito negativo ($n=13$).
4. pazienti che hanno eseguito un primo (^{13}C -UBT) con risultato positivo, hanno effettuato una terapia antibiotica, hanno eseguito un secondo (^{13}C -UBT) con esito positivo hanno effettuato una seconda terapia antibiotica ed un terzo (^{13}C -UBT) con esito positivo ($n=8$).
5. pazienti che hanno eseguito un primo (^{13}C -UBT) con risultato negativo, ed un secondo (^{13}C -UBT) con esito negativo ($n=14$).

Si può pertanto concludere che l'utilizzo della spettrometria di massa è sufficiente per la determinazione dell'infezione da *Helicobacter Pylorii* e per seguire l'andamento e l'efficacia della terapia antibiotica.

Matteocci A., Dionisi M.G., Palange M., Berchicci G., Maldone O., Scappucci W., Cavanna R.

SINDROMI PARANEOPLASTICHE: DIAGNOSI IMMUNOEMATOLOGICA DELLE ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI

Centro Nazionale Trasfusione Sangue – CRI, Via B. Ramazzini 15, 00151 Roma

Le anemie emolitiche autoimmuni (AEA) si annoverano tra le sindromi paraneoplastiche in quanto possono rappresentare la manifestazione di esordio o la patologia d'accompagnamento di un processo neoplastico. La diagnosi immunoematologica delle AEA ed il loro inquadramento nosografico si basano sulle caratteristiche biologiche degli anticorpi (Ab) antieritrocitari (tipo di Ig, optimum termico/AEA da Ab caldi, freddi, misti). Da gennaio 1997 ad aprile 2000 sono stati da noi esaminati 75 casi di AEA di cui 42 (56%) associate ad emopatie maligne (36 casi) e a tumori solidi (6 casi). Il nostro protocollo di studio su tali pazienti ha previsto: gruppo ABO, fenotipo Rh e Kell determinati in automatico (Groupmatic 2000 - Kontron) o in provetta, a secondo del tipo di AEA (per le AEA da Ab freddi studio in provetta a 37°C); test di Coombs diretto (TCD) con sieri polispecifici anti-IgG + C3d e monospecifici (anti-IgG, IgM, IgA, C3, C4, C3d) e nei TCD positivi con anti-IgG eseguito eluato con etere (metodica di Rubin); ricerca ed identificazione anticorpale (eluati compresi) eseguiti in fase liquida (Menarini-Meridian) ed in fase solida (Capture Ready Screen Pooled e ID-Immucor), ricerca e titolo delle crioagglutinine nelle AEA da Ab freddi. I risultati ottenuti sono stati: 22 pazienti (52%) con diagnosi di AEA da Ab caldi con TCD positivo di tipo IgG in 13 casi (59%), IgG + C3d in 4 (18%), C3d in 5 (23%); dagli eluati sono stati identificati 17 Ab panagglutinanti e nel siero 14 Ab (11 panagglutinanti, 2 anti-E, 1 anti-Fya). 20 pazienti (48%) hanno mostrato AEA da Ab freddi con C3d+ (TCD), presenza di crioagglutinine (titolo >1:128) e di 2 alloanticorpi (anti-Kell, anti-S). Le AEA da Ab caldi risultavano associate a: malattie linfoproliferative in 14 casi (64%), mieloproliferative in 4 (18%), tumori solidi in 4 (18%); quelle da Ab freddi a: malattie linfoproliferative in 12 casi (60%), sindromi mielodisplastiche in 2 (10%), gammopatie monoclonali in 4 (20%), tumori solidi in 2 (10%). Come riportato dai dati della letteratura, la negativizzazione del quadro immunoematologico delle AEA ha seguito il decorso clinico e terapeutico della neoplasia di base; le recidive della malattia autoimmune (in 6 casi) si sono presentate in relazione alla ricaduta o alla progressione del processo neoplastico.

Ciaccio M.¹, Corsello G.², Piccione M.², Giuffrè L.², D'Ancona M.¹, Tabacchi G.³, Bono A.¹

STATUS AMINOACIDICO PLASMATICO IN PAZIENTI AFFETTI DA SINDROME DI DOWN PRIMA E DOPO 1 ANNO DI TERAPIA NUTRIZIONALE SUPPLETIVA

Istituti di ¹Biochimica, ²Materno Infantile e ³Fisiologia e Nutrizione Umana – Università degli Studi di Palermo

Introduzione

Scopo del presente studio è stato la valutazione del profilo plasmatico aminoacidico in soggetti affetti da sindrome di Down prima e dopo trattamento sostitutivo con aminoacidi e vitamine B₆ e B₁₂. Tale somministrazione supplementiva in questi soggetti è basata sull'anomalo quadro aminoacidico basale plasmatico che si evidenzia nei portatori di questa cromosomopatia. Infatti, il pattern aminoacidico plasmatico basale ha permesso di rilevare un alterato rapporto Metionina / Cisteina con Omocisteina diminuita, OH-Prolina aumentata, Serina diminuita e Lisina aumentata (1).

Pazienti e Metodi

Lo studio è stato condotto su n. 65 soggetti Down (età 0-12 anni) comparati a n. 50 soggetti normali della stessa età.

L'analisi è stata compiuta mediante cromatografia a scambio ionico con analizzatore di aminoacidi Beckman 6300 che utilizza la ninidrina come rilevatore e che prevede l'utilizzo di una colonna contenente Litio. L'analisi dei dati è stata effettuata utilizzando uno integratore Shimadzu C-R3A.

Il trattamento nutrizionale supplementivo è consistito nella somministrazione di dosi pro/Kg/die di Istinina Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Cisteina, Fenilalanina, Tirosina, Treonina, Triptofano, valina, Arginina, Glicina, e di Vitamine B₆ e B₁₂.

Risultati

Il follow-up biochimico a 3, 6 (1) e 12 mesi dall'inizio del trattamento nutrizionale supplementivo ha messo in evidenza un riequilibrio degli aminoacidi alterati.

Conclusioni

Il miglioramento delle alterazioni biochimiche prese in esame dopo supporto nutrizionale con aminoacidi e vitamine, in totale assenza di effetti collaterali indesiderati, rappresenta la tappa iniziale fondamentale perché possano esserci miglioramenti delle alterazioni morfologiche e cliniche presenti nei soggetti con trisomia 21 che potrebbero manifestarsi in tempi anche molto lunghi.

Bibliografia

1) Ciaccio M. e Bono A.: Valutazioni biochimiche e prospettive di trattamento nel soggetto con sindrome di Down, in: Ciaccio M. e Corsello G., La sindrome di Down tra ricerca salute e territorio, Palermo, 1999.

G087

Peruzzini A., Pegoretti G., Pederzoli L., Sicà A.

PUO'IL DOSAGGIO DELL'OMOCISTEINEMIA COSTITUIRE UN TEST DI VALUTAZIONE DELL'INFARTO MIOCARDICO ACUTO?

Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile S.Chiera, Trento

Il dosaggio dell'Omocisteina (HCY), amminoacido contenente tiolo prodotto per demetilazione cellulare della Metionina, qualora riveli una condizione di aumento plasmatico, si presenta molto utile nella valutazione di alcune importanti malattie fra cui quella cardiovascolare e tromboembolica.

Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare come il tasso di omocisteinemia si è relazionato con l'IMA accertato in sette pazienti e con il suo grado di diversificazione. Lo stesso dosaggio è stato esteso anche ad altri pazienti (n = 12), ricoverati per sospetto infarto, che presentavano però solo tipiche manifestazioni cliniche relative ad affezioni cardiovascolari quali: angina (3), cardiopatia ischemica (5), cardiopatia ipertensiva (3), scompenso cardiaco (1) e il cui valore medio di HCY risultava di $17,2 \pm 4,9 \mu\text{mol/l}$. E' stato anche valutato, per un opportuno confronto, un gruppo di controllo (n = 12) costituito da soggetti apparentemente sani, di età variabile fra i 19 e i 54 anni, i cui risultati relativi ai dosaggi di HCY non superavano la concentrazione di $9,9 \mu\text{mol/l}$, con un valore medio di $7,4 \pm 1,7 \mu\text{mol/l}$.

Nell'osservazione vengono riportati i dati medi relativi ai dosaggi di tutti i prelievi effettuati su ciascun paziente (fino a 12) nel corso delle 60 ore successive all'evento infartuale. I CV% relativi alle variazioni intraindividuali oscillavano tra il 12,4 e il 21,4% si presentano notevolmente differenziati sia dal gruppo di controllo (CV < del 5%), che dal gruppo di pazienti cardiopatici non infartuati (CV < del 10%). Appare pertanto possibile, attraverso dosaggi multipli, discriminare tra malattia cardiovascolare, anche grave, e l'IMA. E' possibile supporre che le maggiori variazioni di Omocisteina nel plasma dei pazienti affetti da IMA siano da imputare non solo alle note ragioni metaboliche, responsabili del generico rischio cardiovascolare e tromboembolico (*), ma in una certa misura anche da una sua liberazione discontinua a seguito del danno cellulare miocardico e proporzionato allo stesso, anche in considerazione che non tutti i pazienti presentavano valori medi di HCY al di sopra della norma.

(* Refsum H, Ueland PM, Nyegard O, et al. Homocysteine and Cardiovascular Disease. Ann Rev Med 1998;49: 31-62.

G088

Melzi d'Eril G.V., Merlini G.¹, Finazzi S.², Nauti A.², Calegari M.²

RILASCIO DI TROPONINA I E CK-MBm NELLA VALUTAZIONE DEL GRADO DI SOFFERENZA MIOCARDICA CON L'UTILIZZO DI DIFFERENTI SOLUZIONI CARDIOPLEGICHE

Dip. di Sc. Biomed. Sperim. e Clin., Università degli Studi dell'Insubria, Varese; ¹Dip. di Biochimica Università degli Studi di Pavia; ²Laboratorio Analisi, A.O. Ospedale di Circolo, Varese.

Le soluzioni cardioplegiche sono utilizzate negli interventi di by-pass aorto-coronarico, in circolazione extracorporea (CEC), per ottenere una protezione efficace del miocardio durante l'arresto ischemico.

Lo scopo dello studio è quello di confrontare mediante il dosaggio della troponina I (c-TnI) e del CK-MBm il grado di lesione miocardica causata dall'intervento eseguito con le seguenti soluzioni: ipotermica cristalloide intermittente (St.Thomas); ipotermica ematica intermittente (Buckberg); normotermica ematica intermittente (Chieti).

Sono stati reclutati 21 pazienti con indicazione elettiva ad intervento di rivascolarizzazione miocardica mediante by-pass aorto-coronarico negativi all'anamnesi per insufficienza renale cronica, pregresso infarto miocardico (IMA ≤ 2 mesi), chirurgia coronarica, valvolare e PTCA. Al gruppo St.Thomas appartengono 10 pazienti, al gruppo Buckberg 4 pazienti ed al gruppo Chieti 7 pazienti.

I campioni di sangue sono stati raccolti all'atto del declampaggio dell'aorta (t = 0) e dopo 4, 12, 24, 48 ore. Il siero ottenuto dopo centrifugazione è stato congelato a -20°C entro 1 ora dal prelievo ed analizzato in un'unica sessione mediante test immunoenzimatici su autoanalizzatore Dimension® (Dade-Behring). L'analisi statistica è stata condotta mediante confronto tra mediane secondo Wilcoxon (significatività per $p < 0.05$).

I valori basali della c-TnI di tutti i pazienti sono inferiori al cut-off indicativo di lesione miocardica (1.5 ng/mL), mentre nel 52.4% dei casi il CK-MBm lo ha superato (6.0 ng/mL). Le concentrazioni del gruppo St.Thomas hanno un valore medio di c-TnI pari a 5.2 ng/mL e di CK-MBm pari a 29.5 ng/mL; quelle del gruppo Buckberg hanno valori rispettivamente di 6.1 ng/mL e di 22.1 ng/mL, mentre quelle del gruppo Chieti di 2.4 ng/mL e di 13.3 ng/mL.

In base ai dati ottenuti il CK-MBm non mette in evidenza alcuna differenza statisticamente significativa tra i protocolli Buckberg e St.Thomas ($p = 0.5$) e i protocolli Buckberg e Chieti ($p = 0.11$); dimostra invece una minore lesione miocardica nel protocollo Chieti nei confronti del protocollo St.Thomas ($p = 0.02$). La c-TnI, dotata di maggiore cardiospecificità, sottolinea differenze statisticamente significative tra il protocollo Chieti ed entrambi gli altri due ($p < 0.02$). Pertanto il protocollo Chieti si può considerare maggiormente cardioprotettivo rispetto agli altri due metodi.

Melzi d'Eril G.V., Maggiore M.¹, Finazzi S.¹, Salvatore S.², Tosi A.², Barassi A.¹

CONFRONTO TRA ANTICORPI ANTIGLIADINA, ANTIENDOMISIO ED ANTITRANSGLUTAMINASI TISSUTALE NELLA DIAGNOSI DI MALATTIA CELIACA IN DIFFERENTI FASCE DI ETÀ

Dip. di Sc. Biomed. Sperim. e Clin., Università degli Studi dell'Insubria, Varese; ¹Laboratorio Analisi, A.O. Ospedale di Circolo, Varese; ²Clinica Pediatrica, Università degli Studi dell'Insubria, Varese.

Il morbo celiaco è un'enteropatia cronica immunomediata glutine-dipendente. Il gold standard per la diagnosi di celiachia è rappresentato dal rilievo biotico digiunale di atrofia dei villi con iperplasia delle cripte ed infiltrato linfoplasmacellulare. Il dosaggio degli anticorpi antigliadina (AGA IgA, AGA IgG), antiendomiso (EMA) ed antitransglutaminasi tissutale (t-TG IgA) costituisce il metodo più importante di screening e di follow-up per la malattia celiaca.

Lo scopo dello studio è quello di confrontare la sensibilità di AGA (IgA e IgG), EMA e t-TG IgA nella diagnosi di celiachia nell'ambito pediatrico.

Sono stati studiati 27 bambini (13 maschi e 14 femmine) affetti da malattia celiaca in fase florida diagnosticata mediante biopsia intestinale (criteri ESPGAN). Tali pazienti sono stati suddivisi in due gruppi: 12 con meno di 2 anni (*gruppo 1*; range: 8 mesi - 21 mesi) e 15 con più di 2 anni (*gruppo 2*; range: 29 mesi - 16 anni). La suddivisione trova giustificazione sulla base della sintomatologia: tipica con diarrea, malassorbimento e vomito al di sotto dei due anni ed atipica al di sopra di tale età. Nei campioni di siero, raccolti e congelati entro 1 ora a -20° C, sono stati dosati AGA (IgA e IgG) e t-TG IgA con metodo immunoenzimatico (Eurospital), EMA con immunofluorescenza indiretta su terzo inferiore di esofago di scimmia (Antiendomysium®, Eurospital). Infine, è stata verificata l'assenza di deficit di IgA.

Le t-TG IgA del *gruppo 2* sono risultate tutte positive, mentre nel *gruppo 1* in tre pazienti sono risultate negative; di questi, due presentavano EMA, AGA IgA, AGA IgG positivi e biopsia atrofica di grado III e uno presentava EMA, AGA IgG negativi e biopsia di grado II.

	AGA IgA	AGA IgG	EMA	tTG-IgA
Sensibilità gruppo 1	91.7%	91.7%	91.7%	75%
Sensibilità gruppo 2	86.7%	93.3%	100%	100%

Nonostante il piccolo numero di casi si può ritenere che la differenza di sensibilità degli EMA, e ancor più quella delle t-TG IgA, sia influenzata dall'età dei pazienti al momento della diagnosi. E' ipotizzabile che la diminuzione della sensibilità (91.7% contro 100% per gli EMA e 75% contro 100% per le t-TG IgA) nel *gruppo 1* dipenda dalla minore esposizione al glutine del bambino.

Poggi N.°, Albonico G.°, Falcone C.°, Rizzo V.°

PLASMA LEVELS OF TOTAL HOMOCYSTEINE, CYSTEINE AND CYSTEINYLGLYCINE IN PATIENTS WITH DILATED CARDIOMIOPATHY

°Dipartimento di Biochimica, Sez. Analisi Chimico-Cliniche; *Divisione di Cardiologia, IRCCS Policlinico San Matteo, Università degli Studi di Pavia

A number of experimental and clinical studies have clearly demonstrated a correlation between a mild increases of plasma homocysteine (Hcy) and several cardiovascular diseases; furthermore, alterations in the redox status of Hcy rapidly affects and is related to the redox status of other plasma aminosulphols.

In this study we determined fasting plasma levels of total Hcy, cysteine (Cys) and cysteinylglycine (CysGly) in 44 patients affected with dilated cardiomyopathy with mild, moderate or severe cardiac impairment, evaluated according to NYHA functional classes. Plasma levels of Hcy (mean value±SD) (24.9±11.9 µmol/l), Cys (342±72.4 µmol/l), and CysGly (98.04±82.2 µmol/l) were significantly higher (p<0.001 for all groups) in dilated cardiomyopathy patients than in 36 healthy age- and sex-matched controls (7.5±2.8 µmol/l, 118.6±31.2 µmol/l, and 17.8±7.4 µmol/l for Hcy, Cys and CysGly, respectively) (1)

Hcy increase did not correlate with NYHA stage; however, linear regression analysis showed a significant correlation between progression of cardiac impairment and both Cys and CysGly concentrations (r=0.6, p<.0003 and r=0.81, p<.0005, respectively).

In patients with cardiovascular diseases, elevated plasma levels of Hcy and especially of Cys and CysGly represent a major mechanism of insult to myocardial structures. The extracellular formation of mixed disulphides between these substances and proteins containing free sulphhydryl groups, with a consequent alteration in protein conformation and enzyme activity, leads to an impairment of myocardial cell function. Furthermore, a decreased metabolic bioavailability does not allow the plasma excretion of both Hcy and other aminosulphols.

Thus, elevated plasma Hcy levels may be considered as a direct consequence of the cardiovascular disease itself and/or of some of the complicating conditions related to it.

1) Rizzo V., Montalbetti L., Valli M., Bosoni T., Scoglio E., Moratti R.

J. Chromat. B 706 (1998) 209-215

G091

Brusca I., Li Vigni P., Sucato R., La Chiusa S.M.

GLI ANTI SS-A/Ro IN IMMUNOFLUORESCENZA INDIRETTA SU CELLULE HEP II: CONFRONTO TRA DIVERSI SUBSTRATI

Servizio di Patologia Clinica, Ospedale "Buccheri La Ferla" F.B.F., Palermo

Introduzione: Gli anti SS-A/Ro sono presenti nella sindrome di Sjogren, nel LES nella Sclerodermia e nella gravida si associano a blocco cardiaco congenito del neonato. In immunofluorescenza indiretta su cellule HEP II si presentano con un pattern di tipo granulare fine ma, in dipendenza delle caratteristiche di produzione, possono presentare una fluorescenza citoplasmatica o dare una falsa negatività del test. Negli anni si cercato di ovviare con l'utilizzo di substrati cellulari arricchiti in SS-A/Ro o variando i metodi di fissazione dei vetrini. Nel nostro studio abbiamo voluto saggiare nella rilevazione degli anti SS-A/Ro tre kit di HEP II.

Materiali e metodi: 16 sieri con specificità note sono stati saggiati contemporaneamente su vetrini di HEP II delle ditte INOVA (San Diego, California, USA) ed EUROIMMUN (Lubeck, GmbH) entrambi preparati in maniera tradizionale, e ALPHADIA (Wavre, Belgium) fissati in acetone. 6 dei 16 sieri presentavano anticorpi diretti solamente contro la frazione da 52 kD dell'SS-a/Ro, 1 anticorpi diretti solo contro la frazione da 60 kD, 6 anticorpi diretti contro entrambe le frazioni ed infine 3 con anticorpi diretti contro entrambe le frazioni e contro l'SS-B. Sono state effettuate diluizioni scalari a partire da 1:40 fino a 1:1280 dei sieri. La lettura dei vetrini è stata effettuata da tre differenti esaminatori.

Risultati: Non ci sono state letture discordanti tra i tre esaminatori. Non si sono riscontrate differenze apprezzabili nei sieri con anti SSA/Ro 52 kD; le HEP II ALPHADIA presentavano una granulosità della fluorescenza leggermente più grossolana. Nessuna differenza si evidenziava nei sieri che presentavano anti SS-A ed anti SS-B. Nei 6 sieri che presentavano anticorpi diretti contro entrambe le frazioni, 2 sieri avevano un titolo superiore di una diluizione nei vetrini ALPHADIA; gli altri 4 sieri presentavano lo stesso titolo, con il differente aspetto della fluorescenza già descritto. L'unico siero con anti 60 kD, aveva anch'esso una differenza di titolo di una diluizione nei vetrini ALPHADIA.

Conclusioni: La comparazione ha evidenziato una differenza a favore dei vetrini ALPHADIA solamente quando sono presenti anticorpi diretti contro la frazione da 60 kD.

G092

Angelini G., Rulli A., Mancinelli R., Romano C., Odorisio M., Nubile G.

VITROS 250-BECKMAN CX5 CHIMICA SECCA E CHIMICA LIQUIDA: A CONFRONTO 8 SUBSTRATI

Laboratorio Analisi, SS Annunziata, Via dei Vestini, Chieti 66013

Il lavoro mette a confronto due sistemi analitici che per filosofia e metodologia sono sostanzialmente differenti, Vitros 250 che utilizza la chimica secca e Beckman CX5 la chimica liquida, studiando otto analiti: Azoto ureico, Creatinina, Glucosio, Proteine Totali, Colesterolo Totale, Trigliceridi, Calcio e Fosforo. La statistica inferenziale, test di Student ed il test di Wilcoxon (Tab.1), dimostra che per il 50% degli analiti non c'è differenza significativa e che la correlazione R è significativa per tutti gli analiti escluso il Calcio. Tabella 1 Valori del test di Student (t) e del test di Wilcoxon (z).

	N	Valore di z	Valore di t	P
Azoto ureico	26	- 1.77		0.075
Glicemia	26	- 0.59		0.553
Creatinina	16	- 2.79		0.0052
Trigliceridi	21	- 1.84		0.064
Colest. T.	14		- 5.91	0.000
Proteine T.	23		- 0.34	0.734
Calcio	21		- 3.63	0.002
Fosforo	9		- 4.54	0.002

- 1) Snedecor GW, Cochran WG, Statistical methods, 7th ed. Ames: The Iowa State University Press, 1980: 507pp.
- 2) Philippe Marquis 1999 Biologiste des hopitalu Metz France Internet <http://perso.easynet.fr/~philimar/>

Bonetti G., Bonora R., Pagani F., Panteghini M.

EVALUATION OF AN ELISA TO QUANTITATE HEART FATTY ACID-BINDING PROTEIN IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche 1, Azienda Ospedaliera 'Spedali Civili', Brescia, Italy

Cytoplasmic heart-type fatty acid-binding protein (hFABP) has recently gained much attention as an early marker of myocardial infarction (MI). To allow an easier determination of hFABP in serum and permit its introduction in routine clinical practice, a sandwich-type ELISA was developed by Dainippon (MARKIT-M H-FABP) which uses a combination of two distinct monoclonal antibodies directed against human hFABP purified from heart muscle. We report here the evaluation of its analytical and clinical performance. For comparison, hFABP concentrations were also determined by using an earlier established ELISA and recombinant human hFABP as standard. Total performance time of the assay was <90 min and the assay range 0-250 $\mu\text{g/L}$. The detection limit, defined as 3 SD above the mean absorbance ($n=20$) of the zero calibrator, was 1.5 $\mu\text{g/L}$. Two serum pools with different concentrations of hFABP (11.0 and 38.5 $\mu\text{g/L}$, respectively) were used to assess imprecision. The intra-assay CV ($n=20$) was 2.2-3.7% and the between-run CV ($n=5$) was 3.9-3.4%. Hemoglobin (4 g/L) and triglycerides (900 mg/dL) did not interfere with the assay. For comparison of the MARKIT-M assay with the previously established ELISA, 75 serum samples were analyzed on the same day by both methods. By linear regression analysis, the slope and intercept ($\pm\text{SE}$) were 0.90 (± 0.03) and 2.95 (± 0.79) $\mu\text{g/L}$, respectively, with $r=0.970$ (S_{yx} 5.3 $\mu\text{g/L}$). For the determination of the reference values of hFABP, sera from 30 apparently healthy individuals (18 males) were used. The mean ($\pm\text{SD}$) concentration was 3.4 (± 1.2) $\mu\text{g/L}$, with an upper reference limit of 6.0 $\mu\text{g/L}$. No sex-related difference was showed ($P=0.55$). In a clinical study, admission serum hFABP was evaluated vs myoglobin (Myo, Dade Opus), the classical early cardiac marker, in patients with suspected early MI. 41 consecutive patients with onset of symptoms ≤ 5 h (mean \pm SD, 2.6 ± 1.2 h) were included. According to WHO criteria, 34 patients had MI and 7 patients had no MI. hFABP showed the same diagnostic efficiency than Myo [area ($\pm\text{SE}$) under ROC curve, 0.798 (± 0.079) for hFABP and 0.771 (± 0.085) for Myo, respectively; $P=0.55$]. The sensitivity and the specificity of hFABP for the early detection of MI using the best discriminant value (16.0 $\mu\text{g/L}$) were 59% [95% confidence interval (CI): 41-75%] and 86% (42-98%), respectively. Those of Myo (discriminant value, 52 $\mu\text{g/L}$) were 65% (47-80%) and 100% (59-100%), respectively.

Meneghetti F., Bernardi D., Ujka F.

B-CROSSLAPS SIERICI E URINARI: VARIABILITÀ BIOLOGICA A CONFRONTO

Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera di Padova, Italia

Sono attualmente disponibili metodi di dosaggio del β -octapeptide presente nella porzione C-terminale del collagene di tipo I, sia nel siero (s-CTx ECLIA, Elecsys) che nelle urine (u-CTx ELISA Cis Diagnostic). La possibile utilizzazione di questi marcatori nella valutazione del ricambio osseo richiede la conoscenza della variabilità biologica e delle informazioni che da essa derivano. Il nostro lavoro considera 11 soggetti apparentemente sani (6 femmine e 5 maschi; di età compresa tra 27 e 47 anni), appartenenti al personale del nostro laboratorio. I criteri di inclusione comprendevano: peso entro il 20% del peso corporeo ideale, assenza di terapia farmacologica, consumo di alcool e fumo non significativo, per le donne cicli mestruali regolari e non assunzione di contraccettivi orali. Per tutti i soggetti, inoltre, dieta, attività fisica e peso senza variazioni per circa un mese. Da ciascun soggetto è stato ottenuto un campione di urine del mattino e nello stesso giorno tra le ore 8 e le 9 è stato prelevato un campione di siero, una volta alla settimana per 4 settimane. I due metodi studiati presentano una correlazione significativa ($r=0,66$; $p=0,0001$). Entrambi i metodi raggiungono la prestazione analitica desiderabile ($CV_A < 1/2 CV_{\text{Intrasoggetto}}$): 0,07 < 1/2 di 0,19 (u-CTx) e 0,06 < 1/2 di 0,25 (s-CTx). Il valore dell'Indice di Eterogeneità (0,23 per u-CTx; 0,31 per s-CTx) non risulta significativo ($< 1,71$ corrispondente a $1+2\text{SD}$), pertanto i valori delle varianze intrasoggetto possono essere utilizzati nel calcolo della "differenza critica" che risulta essere 54% e 71% rispettivamente per u-CTx e s-CTx. L'Indice di Individualità, 0,5 e 0,8 per u-CTx e s-CTx rispettivamente, dimostra una scarsa utilità dell'intervallo di riferimento soprattutto per u-CTx. I risultati ottenuti suggeriscono che la misura delle concentrazioni della stessa molecola nei due liquidi biologici considerati presenta variabilità biologiche diverse, superiore per s-CTx. La maggiore variabilità dell's-CTx potrebbe dipendere dall'orario del prelievo (tra le 8 e le 9 del mattino) non corrispondente, secondo un recente lavoro al periodo di minima variabilità intraindividuale (Wichers M. et al. Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. Clin Chem 1999; 45:1859-60).

Stefini F., Bonetti G., Pagani F., Panteghini M.

EVALUATION OF A FULLY AUTOMATED ASSAY TO MEASURE C-TELOPEPTIDE OF TYPE I COLLAGEN IN SERUM

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche 1, Azienda Ospedaliera 'Spedali Civili', Brescia, Italy

The measurement of degradation products of the C-telopeptide of type I collagen in urine has proved to be an index of the bone resorption. However, the urine samples raise some critical questions with respect to practicability and routine use. The large within-day variation in volume of urine requires a calculation in relation to creatinine concentration. In addition, the high intraindividual biological variation of the urinary excretion of these peptides may limit their clinical use. Thus, the analysis of the collagen-derived resorption markers in serum can provide greater diagnostic advantages compared with urine assays: biological variation is likely to be lower and the need for creatinine correction is removed. In this field, Roche Diagnostics recently developed on Elecsys® analyzer the β -CrossLaps™ assay for measurement of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptide in serum, using two specific monoclonal antibodies against the amino acid sequence of Glu-Lys-Ala-His- β Asp-Gly-Gly-Arg, where the aspartic acid residue is β -isomerized (s- β CTX). The assay uses the established technology of ruthenium chelate electrochemiluminescence within a conventional sandwich immunoassay format, requiring low serum volume (50 μ L) and short analytical turnaround time (18 min). Here we present data on technical performance of this assay obtained in our laboratory as a part of a premarket world-wide multicenter evaluation. The detection limit was 0.03 μ g/L and linearity in the assay dynamic range was good ($r=0.9992$). Examination of the three-level kit control and of two serum pools with normal and high s- β CTX concentrations gave the following interassay CVs ($n=11$): 6.0% (0.12 μ g/L), 3.6% (0.84 μ g/L), 3.9% (3.25 μ g/L), 3.6% (0.36 μ g/L), and 2.6% (1.31 μ g/L), respectively. A comparison was made with Osteometer serum CrossLaps ELISA resulting in a very good correlation ($r=0.983$, $n=89$). Serum/plasma sample pairs were collected from 13 donors and analyzed to observe possible interference by anticoagulants. Serum and EDTA can be used interchangeably, whereas β CTX values for heparinized samples averaged -7.9% (95% confidence interval: -11.9/-3.9) lower than those in serum samples ($P<0.01$). s- β CTX concentrations in 33 healthy premenopausal women averaged 0.31 μ g/L (95% central range: 0.12-0.62) and 0.37 μ g/L (0.11-0.63) in 25 apparently healthy men, with no sex-related difference ($P=0.16$).

Pagani F., Stefini F., Bonetti G., Panteghini M.

EVALUATION OF A RAPID, QUANTITATIVE POINT-OF-CARE ASSAY SYSTEM FOR THE MEASUREMENT OF BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE IN WHOLE BLOOD

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche 1, Azienda Ospedaliera 'Spedali Civili', Brescia, Italy

Brain natriuretic peptide (BNP) is a 32-amino acid peptide predominantly secreted by myocardial ventricles in case of heart failure, which has potent vasorelaxant, diuretic, and natriuretic actions. During the past decade, the plasma BNP measurement has been proposed: 1. to specifically identify left ventricular dysfunction; 2. to assist in prognosis of chronic heart failure; 3. to identify left ventricular remodeling after acute myocardial infarction; and 4. to monitor the effect of some therapeutic regimens (angiotensin converting enzyme inhibitors). However, commercially available radioimmunoassays are lengthy and cumbersome, requiring extraction steps and/or overnight incubation. Recently, Biosite Diagnostics developed the first rapid (~20 min) method for measuring BNP using EDTA whole blood or plasma on the Triage® Meter, a portable fluorometer. The blood sample (250 μ L) is applied to a wafer-shaped test device, that contains all the reagents necessary for the BNP immunoassay in addition to two internal positive controls. The cartridge is then inserted into the meter that contains the hardware for fluorescence detection of the immunoassay reaction as well as software enabling quantification. Calibration of the system is accomplished electronically by the use of a lot-specific code chip. The measurable range of the assay is from 5 pg/mL to 1300 pg/mL. Between-run imprecision was determined by testing 10 times two human plasma with normal and high BNP concentrations. The following interassay CVs were obtained: 10.2% (30 pg/mL) and 11.9% (773 pg/mL), respectively. Blood samples were obtained from 28 fasting, apparently healthy individuals (14 women and 14 men, aged 45-70 years) and tested using the Triage BNP assay. BNP concentrations averaged 7 pg/mL (95% central range: 5-48) in women and 5 pg/mL (5-13) in men, with significantly higher values in the female subjects ($P=0.024$). In conclusion, the Triage BNP assay system offers the first real possibility for an easy and rapid measurement of plasma BNP in the routine clinical practice. In our hospital setting, further studies are now scheduled to evaluate the possible use of this marker, measured 72-96 h after symptom onset, as an independent predictor of outlook in patients admitted with acute myocardial infarction.

G097

Bruccoleri F., Vasselli C., Paris D., Pastina D., Dambruoso A., Abbate L.

CONFRONTO DI SISTEMI PER DOSAGGIO TROPONINE

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, "S. Pertini", ASL RM/B, Roma

Scopi: Individuare un sistema di determinazione Marcatori cardiaci (e altri eventuali test Immunoenzimatici eseguibili in Sez. Emergenza) valido per le esigenze del Lab. Analisi "S.Pertini"

Localizzazioni: Lab. Analisi "S.Pertini Roma. Campioni di pazienti maschi e femmine selezionati tra le emergenze con richieste di esami "Marcatori IMA". Dic.99 - Gen.00.
Materiali e metodi: Sistemi e reagenti dedicati di Opus, Immulite, Elecsys, Immuno-1, Centaur. Campioni (N=60) congelati con esiti quantitativi e non (<) di Troponina ottenuti con il sistema in uso (OPUS).

Risultati: Riportiamo nell'ordine di cui sopra le Medie (27.3, 39.7, 2.1, 26.5, 33.0 ng/mL), DS (84, 113, 3.48, 39.2, 77.5). Considerando a parte Elecsys (dosa TNT) il test t per le medie dei sistemi che dosano TNI riporta le minori probabilità di coincidenza dati per le coppie Immulite/Immuno-1 (p = 0.09) seguita da Opus/Immuno-1 (p = 0.21). Considerando i Val. rif. proposti da ciascun sistema, *nessun positivo* di Opus è risultato negativo nei confronti di altri. Da 3 a 5 *negativi Opus* sono risultati positivi con altri sistemi

Conclusioni: E' noto (vedi programmi VEQ) che nel campo dei marcatori IMA si debbono migliorare la standardizzazione dei metodi ed il trasferimento dell'accuratezza ai calibratori. I nostri dati mostrano che anche con sistemi che determinano marcatori identici si hanno differenze statisticamente significative.

Bibliografia:

1. Antman EM, et all. Engl. J. Med. 1996; 335: 1342-9
- Kampmann M et all. Clin. Chem. 1997 ; 17-22

G098

Bruccoleri F., Paris D., Pastina D., Virgili R., Scarcella M.F., Marinucci S.

DIIDROTESTOSTERONE (DHT): VALUTAZIONE DI UN METODO ELISA (SENZA ESTRAZIONE)

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, "S. Pertini", ASL RM/B, Roma

Scopi: Verificare la validità di un metodo di determinazione senza estrazione del Diidrotestosterone (DHT) che promette accuratezza e precisione accettabili per il nostro Laboratorio.

Localizzazioni: Lab.analisi S.Pertini, Dic.99-Feb.00. Pazienti maschi e femmine di età compresa tra 15 e 75 anni con richiesta di DHT.

Materiali e metodi: Sieri congelati (-20°C) di 60 pazienti. Come riferimento abbiamo usato Kit **RIA Active DHT** della ditta Diagnostic Systems Laboratories con estrazione in Esano 98% (della ditta FARVE Cod. ESAE) -Etanolo 2% (Carlo Erba cod. 414608). Kit in valutazione **ELISA 5 α DHT** della ditta DRG diagnostics.

Risultati: La statistica ha fornito i parametri di seguito elencati. Metodo Estrazione/RIA Pendenza (Y/X) 0.79, Intercetta 236 Sensibilità 2.2 (dichiarata 4) CV% Intra 15 (dichiarato 6.2) CV% Inter 21 (dichiarato 8.5). Metodo Diretto/Elisa: Pendenza (X/Y) 0.82, Intercetta (X/Y) - 109.9. Sensibilità 6.2 (dichiarato 6) CV% Intra 14 (dichiarato 11.2) CV% Inter 25 (dichiarato 12). Correlazione di 0.80 ed una p per il test t pari a 0.002.

Conclusioni: L'intercetta di - 109 per metodo ELISA indica sottostima rispetto al metodo RIA. Ciò unitamente alla marcata differenza dei Valori rif. proposti (Maschi: RIA 36-573, ELISA 250-990) fa sospettare la probabile interferenza di altri steroidi. La disaggregazione dei dati per sesso conferma tale tendenza. Nel sesso femminile ciò non si verifica a meno della intercetta sopra evidenziata..

Bibliografia:

- 1) Burtis CA, Ashwood ER: Tietz Textbook of Cl.chem. 2nd edition Philadelphia 1994, 1821
- 2) Brooks RV : in Biochem. of steroid 2nd edition Oxford 1984, 565

G099

Bonaguri C., Gnocchi C., Monica C.

ENZYME-IMMUNOASSAY (ELISA) IN AUTOIMMUNE DISEASES: SETTING-UP OF A FULLY AUTOMATED ASSAY SYSTEM

1° Lab. Analisi Ematochimiche Az. Osp. Parma

In the last years the laboratory investigation of autoimmune diseases is progressing steadily and, at the present, beside indirect immunofluorescence technique (IFI) new very sensible and rather standardised autoantibodies detection assays are required, like enzyme immunoassay (ELISA) and immunoblotting. The ELISA assay advantages are: objective evaluation, easy performance, high sensibility, possible autoantibodies quantitative detection. On the other hand the ELISA assay standardisation is quite difficult. In the October of 1997 we acquire a fully automated assay system for microplate ELISA (TECAN Minilyser) using the SCIMEDX products for the following autoantibodies detection: anti-ENA, anti-Myeloperoxidase, anti-Proteinase 3, anti-Cardiolipin, anti-Gliadin. The instrument TECAN Minilyser results from integration of three different devices: robotic sample processor, reader and washer. The whole analytical process is carried out automatically. All through the working, sample input and machine start up are guided through a Windows interface. The setting-up of the Minilyser system consisted in two steps: first fitting analytical processes in analyser software; then actually making analyses. At the moment we found out many problems concerning the change of manual methodics in fully automated assay system. Practically, a significant problem of carryout occurred to greatly positive samples, that we resolved with addition of biodetergent Contrad 2000 into the system fluid. Another problem was the short calibrators and controls volume but the detection of a correct, best rack slope resolved it. Up to now, some difficult remain concerning software of the system, but we have, in spite of, adopt the system without difficulty.

G100

Patrucco G., Lopiano L., Mignone M.

VALUTAZIONE DEL METODO ANALITICO CEDIA PER LA DETERMINAZIONE DI VITAMINA B12 E FOLATI SU ANALIZZATORE HITACHI 912

Laboratorio Analisi, Ospedale S. Andrea, A.S.L. 11, Vercelli

La necessità di eseguire con frequenza la determinazione di Vitamina B12 e Folati utilizzando lo strumento impiegato per il dosaggio di parametri biochimici comuni, ci ha spinto a valutare il metodo immunochimico basato sulla tecnologia del DNA ricombinante CEDIA (ROCHE). Il metodo, applicato sull'analizzatore HITACHI 912 è stato confrontato con lo storico MEIA da noi utilizzato in precedenza su strumento IMX ABBOTT. La Vitamina B12 e i Folati sono stati determinati con entrambi i metodi sul siero di 50 pazienti ambulatoriali e degenti per varie patologie, in un intervallo di valori che per la Vit. B12 è stato 100 - 2260 pg/ml e per i Folati 1,5 - 23 ng/ml. I risultati ottenuti sono stati confrontati tra loro con il metodo di Passing e Bablok e con l'analisi della regressione lineare evidenziando una buona correlazione; per i Folati $y = 1,12x - 1,45$ $r = 0,98$ per la Vit. B12 $y = 1,05x + 94,5$ $r = 0,98$, in accordo con risultati precedenti ottenuti da una valutazione multicentrica condotta su HITACHI 911. Il metodo CEDIA ha evidenziato buona riproducibilità e buona linearità. L'imprecisione analitica calcolata su tre livelli di controllo è stata: nella serie ($n = 8$) per Vit. B12 $cv\% (liv.1) = 7,1 - cv\% (liv.2) = 4,1 - cv\% (liv.3) = 3,7$ per Folati $cv\% (liv.1) = 10 - cv\% (liv.2) = 5,8 - cv\% (liv.3) = 3,5$; tra le serie ($n = 20$) è stata per Vit. B12 $cv\% (liv.1) = 7,6 - cv\% (liv.2) = 4,0 - cv\% (liv.3) = 3,8$ per Folati $cv\% (liv.1) = 12,6 - cv\% (liv.2) = 5,6 - cv\% (liv.3) = 3,8$. La linearità è stata verificata fino a valori di 2300 pg/ml per Vit. B12 e fino a valori di 23 ng/ml per Folati. Inoltre il metodo si presenta facile e rapido in quanto la determinazione è fatta senza alcun trattamento, senza lavorare in batch e con reattivi pronti sull'analizzatore.

G101

Morelli B., Grassi C., Lazzati L., Cozzi M.G., Duca M.L., Garghetti E., Pagani G., Scalvini R.

PRELIMINARY EVALUATION OF THE NEW AUTOMATED COAGULATION ANALYZER ACL 9000

Laboratorio di Ematologia, Azienda Ospedaliera Ospedale di Legnano, Legnano (MI)

Background: We have evaluated the new automated coagulation analyzer ACL 9000 (Instrumentation Laboratory), according to the ECCLS protocol issued in 1986. The more important characteristics of this new coagulometer are a reagent area with 18 positions total (8 reagents + 10 additional materials), 40 samples on board in original tubes, an automating photometry area covering two acquisition channels (at 660 nm for clotting reactions and at 405 nm for chromogenic and immunological reactions), a rotor stack which contains up to 12 rotors (240 cuvettes) with continuous rotor loading.

The **evaluation** has been performed on the following tests: PT, aPTT, Fibrinogen (PT-derived), ATIII and D-Dimer. For all these tests we have evaluated the within and between run imprecision, the sample carry-over and the correlation of the results obtained from samples routinely analyzed on ACL FUTURA (with linear regression and Bland-Altman method).

Materials and methods: We have utilized the following reagents: PT-FIB HS-PLUS (rabbit thromboplastin, ISI 1,08), aPTT (lyophilized silica), ATIII and latex for D-Dimer (immunoturbidimetric method), all reagents of Instrumentation Laboratory. For runs imprecision, we have utilized three lyophilized plasmas at three different levels.

In our study we have obtained the following **results:**

- good results in terms of within imprecision (maximum CV: 3,0% for clot based tests, 4,4% for ATIII and 5,2 for D-Dimer) and between imprecision (maximum CV: 4,7% for clot based tests, 6,2% for ATIII and 8,5% for D-Dimer)

- absence of any form of carry-over on all tests

- good correlation for all tests performed in our evaluation:

PT	n = 300
R ² = 0,980	y = 1,184x - 3,001
APTT	n = 287
R ² = 0,950	y = 1,002x - 0,160
Fibrinogen	n = 296
R ² = 0,809	y = 1,012x + 1,237
ATIII	n = 202
R ² = 0,859	y = 0,807x + 18,509
D-Dimer	n = 151
R ² = 0,947	y = 0,888x + 4,964

In conclusion, the new automated coagulation analyzer ACL 9000 has evidenced good analytical and mechanical performance associated to a remarkable easiness of use which make it suitable for its introduction in the Clinical and in Specialistic Coagulation Laboratories.

Reference: "ECCLS: Guidelines for the evaluation of analyzers in clinical chemistry, 1986"

G102

Cinapri V.*, Rossi L., Lucchetti A., Innocenti B., Giampietro O.*, Matteucci E.*, Danesi P.°

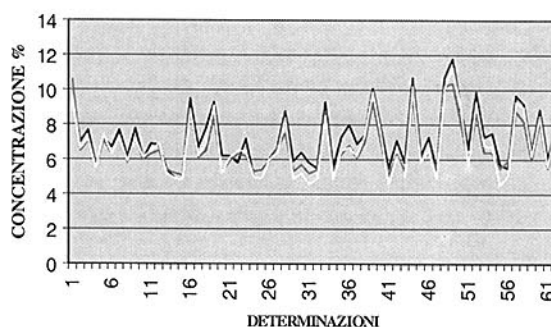
HbA1c: METODI A CONFRONTO.

U.O. Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche 1, *Dip. di Medicina Interna, Università di Pisa, Pisa; Azienda Ospedaliera Pisana, Pisa; °Laboratorio Analisi Sezione Tossicologia, Prato.

L'HbA1c rappresenta un efficace parametro di valutazione a lungo termine della glicemia e rispecchia, in pazienti con stabilizzato e costante metabolismo glucidico, la memoria glicemica delle ultime 3/4 settimane. Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione multipla, in 62 pazienti diabetici di tipo 1 e 2, di metodi diversi per la determinazione della emoglobina glicata. Abbiamo confrontato, in una verifica incrociata, i nostri metodi di determinazione dell'HbA1c (HPLC- Biorad e Hitachi 917- Roche) con un metodo che esegue automaticamente e senza nessun intervento da parte dell'operatore, l'emolisi del campione in cuvetta (Cobas Integra - Roche) determinando sia l'emoglobina (attraverso una reazione di tipo colorimetrico) che l'HbA1c (utilizzando anticorpi monoclonali associati a particelle di lattice). L'Hitachi 917 determina l'HbA1c in base ad un test immunologico-turbidimetrico di inibizione (TINA) su sangue intero emolizzato manualmente da un operatore, mentre il campione per l'HPLC deve essere trattato per 30 minuti con emolisante a 37°C. I risultati sono stati molto soddisfacenti.

Metodiche a confronto	coeff. di correlazione
HPLC - Tina Quant (serie 1)	0.96
Tina Quant - Cobas Integra (serie 2)	0.97
HPLC - Cobas Integra (serie 3)	0.97

CORRELAZIONE HbA1c



Nonostante l'HPLC rappresenti sempre la metodica di riferimento queste soluzioni rappresentano un'ottima alternativa nella gestione laboratoristica degli esami relativi al paziente diabetico.

G103

Frezzotti A., Gabrielli T., Tocchini M.

VALUTAZIONE ANALITICA E CLINICA DELL'EMOGASANALIZZATORE OMNI™ 5

Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera "Umberto I", Ancona.

E' stata valutata l'imprecisione dell'emogasanalizzatore OMNI™ 5 (AVL) nella misurazione di pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺. Uno studio di confronto è stato condotto tra OMNI™ 5 e ABL 505 (Radiometer) per tutti i parametri e tra OMNI™ 5 e fotometro a fiamma IL943 (Instrumentation Laboratory) per Na⁺ e K⁺. L'imprecisione è stata valutata analizzando 20 replicati e per 20 giorni consecutivi due livelli di concentrazione del materiale di controllo Liquichek (Biorad). Il coefficiente di variazione (CV%) è stato calcolato dall'analisi della varianza. Nel confronto tra OMNI™ 5 e ABL 505 sono stati analizzati n.65 campioni di sangue intero arterioso; nel confronto tra OMNI™ 5 e IL943 sono stati analizzati n.40 campioni di sangue intero arterioso e del rispettivo plasma. La valutazione della correlazione tra gli strumenti è stata condotta utilizzando il metodo della regressione non parametrica. Il test T-Student è stato usato per valutare la differenza tra i risultati ottenuti dall'OMNI™ 5 e dallo strumento di confronto. I valori di CV% entro serie e totale sono rispettivamente per il livello 1 e per il livello 2 del materiale di controllo: pH: 0,07-0,08 e 0,07-0,08; pCO₂: 2,05-2,09 e 1,72-1,75; pO₂: 6,58-7,38 e 3,1-3,28; Na⁺: 0,6-0,62 e 0,84-0,85; K⁺: 2,41-2,43 e 2,04-2,05; Cl⁻: 0,83-0,84 e 0,46-0,51; Ca⁺⁺: 1,57-1,58 e 1,24-1,26. I risultati dello studio di correlazione tra OMNI™ 5 (y) e ABL 505 (x) sono rappresentati dalle seguenti equazioni della retta di regressione: pH: $y=1,02x-0,12$ $r^2=0,97$; pO₂: $y=0,94x+6,09$ $r^2=0,98$; pCO₂: $y=1,04x-1,44$ $r^2=0,96$; Na⁺: $y=1,05x-5,33$ $r^2=0,96$; K⁺: $y=1,04x-0,16$ $r^2=0,94$; Ca⁺⁺: $y=1,37x-1,62$ $r^2=0,93$. I risultati della correlazione tra OMNI™ 5 (y) e IL 943 (x) sono: Na⁺: $y=0,88x+17,06$ $r^2=0,92$; K⁺: $y=0,99x+0,11$ $r^2=0,98$. La differenza tra i risultati è stata significativamente superiore a zero (p<0,05) per Na⁺ sia nel confronto con ABL 505 che con IL 943. L'imprecisione analitica per tutti i parametri considerati è risultata accettabile (1,2). La correlazione con gli strumenti di confronto è buona e la differenza tra i risultati quando statisticamente significativa è risultata clinicamente non importante (2).

1) Fraser CG. Generation and application of analytical goals in laboratory medicine. *Ann Ist Sup Sanità* 1991; 27, 3:369-76.

2) Westgard JO, Seehafer JJ, Barry PL. Allowable imprecision for laboratory tests based on clinical and analytical test outcome criteria. *Clin Chem* 1994; 40:1909-14.

G104

Tocchini M.¹, Margarucci Gambini A.M.¹, Testa I.², Testa R.³, Bonfigli A.R.³, Coppa G.¹

DETERMINAZIONE HPLC DEL TIOPENTONE PLASMATICO CON IL KIT EUREKA

¹Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Ospedale Regionale, Ancona, ²Istituto di Clinica Medica, Università degli Studi di Ancona, ³Centro di Biochimica Dip. Ricerche INRCA, Ancona.

Il tiopentone è un farmaco anestetico largamente utilizzato in terapie sia a breve che a lungo termine. In quest'ultimo caso il farmaco presenta una farmacocinetica di tipo non lineare e individuo-dipendente a causa della saturazione e/o induzione del metabolismo. Il suo monitoraggio clinico assume quindi una importanza critica per effettuare aggiustamenti terapeutici in molti tipi di trattamenti farmacologici. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare un nuovo kit in commercio, il kit tiopentone sierico e/o plasmatico in UV della ditta EUREKA srl Lab Division per la determinazione HPLC del tiopentone. Il kit è stato utilizzato secondo il protocollo fornito dalla ditta produttrice. Il metodo consiste nella precipitazione delle proteine plasmatiche con la soluzione deproteinizzante con standard interno e successiva diluizione del sovrantante 1:1 con la soluzione stabilizzante. 50 µL di tale campione vengono quindi iniettati in uno strumento HPLC isocratico con colonna Genesis C18 150x4.6 mm, 4 µm, con detector UV settato a 280 nm. I risultati delle prove di imprecisione hanno mostrato CV compresi tra 3.62-0.70% nella serie e 5.77-1.51% tra le serie. La curva di calibrazione era lineare da 0.2 a 500 µg/mL. I recuperi assoluti ottenuti da campioni supplementati non erano mai inferiori al 100%. Nessuna interferenza è stata documentata né da sostanze endogene, né da farmaci assunti dai pazienti. E' stato inoltre condotto uno studio di confronto tra il metodo in valutazione e il metodo HPLC di H. Russo *et al* (*J Chromatogr* 694, 239-45, 1997). Su 30 campioni di pazienti è stata effettuata la determinazione del tiopentone con entrambi i metodi. La prova di confronto ha mostrato una stretta correlazione tra le due tecniche (r=0.98). In conclusione il kit EUREKA ha mostrato una buona affidabilità complessiva. In particolare questo kit presenta il vantaggio di un recupero assoluto completo dell'analita, mai raggiunto da altre metodiche. Queste caratteristiche unite alla rapidità della preparazione del campione rendono tale metodo utile nel monitoraggio terapeutico del tiopentone.

G105

Miceli M., Mercurio G., Gallo A., Iudicone P.

EVALUATION OF A COMBINED ANTI-HIV AND p24 Ag ASSAY

Centro Nazionale Trasfusione Sangue - CRI - Roma

The availability of easy, rapid, specific and sensitive assays for the diagnosis of viral diseases is an essential tool for both transfusionists and clinics. The constant efforts of the industrials to improve their diagnostic tests allowed to better assure the safety of blood products as well as to give accurate and reliable results in medical biology for viral disease diagnosis.

In the case of HIV infection HIV p24 antigen is generally detected before the specific antibodies. Therefore, to narrow the window period between the occurrence of infection and its first serological detection it was helpful to supplement the antibody test with a test for HIV p24 antigen. Recently new assays (4th generation) based on the simultaneous determination of HIV antigens and antibodies have been produced.

Here we reported the evaluation of the Enzygnost HIV Integral assay which is a double-sandwich (both Ag sandwich and Ab sandwich) enzyme immunoassay for the detection of HIV p24 antigen and antibodies to HIV type 1 and 2 as well as HIV-1 subtype 0.

Six seroconversion panels from BBI (PRB 903-911-919-926-927-932) and four performance panels from BBI (PRB 103 e 203, PRZ 202, PRA 201) have been tested.

The results of the seroconversion panels are summarized in the following table:

Seroconversion Panels		1 st positive sample				
HIV	903	911	919	926	927	932
WB	4°	6°	2°	5°	4°	5°
Ag	1°	4°	1°	3°	2°	4°
Inte g.	1°	4°	1°	4°	2°	4°

The results of the performance panels showed a very good specificity and reliability of the test.

HIV Ag/Ab based tests are an interesting evolution of the screening/diagnosis tests by combining in one test the advantages of two tests Ab-based and Ag-based without lacking of specificity.

G106

Gussago A., Rodella A., Albertini A.

RISULTATI DISCORDANTI TRA TEST DI SCREENING PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI ANTI-HCV: CONFRONTO TRA METODI COMMERCIALI

III Servizio Analisi – Spedali Civili, Brescia.

I test di screening per la determinazione degli anticorpi anti-HCV, pongono ancora delle problematiche relative alla eterogeneità delle varie frazioni antigeniche adese alla fase solida. In questo studio sono stati selezionati 45 campioni, risultati discordanti ai due test di "screening" utilizzati in laboratorio (Roche-Cobas HCV 3.0 e Abbott-AxSYM HCV 3.0). Questi campioni sono stati confrontati con un altro test di screening della Ortho (Anti-HCV Vitros) e confermati con un test supplementare (CHIRON RIBA 3).

Dei 45 campioni, 27 (60%) sono risultati RIBA negativi, 14 (31%) RIBA indeterminati e 4 (9%) RIBA positivi. La tabella sottostante riporta i risultati ottenuti dai test di screening nei tre gruppi:

	RIBA NEG (27)		RIBA IND (14)		RIBA POS (4)		
	+	-	+	zg*	-	+	zg*
Cobas Core	17	3	11	0	1	3	0
AXSYM	8	4	3	7	0	3	1
Vitros	7	2	11	1	0	4	0

*zona grigia (70% del valore soglia).

Dei 17/27 (63%) campioni risultati falsi reattivi al test Roche, solo 3 presentavano un segnale analitico superiore a 4 volte il valore soglia.

Dei 14 campioni RIBA indeterminati, 3 sono risultati non reattivi al test Roche e presentavano al test RIBA rispettivamente reattività 4+ verso c33, 4+ verso c22 e 2+ verso NS5; dei 4 negativi in Abbott, 3 campioni presentavano reattività 2+ verso c22 e un campione reattività 1+ verso NS5; i 2 campioni negativi in Ortho erano reattivi verso NS5 con una intensità di banda rispettivamente di 1+ e 2+.

Le reattività isolate all'NS5 non si sono confermate al test supplementare Innolia (Innogenetics).

Dei 7/14 campioni risultati zona grigia in Abbott e indeterminati al RIBA, 5 presentavano una reattività 2+ all'antigene c22 ed erano reattivi agli altri due test.

Nel gruppo dei RIBA positivi, il campione negativo in Roche presentava al test RIBA reattività verso c100 e c33, mentre il negativo in Abbott reattività verso c100 e c22.

I dati presentati mostrano l'esistenza di risultati discordanti tra metodi diversi. Nonostante la continua evoluzione delle tecnologie ed il perfezionamento dei metodi analitici, ancora oggi è centrale il ruolo decisionale del laboratorista al fine di evitare risultati clinicamente non affidabili.

Marzorati A.¹, Paleari R.², Mosca A.²

VALUTAZIONE DEL NUOVO SISTEMA BIO-RAD VARIANT™ II PER LA MISURA DELL'EMOGLOBINA GLICATA NEL SANGUE

Bio-Rad Laboratories Segrate (MI)¹; Dip. Scienze Tecno. Biomediche, L.I.T.A., Università di Milano²

L'analizzatore Variant™ II (Bio-Rad Laboratories, Milano) è un sistema completamente automatico HPLC in grado di separare e misurare l'HbA_{1c}, l'HbA₂, l'HbF e le principali Varianti Emoglobiniche. Lo strumento è modulare e composto di una torre cromatografica a gradiente lineare, una unità di campionamento da provetta madre e un computer gestionale per il completo controllo del sistema e l'archivio pazienti. Il sistema Variant™ II presenta alcune innovazioni strumentali: l'agitazione automatica del campione prima del prelievo da parte dell'ago campionatore, lo sfiato del vuoto residuo della provetta madre ed uno specifico algoritmo di calcolo (E:M:G:) per la misura del picco dell'HbA_{1c} riferita solo alle emoglobine "normali" presenti nel campione che consente di evitare qualsiasi ricalcolo in presenza di HbF o Hb Varianti. E' stata valutata la riproducibilità entro e tra-le-serie. I risultati ottenuti mostrano una buona riproducibilità sia sui campioni di sangue, sia sui materiali di controllo, con valori di CV sempre inferiori a 2.2 %..Non sono state riscontrate apprezzabili deviazioni della linearità nel range di concentrazioni valutato (tra 4.5 e 12 %).Il trascinarsi è inferiore allo 0.4 % quindi trascurabile. L'accuratezza è stata valutata confrontando l'analizzatore Variant™ II con i sistemi HPLC Variant e Merck-Hitachi L9100, quest'ultimo allineato con il sistema di riferimento DCCT. Nel confronto Variant™ II e Merck-Hitachi è stata rilevata una buona correlazione ($y = 1.002X - 0.7734$, $r = 0.9880$ $n = 54$); il bias tra i due metodi è stato marcatamente ridotto ricalcolando i dati originari del sistema Variant™ II con una coppia di materiali di controllo con titolo determinato con il metodo Merck-Hitachi-DCCT. I risultati ottenuti dimostrano che l'analizzatore può essere facilmente calibrato su due punti ed è, quindi, in grado di fornire risultati tracciabili a qualsiasi metodo di riferimento. Il sistema cromatografico è in grado di separare in maniera accurata la A_{1c} stabile la cui misura non risente di interferenze da parte della frazione pre-A_{1c}. I trigliceridi non interferiscono nell'analisi in tutto il range di concentrazioni testate (fino a 1.0 g/dl) mentre la presenza di bilirubina non determina una riduzione della percentuale di HbA_{1c} fino a 25 mg/dl. Si è notato che per campioni con ematocrito inferiore al 30% la HbA_{1c} misurata è sottostimata. E' stato inoltre stimato l'effetto di una diluizione del campione effettuata in modo difforme dal protocollo (1:200), in questo caso si è notata una riduzione lieve dell'HbA_{1c} all'aumentare della diluizione. Per queste caratteristiche ed in base alla nostra valutazione riteniamo che il nuovo Variant II sia particolarmente indicato per laboratori di media e alta routine e nei centri antidiabetici.

Pozzi F.¹, Mocchetti G.², Dioli R.³, Gelmetti D.⁴, Petrini C.⁵

VALUTAZIONE DEL SISTEMA NYCOCARD® HbA_{1c} PER LA DETERMINAZIONE DELL'EMOGLOBINA GLICATA HbA_{1c}.

^{1,2,5}Lab. Biochimica-Osp. S. Carlo, via Pio II, 3 – Milano (MI) ^{3,4}SENTINEL CH, via P. Eugenio, 5 – Milano.

SCOPO: Valutazione delle prestazioni del nuovo metodo NycoCard® HbA_{1c} per la determinazione dell'emoglobina glicata e comparazione con un metodo HPLC (Menarini HA 8140). I kit NycoCard® HbA_{1c} sono stati gentilmente forniti da SENTINEL CH. Srl.

METODO: Il test NycoCard® HbA_{1c} è basato sul principio di affinità del boronato. Il reagente include agenti per la lisi degli eritrociti e la precipitazione specifica dell'emoglobina. Un coniugato dell'acido boronico, accoppiato ad un colorante blu, lega la configurazione cis-diolo dell'emoglobina glicata. Il precipitato è valutato mediante misurazione dell'intensità di colorazione blu (emoglobina glicata) e rossa (emoglobina totale) con il NycoCard® READER II. Il sistema misura la glicemoglobina totale, ma riporta un valore standardizzato di HbA_{1c}¹.

Come indicato dal produttore del kit (Axis-Shield, Norvegia) nell'inserito del prodotto, i reagenti vengono validati, prima della commercializzazione, dall'ERL (European Reference Laboratory for Glycohaemoglobin):

PROCEDIMENTO OPERATIVO e RISULTATI:
Valutazione della correlazione tra i metodi NycoCard® HbA_{1c} e Menarini HA 8140 (HPLC): 52 campioni di sangue con valori di HbA_{1c} compresi tra 4,7-12,8% sono stati testati in duplicato con il kit NycoCard® HbA_{1c} e in singolo con l'HPLC nell'arco di 30 giorni. Sono stati utilizzati i valori medi dei risultati del NycoCard® HbA_{1c}, ottenendo la seguente curva di correlazione: $y = 0,8266x + 1,3068$, $R = 0,9626$ e $SD_{yx} = 0,46$.

Valutazione dell'imprecisione tra le serie: 3 campioni di sangue sono stati testati in singolo per 5 giorni successivi, ottenendo i seguenti risultati:

Campione	Mediana	SD	CV (%)
Basso	5.66	0.23	4.07
Medio	7.42	0.19	2.59
Alto	9.42	0.19	2.04

Valutazione dell'imprecisione nella serie: 3 campioni di sangue sono stati testati 10 volte in una seduta analitica, ottenendo i seguenti risultati:

Campione	Mediana	SD	CV (%)
Basso	5.76	0.19	3.29
Medio	7.94	0.40	5.08
Alto	10.34	0.20	1.89

CONCLUSIONI: Il sistema NycoCard® HbA_{1c} correla bene con un metodo HPLC del commercio. L'analisi dell'imprecisione del metodo ha fornito risultati soddisfacenti, paragonabili a quelli forniti dai sistemi automatici. Queste caratteristiche lo rendono particolarmente adatto all'utilizzo per piccole routine, quale strumento di back-up per sistemi automatici nonché come valido supporto per l'attività diagnostica ambulatoriale
 1) JIFCC, Vol. 9, No. 2, 62-68, 1996 (760)

G109

Stocchi O., Bianchi G.

DUE METODI PER IL DOSAGGIO DELLE IgE TOTALI

U.O. Laboratorio Analisi Ospedale di Urbino ASL N.2 URBINO (PU)

Nonostante la limitata utilità nell'identificazione di patologie IgE-mediate, il dosaggio delle IgE totali viene richiesto con sempre maggior frequenza nel sospetto di sindrome allergica. Tale dosaggio, invece, si è rivelato efficace in pediatria, nel distinguere soggetti atopici dai non atopici, in quanto la definizione fra queste due popolazioni è molto ben definita. Poiché le IgE non attraversano la barriera placentare, il loro riscontro a livelli superiore a 0,9 UI/ml nel sangue del cordone ombelicale è indicativo di malattie IgE-mediate o di un'alta probabilità di svilupparle.

Lo scopo del presente lavoro è la valutazione della correlazione fra due metodi analitici (metodologia Chemiluminescente, Magic Lite, Bayer e metodologia MEIA, IMX, Abbott) di largo impiego nel dosaggio delle IgE totali. A tale scopo, nel primo trimestre 2000, presso il Laboratorio Analisi dell'Ospedale di Urbino -ASL N.2, sono stati utilizzati entrambi i sistemi analitici per il dosaggio delle IgE totali. La popolazione in esame è rappresentata da soggetti ambulatoriali con richiesta di IgE totali per sospetta atopica.

L'attendibilità analitica dei sistemi è stata valutata mediante i seguenti parametri, rispettivamente per Magic Lite ed IMX:

ripetibilità: CV% 3,1-3,5; **sensibilità:** 2 UI/ml - 0,3 UI/ml; **accuratezza:** 1,7% - -4,5%; **test di recupero:** (recupero medio su 7 diluizioni) 68,7% - 80,3%; **regressione lineare:** n=96, r=0,95, y=0,81x + 26,7.

Da questa esperienza emerge che entrambi i Sistemi sono attendibili per il dosaggio delle IgE totali. Per ciò che riguarda la sensibilità analitica il metodo MEIA sembra essere superiore, anche se i CV% tra le repliche ottenuti a diluizioni spinte sono solo di poco inferiori a quelli del Magic Lite. Per contro il BIAS ottenuto con il sistema Magic Lite è risultato leggermente migliore.

E. Errigo "Malattie Allergiche" 3° Edizione. Vol.I; cap. 1,2,3. Lombardo Editrice ROMA, 1999.

G110

Cassia A., Schiavone G.G., Pede M.R., Capuano D., Antonetti R.

CARDIOTROPONINA I: VALUTAZIONI METODOLOGICHE DEL DOSAGGIO IN URGENZA.

Azienda Mista Ospedali-Università; Ospedali Riuniti, Laboratorio Urgenze-2°Lab.Maternità-V.le Pinto-71100 Foggia

Nel nostro Laboratorio d'Urgenza, da quasi 2 anni, sono stati implementati i nuovi marcatori biochimici di lesione miocardica: Cardiotroponina I, Mioglobina e CKMB come massa proteica, analizzati con l'apparecchio Opus Plus della Dade-Behring.

Recentemente la stessa Azienda ha proposto la determinazione degli stessi analiti sul Dimension RxL, che abbiamo avuto in dotazione nel nostro Laboratorio. Con il lavoro che proponiamo, abbiamo voluto indagare e valutare la precisione, la linearità oltre all'accuratezza metodologica della **CARDIOTROPONINA I** (cTnI) sulla strumentazione in uso. Sono stati analizzati 142 sieri, provenienti da 108 pazienti ricoverati con sospetto IMA. La determinazione della cTnI è stata effettuata su strumentazione Dade-Behring: Opus Plus (metodo immunoenzimatico fluorogenico) e Dimension RxL (metodo immunoenzimatico colorimetrico). La 1^ metodica consiste in un test immunoenzimatico a fluorescenza con doppio anticorpo -Ab- (sandwich): il primo Ab è fissato su fibra di vetro, cui si lega, durante la 1^ incubazione, l'Ag presente nel campione. In seguito, il 2° Ab coniugato con Fosfatasi Alcalina (ALP) è dispensato nella zona di reazione del modulo; infine viene aggiunta la soluzione di lavaggio, contenente il substrato: 4-metilumbelliferilfosfato, che elimina la quota non legata. La fluorescenza prodotta viene letta ed è direttamente proporzionale alla quantità di cTnI. La metodica del Dimension, è anch'essa basata su una determinazione analitica con doppio Ab (sandwich), ma il campione viene incubato con particelle di biossido di cromo ricoperte con un Ab monoclonale specifico ed un reagente coniugato (ALP) marcato Ab specifico per cTnI, per formare il cosiddetto "sandwich". Il coniugato non legato e l'analita sono rimossi per separazione magnetica e lavaggio. Dopo questo passaggio il complesso che si ottiene è trasferito nelle cuvette, dove il "sandwich" legato con l'ALP porta ad una cascata amplificata. L'ALP defosforila la flavin adenin dineucleotide fosfato sintetica (FADP) producendo FAD. Quest'ultimo si lega all'ossidasi apo-D amino acido e lo converte nell'attività ossidasi olo D-amino acido. Ciascuna molecola d'olo D-amino acido ossidasi, poi, produce molecole multiple di perossido d'idrogeno, che in presenza di perossidasi radice di rafano, converte l'acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzene sulfonico (DCHBS) e la 4-aminoantipirina (4-AAP) in un prodotto colorato e letto a 510 nm. La precisione intrasieri è stata controllata con 2 pool di sieri: basso 2,2 e alto 6,8 ng/mL. Sull'Opus abbiamo avuto un CV di 4.4 e 3.8; sul Dimension 4.2 e 4.0 %. La linearità è stata indagata con il test di recupero, fornendo delle % tra il 94.4 ed il 108.6 e valori compresi tra 46.7 e 4.7 per l'Opus, mentre sul Dimension le % sono state tra il 95.1 e 106.5 con valori dal 49.2 e 4.9 con diluizioni a scalare fino al 10% della concentrazione iniziale. La correlazione tra i due strumenti è stata molto lusinghiera: $r^2 = 0,9625$ e $y = 0.9576 x$.

G111

Cassia A., Schiavone G.G., Pede M.R., Capuano D., Antonetti R.

MIOGLOBINA E CK-MB MASSA: VALUTAZIONI METODOLOGICHE DEL DOSAGGIO IN URGENZA

Az. Mista Ospedali-Università; Ospedali Riuniti, Lab. Urgenze-2°Lab.Maternità-V.le Pinto-71100 Foggia

Da diverso tempo nel nostro Laboratorio d'Urgenza eseguiamo i nuovi marcatori biochimici di lesione miocardica: Mioglobina, CKMB in espressione di massa proteica e Troponina I, analizzati sull'apparecchio Opus-Plus della Dade-Behring.

Ultimamente, la medesima Azienda ha proposto gli stessi esami sul Dimension RxL, che recentemente abbiamo avuto in dotazione in Laboratorio. Il lavoro che proponiamo ha voluto indagare e valutare la precisione, la linearità e l'accuratezza metodologica del CKMB come MASSA PROTEICA e della MIOGLOBINA. Sono stati esaminati 142 sieri, provenienti da 108 pazienti con sospetto IMA. La determinazione della MYO e del CKMB massa è stata eseguita su strumenti della Dade-Behring: Opus Plus e Dimension RxL. Il 1° strumento utilizza una metodica immunoenzimatica a fluorescenza con 2 anticorpi(Ab), detta "sandwich", il 1° Ab è fissato su fibra di vetro a cui si lega, durante la 1° incubazione l'Ag, che è nel campione. In seguito il 2° Ab, coniugato con Fosfatasi Alcalina (ALP) è dispensato nella zona di reazione del modulo, quindi viene aggiunta la soluzione di lavaggio con il substrato: 4-metilumbelliferilfosfato, che elimina la quota non legata. La fluorescenza prodotta viene letta ed è direttamente proporzionale alla quantità di MYO o di CKMB massa presente nel campione. Il metodo in uso sul Dimension è immunoenzimatico colorimetrico ad una fase, ed è sempre basato sul principio del doppio Ab (sandwich). Il siero viene incubato con particelle di biossido di cromo ricoperte con Ab monoclonali specifici per MYO ed il coniugato del reagente Ab marcato con β -galattosidasi specifici per MYO. Per il CKMB, il campione viene incubato con particelle di biossido di Cromo ricoperto con Ab specifico per la subunità CKB, ed il reagente coniugato (Ab specifici per l'isoenzima CKMB marcati con la β -galattosidasi). La quota in eccesso di coniugato viene rimossa con la separazione magnetica ed il lavaggio. Il sandwich con la β -galattosidasi si combina con un substrato cromogenico: clorofenolo rosso- β -d-galattopiranoside (CPRG). L'idrolisi del CPRG rilascia un cromoforo (CPR). La concentrazione dell'analita in esame MYO o CKMB è direttamente proporzionale alla quota della variazione di colore, causata dalla formazione di CPR misurata a 577 nm; per il CKMB la sua concentrazione è misurata immunologicamente. La precisione intraserie della MYO è stata controllata con 2 pool di sieri: basso 66 e alto 224 ng/mL. Sull'Opus abbiamo avuto un CV di 3.8 e 4.3%; sul Dimension di 3.3 e 4.1%. Per il CKMB, i 2 pool di sieri erano: basso 6.3 e alto 19.6 ng/mL. Sull'Opus abbiamo ottenuto un CV di 4.4 e 5.2%, mentre sul Dimension di 4.8 e 4.1%. La linearità è stata indagata con il test di recupero, fornendo delle % per la MYO, sull'Opus tra il 94,7 e 107,6 e sul Dimension tra 94,3 e 106,1. Per il CKMB, sull'Opus le % sono comprese tra 107.3 e 96.9; mentre sul Dimension esse sono comprese tra 94.1 e 107 tutte con diluizioni a scalare fino al 10% della concentrazione. La correlazione tra i 2 strumenti è stata più che buona: per la MYO $r^2 = 0,9841$ e con una $y = 1,1029 x$; per il CKMB $r^2 = 0,9640$ e con una $y = 0,9664 x$.

G112

Martinasso G.*, Avezzano S.*, Bellati P.°, Bianconi S.*, Donati Marellò B.*, Frediani S.°, Priolo G.*, Riportella P.*, Salvo R.*, Pagni R.*

VALUTAZIONE DI TESTOSTERONE E PROGESTERONE SU ANALIZZATORE ARCHITECT i2000.

*Laboratorio Centrale Baldi e Riberi, Azienda Ospedaliera S. Giovanni Battista, Torino.

°Abbott Divisione Diagnostici, Roma.

Il dosaggio automatizzato di testosterone e progesterone mediante analizzatore Architect i2000 è stato confrontato con quello manuale RIA (Coat-a-Count, DPC) utilizzato nella routine, su una serie di campioni provenienti da pazienti afferenti al nostro laboratorio (34 femmine e 64 maschi per il testosterone, 77 femmine per il progesterone). La ripetibilità intra-serie è stata valutata per il progesterone su 5 pools (intervallo 0.2-10.0 ng/ml) e per il testosterone su 6 (intervallo 0.25-10.0 ng/ml) con coefficienti di variazione sempre inferiori a 8% e a 7%, rispettivamente, su 10 replicati. La ripetibilità inter-serie, eseguita su tre pools e su controlli Lyphochek Immunoassay plus BIO-RAD (n=12) ha fornito i seguenti risultati: per il progesterone in un intervallo da 0.21 a 10.2 ng/ml CV sempre inferiore a 5% eccetto che il pool a concentrazione pari a 0.2 ng/ml (CV=13.8%); per il testosterone nell'intervallo 0.52-13.0 ng/ml CV sempre inferiori a 8%.

Il confronto fra i metodi è stato effettuato mediante il calcolo del coefficiente di correlazione di Pearson, della regressione secondo Passing e Bablok e secondo il metodo di Altman e Bland. Le equazioni ottenute sono per il progesterone: Architect = 0.952 RIA -0.281, n=77, r=0.989, bias=0.447; mentre per il testosterone: Architect = 1.065 RIA + 0.133, n=110, r=0.987, bias=-0.363. Sia i coefficienti di correlazione che il coefficiente angolare delle rette evidenziano un'analogia lettura degli ormoni steroidei nei confronti dei kit RIA. Tuttavia sui valori a bassa concentrazione i risultati dell'Architect sono più alti: queste differenze possono dipendere da una differente cross-reattività verso i diversi metaboliti. In ogni caso, soprattutto per il testosterone, è necessario un ulteriore approfondimento su casistiche selezionate di pazienti con o senza terapia anti-androgena.

G113

Cavalcanti E., Bruno I., Chieffalo A., Cilento M., Dente B., Figoni O., Mellone C.*, Niola O., Ungaro B.*

VALUTAZIONE DELL'ANALIZZATORE DI CHIMICA CLINICA "OLYMPUS 400" SECONDO IL PROTOCOLLO ECCLS.

Laboratorio di Patologia Clinica, P.O. S. Paolo, ASL 1, Napoli; *Dipartimento Medicina di Laboratorio, Azienda Universitaria Policlinico, Ateneo Federico II, Napoli

In questo studio è stato valutato l'analizzatore di Chimica Clinica Olympus 400, seguendo il protocollo raccomandato dalla European Committee for Clinical Laboratory Standards (ECCLS) (1).

Sono stati valutati 11 analiti: Glucosio, Urea, Creatinina, Proteine Totali, Ferro, Sodio, Potassio, AST, ALT, CHE, LDH.

L'imprecisione nella serie è stata calcolata analizzando tre sieri di controllo e due pool di sieri umani ripetendo la serie per 20 volte in tre giorni consecutivi. I CV% ottenuti non superavano mai il 3%.

L'imprecisione tra le serie è stata stimata come CV% calcolato a partire dai secondi valori ottenuti analizzando i tre sieri di controllo in doppio per 20 giorni. I CV% ottenuti non superavano mai il 3%; solo per ALP si osservava una imprecisione maggiore con CV% comunque compresi tra 5 e 7% per i diversi sieri di controllo. Pertanto i risultati delle valutazioni della imprecisione hanno mostrato ottima riproducibilità dei dati.

L'inaccuratezza è stata valutata mediante confronto con Hitachi 747 (Roche) ed ha evidenziato risultati del tutto sovrapponibili. Inoltre è stato effettuato confronto con i valori assegnati ai tre sieri di controllo utilizzati: lo scostamento percentuale non ha superato valori del 5%.

I risultati dello studio di linearità per tutti gli 11 analiti hanno mostrato ranges di linearità uguali o superiori a quelli indicati dalla casa produttrice.

Infine, non sono stati rilevati effetti di carry-over sia da campione che da reagente avendo ottenuto variazioni inferiori alla imprecisione analitica.

In conclusione, lo strumento Olympus 400 ha mostrato caratteristiche di precisione, accuratezza ed affidabilità analitica che lo rendono idoneo per un Laboratorio di Chimica Clinica, compreso un Settore di Urgenza.

(1) European Committee for Clinical Laboratory Standards. Guidelines for the evaluation of analyzers in clinical chemistry, 3rd.draft. Berlin:Beuth Verlag GmbH, ECCLS document. Vol. 3, n.2, 1986.

G114

Barozzi D., Beati C., Fugazza A.R., Bresciani M., Acerbis F., Pizzi L., Spotti E., Ferrari L.

CONFRONTO FRA STRUMENTI IN UN LABORATORIO D'URGENZA: INTEGRA 700 E MODULAR PP

Istituto di Patologia Clinica settore Urgenze – Azienda Ospedaliera "Istituti Ospitalieri" – Viale Concordia 1 – 26100 Cremona

Sono stati confrontati tra loro un "Integra 700" ed un "Modular PP Roche" per valutare la correlazione dei due strumenti e la loro precisione. Le chimiche confrontate sono: Urea, Sodio, Potassio, Cloro, Glucosio, Creatinina, Bilirubina Totale, Bilirubina Diretta, Ast, Alt, Ck, Ck.Mb, Calcio, Amilasi, Colinesterasi. L'indice di correlazione calcolato su 67 campioni per chimica, è il seguente:

INTEGRA/MODULAR	r
UREA	0.967
SODIO	0.929
POTASSIO	0.997
CLORO	0.979
GLUCOSIO	0.997
CREATININA	0.992
BIL.TOT.	0.989
BIL.DIR.	0.992
AST	0.9998
ALT	0.9998
CK	0.998
CK-MB	0.986
CALCIO	0.941
AMILASI	0.982
COLINESTERASI	0.9992

I C.V. sono stati calcolati su 21 determinazioni sui 2 controlli normali e patologici usati per il Q.C.S. interno. i seguenti:

	INTEGRA 700		MODULAR PP					
	N. Serie	T. Serie	N. Serie	T. Serie				
	N	P	N	P	N	P	N	P
UREA	3.0	3.2	3.4	3.3	0.1	0.8	0.9	0.9
SODIO	0.7	1.0	3.4	3.4	0.8	1.0	0.8	1.1
POTASSIO	1.0	1.6	1.3	1.8	0.7	0.4	0.7	0.45
CLORO	1.3	1.7	1.5	1.9	0.6	1.5	0.7	1.6
GLUCOSIO	1.8	1.6	2.2	1.9	1.3	1.3	1.4	1.3
CREATININA	2.0	2.0	2.2	2.3	2.1	2.5	2.3	2.6
BILIRUBINA TOT.	3.0	3.6	3.4	4.3	4.0	4.5	4.8	5.5
BILIRUBINA DIR.	4.5	4.0	7.0	6.8	2.0	3.0	2.4	3.2
AST	2.7	3.6	3.0	4.4	2.0	1.2	2.6	1.4
ALT	2.0	3.8	2.9	4.9	1.7	1.5	1.9	1.5
CK	3.0	4.7	3.3	5.7	2.0	1.2	2.5	1.2
CK-MB			3.5	3.9		3.0		5.0
CALCIO	1.4	1.5	1.6	1.3	2.7	3.0	2.9	3.2
AMILASI	2.7	3.2	3.7	4.1	2.5	1.0	2.8	1.05
COLINESTERA	3.0	3.3	3.9	4.1	1.2	1.3	1.4	1.4

La correlazione ha dato valore di r molto buono per alcune chimiche, per altre accettabile e non accettabile per il Sodio (0.929). I CV nella serie e tra le serie sono al di sotto dei valori raccomandati. Solo la bilirubina dir. eseguita sull'Integra700 ha un valore piuttosto elevato, probabilmente dovuto alla conservazione dei controlli che una volta scongelati vengono usati per 2 o 3 giorni; infatti i CV nella serie sono sensibilmente più bassi.

Bibliografia K. Spandrio-Manuale di laboratorio 1985.