

## APPROPRIATEZZA DELLE RICHIESTE DI INDAGINI MICROBIOLOGICHE TRADIZIONALI

H-01

**F. Pirali**

Laboratorio Patologia Clinica, Ospedale S. Orsola Fatebenefratelli Brescia

*Scopo del lavoro.* Le nuove metodologie molecolari che sono state introdotte nel Laboratorio di Microbiologia Clinica, rischiano di far passare in secondo piano le indagini tradizionali, la cui richiesta rischia di essere sempre più effettuata in modo superficiale e senza fornire un univoco e specifico quesito clinico. Tale atteggiamento può portare a risposte non coerenti con le esigenze del curante ed in alcuni casi ad uno spreco di risorse per l'esecuzione di identificazione e/o antibiogrammi che in presenza di un chiaro quesito potrebbero essere evitati. In questa ottica è sembrato utile fare una valutazione della appropriatezza delle richieste di indagini microbiologiche sia in termini di completezza che di qualità (chiarezza del quesito clinico) nell'attività di in Ospedale Generale.

*Materiali e Metodi.* È stato preso in considerazione l'insieme delle richieste di esami microbiologici pervenuti al Laboratorio di Patologia Clinica dell'Ospedale S. Orsola di Brescia, un ospedale generale "classificato" con circa 400 posti letto. Le richieste sono state catalogate in 4 classi: 1) complete 2) incomplete ma sufficienti a ipotizzare il quesito clinico 3) incomplete ed insufficienti ad orientare il microbiologo 4) con solo anagrafica.

*Risultati.* Sono state esaminate 256 schede di richiesta di esami microbiologici provenienti dai vari Reparti dell'Ospedale S.Orsola che sono state suddivise nelle varie classi di appropriatezza. Il 57.8% delle richieste è risultata compilata in maniera completa o comunque sufficiente ad indirizzare il microbiologo verso la migliore esecuzione dell'esame e la sua più corretta interpretazione. Nei restanti casi le richieste non hanno consentito di individuare un univoco quesito clinico. I comportamenti riguardo l'appropriatezza delle richieste sono risultati diversi nei vari Reparti nel senso che alcuni si sono comportati correttamente in più dell'85% dei casi; altri, pur inviando più del 50% di richieste complete, potrebbero essere più accurati e dare dati più rilevanti all'individuazione del quesito clinico, altri infine sono assolutamente insufficienti. L'indicazione della eventuale terapia antibiotica è risultata presente nel 40% dei casi.

*Discussione e Conclusioni.* In conclusione i risultati della nostra indagine hanno documentato una certa superficialità nella compilazione della richiesta suggerendo di intraprendere un percorso di informazione su alcuni reparti per i quali la semplice conoscenza dei risultati dell'indagine potrebbe essere sufficiente al raggiungimento di migliori standard di appropriatezza di richiesta ed un percorso più approfondito di informazione e formazione sulle modalità di richiesta degli esami per gli altri che avevano percentuali di appropriatezza di richiesta assai basse.

## CONTENIMENTO DELLE NON CONFORMITÀ IN ACCETTAZIONE CAMPIONI BIOLOGICI: UNA SOLUZIONE INFORMATICA

H-02

**G. Catanoso, S. Galmarini, A. Perini**

Laboratorio Analisi. P.O. di Tradate (VA) - A.O. "Ospedale di Circolo di Busto Arsizio"

*Scopo del lavoro.* Valutare se, fornendo alle UU.OO. un supporto informatico di facile uso ed immediato impatto visivo, si otteneva una diminuzione delle Non Conformità (NC) nell'accettazione dei campioni biologici.

*Materiali e metodi.* Sul server del Presidio Ospedaliero è stato installato un programma, in linguaggio HTML, per la gestione "Prodotto Laboratorio". È stata creata una lista degli esami con a lato l'immagine fotografica del tipo di provetta/contenitore/tampone/etc. da utilizzare e, se necessari, con le indicazioni, per ciascun esame, di eventuali modalità particolari di raccolta, conservazione ed invio al Laboratorio. Le UU.OO. collegate hanno avuto la possibilità di ricercare tramite parola chiave un dato esame e le informazioni ad esso connesse. Il programma era aggiornato, quando necessario, dal Laboratorio e segnalato in tempo reale alle UU.OO. Per evitare l'utilizzo da parte delle UU.OO. di informazioni non aggiornate non è stata data alle stesse la possibilità di stampa.

*Risultati.* Lo studio è stato applicato a 3 UU.OO. (A;B;C) aventi un alto numero di NC in accettazione. Nel II° sem. 2003 le NC in ACC. erano state per la U.O. A 7.8%, per la B 8.3%, per la C 7.2%. Nel mese di gennaio 2004 il programma è stato installato ed applicato. Le NC del I° sem. 2004 sono passate per la U.O. A 5.4%, per la B 6.1%, per la C 6.2%. Estrapolando i dati delle NC del II° sem. 2004 (ovvero dopo un congruo periodo di rodaggio) le percentuali scendono rispettivamente a: 2.3%, 2.7%, 2.9%.

*Discussione e conclusioni.* La diminuzione della NC si è dimostrata sicuramente significativa sia in termini numerici, sia in termini di soddisfazione da parte del personale delle UU.OO. coinvolte e del personale di Laboratorio. Entro l'anno 2004 il programma sarà applicato a tutte le UU.OO. La diminuzione delle NC deve rappresentare un importante obiettivo del Laboratorio poiché l'eventuale ripetizione del prelievo può incidere pesantemente sia sull'utilità diagnostica sia sui costi per l'allungamento dei tempi di degenza.

## CHECKLIST PER LA SICUREZZA DEL LABORATORIO SECONDO LO STANDARD NCCLS GP17-A

H-03

**P. Rizzotti, A. Ferrari, G. Dall'Olio \*, RM. Dorizzi**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera Verona; \*Laboratorio Analisi, Ospedale S.Bortolo, Vicenza

*Introduzione.* Sulla base della checklist contenuta nello Standard NCCLS GP17-A è stata preparata una checklist secondo il Sistema Qualità Aziendale per la gestione della Sicurezza del Laboratorio.

*Scopo del Lavoro.* Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di verificare:

- conoscenza di quanto previsto dal Manuale della Sicurezza da parte del personale;
- documentazione dell'attuazione del Programma per la Sicurezza;
- rispetto delle procedure di gestione dei campioni e delle apparecchiature;
- assicurazione che le azioni correttive necessarie vengano attuate.

*Materiali e Metodi.* È stata preparata una checklist costituita da 122 item che prevede le risposte SI, NO, NON SO e NON APPLICABILE alle affermazioni/domande e, in alcuni casi, l'inserimento di commenti. Tutto il personale ha partecipato a riunioni in cui la checklist è stata presentata ed è stata pianificata la fase operativa. Ogni settore ha dato una risposta unitaria (nel corso per lo più di due incontri di un'ora) agli item della checklist tutte le volte che è stato raggiunto un "accordo"; in alternativa sono stati indicate le diverse risposte. L'elaborazione delle risposte alla checklist è stata comunicata a tutto il personale e ne è stata presentata una relazione dettagliata al Direttore del Laboratorio, che intraprenderà le misure correttive più opportune.

*Risultati.* La compilazione della checklist è stata completata in una settimana. L'esame delle risposte ha dimostrato:

1. esigenza di intraprendere corsi di aggiornamento su argomenti specifici;
2. persistenza di un certo grado di "inconsistenza" di atteggiamento nei confronti dello stesso tipo di rischio che si presenti in situazioni e/o settori diversi;
3. difficoltà di mantenere e rispettare un percorso pulito per i visitatori del laboratorio;
4. nonostante i recenti ed importanti adeguamenti strutturali attuati, sono stati raccomandati ulteriori interventi;
5. sono state raccomandate alcune integrazioni e modifiche alla checklist anche se viene ritenuta una via adeguata ed efficace per monitorare la sicurezza in laboratorio.

*Discussione e conclusioni.* L'esperienza è stata positiva ed ha coinvolto tutto il personale del laboratorio. Nonostante qualche obiezione sul numero e sulla ridondanza degli item, è risultato uno strumento utile. La modalità in cui il questionario è stato somministrato (riunioni plenarie e lavoro in piccoli gruppi) ha costituito un momento di confronto e dibattito di tutto il personale sui temi cruciali della sicurezza nel laboratorio consentendo di documentare ai fini di certificazione/accreditamento l'attenzione della direzione e del personale del laboratorio sul problema della Sicurezza.

## INDICATORI DI QUALITÀ: QUALCOSA PUÒ NON FUNZIONARE TRA DIPARTIMENTO, UNITÀ OPERATIVE ED ENTE DI CERTIFICAZIONE

H-04

**A. Anesi, F. Pavesi**

A.O. della Provincia di Lodi, Dipartimento di Patologia Clinica, Struttura Laboratorio Analisi di Lodi

Nel Dipartimento di Patologia Clinica della provincia di Lodi, certificato UNI EN ISO 9001:2000, i laboratori di Lodi, Codogno e Casalpusterlengo, condividono un pannello di 60 indicatori suddivisi per profili come misure di efficacia ed efficienza dei processi in conformità alla norma.

*Scopo del lavoro:* è di analizzare le difficoltà emerse nell'utilizzo degli indicatori e gli errori commessi a dispetto dell'assenza di non conformità riscontrate dall'ente di certificazione durante la visita ispettiva di sorveglianza (inizio 2004) per i paragrafi 8: Misurazioni, Analisi e Miglioramento e 5 della norma: Responsabilità della Direzione.

Dall'analisi retrospettiva dei dati presenti nel verbale di riesame della Direzione e relativi all'anno 2003, gli indicatori misurati nei tre laboratori sono stati il 96,6%, 53,5%, e 45% di quelli identificati nel pannello, rispettivamente. Nei due laboratori con percentuali inferiori il 30% e il 35% del totale degli indicatori non sono stati elaborati per difficoltà di raccolta dati (il 53% se l'analisi viene riferita al solo profilo degli indicatori di attività); gli indicatori invalidati da errori nella gestione dei dati sono stati il 16,5% e il 20% (5% e 6,6% nella modalità di elaborazione; 11,5% e 13,4% nella precisione, rispettivamente). Un indicatore del pannello si è rivelato inappropriato per scarsa utilità rispetto al problema. Per una valutazione complessiva del sistema di gestione della qualità a livello dipartimentale gli indicatori efficaci risultano il 41,5% del totale di quelli identificati, mentre riferendosi agli indicatori di attività solo il 23,5% di quelli identificati nel profilo permette il monitoraggio degli aspetti gestionali.

Le possibili cause del sostanziale insuccesso degli indicatori come strumento di monitoraggio e valutazione della qualità a livello dipartimentale sono individuabili nella raccolta dei dati sbagliata o non univoca; mancata elaborazione dei dati da parte dei referenti degli indicatori; mancanza di indicazioni di un valore bersaglio; non definizione di momenti di verifica dei risultati; difficoltà nel valutare tutti gli elementi in un singolo riesame; mancanza di strumento informatico per la raccolta e archivio dati relativa agli indicatori di tutto il dipartimento; debole leadership nella gestione qualità dipartimentale; non definizione di momenti di comunicazione delle informazioni alle strutture sovra-ordinate (assicurazione qualità aziendale, controllo di gestione, direzione generale); non valutazione delle performance degli indicatori da parte dell'ente di certificazione (last but not least). Come obiettivi di miglioramento ci siamo proposti di aumentare i dati che caratterizzano ogni indicatore (carta d'identità); lavoro di gruppo dei responsabili della qualità di struttura; aumentare la frequenza dei riesami nel corso dell'anno; invitare le funzioni sovra-ordinate a partecipare al riesame finale. La misura di un fenomeno per essere efficace non può essere disgiunta da un giudizio sui risultati. In questo senso la revisione fra pari potrebbe assicurare all'utente maggiori garanzie di miglioramento continuo.

**IL MANUALE DEGLI ESAMI DI LABORATORIO****H-05****M. Del Fiacco<sup>1</sup>, C. A. Felicetti<sup>1</sup>, R. Bellocchi<sup>1</sup>, L. De Fino<sup>1</sup>, C. G. Gesualdi<sup>1</sup>, S. La Rocca<sup>2</sup>**<sup>1</sup>U.O.S. Patologia Clinica Valle Fiorita, <sup>2</sup>U.O.C. Patologia Clinica, Az. Osp. S. Filippo Neri, Roma

*Scopo del lavoro.* L'elaborazione e la redazione del "Manuale degli esami di laboratorio" per gli utenti interni. Questo è un documento che fa parte del Manuale della Qualità del laboratorio, esso è uno strumento importante per l'interazione del laboratorio con le varie funzioni aziendali che usufruiscono dei suoi servizi, per questo è opportuno che sia elaborato con attenzione. Per quanto si comincino ad utilizzare nelle aziende sanitarie le nuove tecnologie di comunicazione, come le intranet e World Wide Web, queste non sono accessibili a tutti, e così un manuale cartaceo per l'utilizzatore si rende necessario per molti laboratori.

*Materiali e metodi.* Realizzare un manuale cartaceo per gli utenti interni del laboratorio, dopo aver stabilito i contenuti più opportuni da inserire, implica un'attenta opera di progettazione grafica, per la dimensione e la struttura del manuale. Il contenuto deve essere centrato sui vari tipi di utenti cui si rivolge, in modo che sia in grado di rispondere alle loro preferenze e necessità. Il fine, è quello di migliorare l'efficienza e l'efficacia dell'operatività del laboratorio stesso per realizzare un prodotto che risponda alle esigenze degli utenti interni, e quindi di garantire un servizio di qualità.

*Risultati.* È stato ideato un manuale cartaceo non troppo voluminoso, di facile ed agile consultazione, tenendo anche presenti precedenti esperienze nell'elaborazione di documenti di questo tipo. Esso oltre a contenere il repertorio alfabetico degli esami con le specifiche di prodotto per esame (modalità del prelievo, colore e tipo di provetta, tempo di refertazione, ecc.), e le modalità d'accesso ai servizi contiene notizie sull'organizzazione e la tecnologia presente nell'U.O. del laboratorio: staff dell'U.O. e modalità di contatto, sezioni del laboratorio con i relativi esami, modalità di lavoro urgenza/routine, modalità particolari di prelievo, rassegna delle provette e dei contenitori per i prelievi, dotazione strumentale e metodologie utilizzate, e principali profili e linee guida per la richiesta degli esami. Per i dettagli sul manuale si rimanda alla presentazione del poster in area congressuale.

*Conclusioni.* L'elaborazione e la pubblicazione del Manuale degli Utilizzatori così ideato rappresenta un momento importante non solo per l'operatività del laboratorio, per una migliore erogazione e fruibilità del servizio, ma anche un'opportunità di valorizzazione delle risorse impiegate nell'U.O. nelle relazioni con i propri utenti e nella costruzione di una valida immagine del servizio. Ed è inoltre un tentativo per favorire l'integrazione con le varie U.O. aziendali che interagiscono con il laboratorio.

**DALL'UTENTE INTERNO LE INFORMAZIONI PER IL MIGLIORAMENTO CONTINUO****H-06****A. Anesi, P. Esposito, C. Fontanella, A. Fornaroli, A. Montani, F. Pavesi**

Dipartimento di Patologia Clinica, A.O. della Provincia di Lodi

*Scopo del lavoro.* Valutare la soddisfazione di medici e caposala degli ospedali di Lodi, S. Angelo Lodigiano, Codogno e Casalpusterlengo, utenti del Dipartimento di Patologia Clinica.

*Materiale e metodi.* Nel 2003 sono stati somministrati 54 questionari di soddisfazione (1 per reparto). Il questionario è strutturato in 17 items, generati da un focus group con il personale clinico. Viene utilizzata la scala Likert con 5 modalità di risposta. L'attendibilità della scala è stata calcolata mediante alpha di Cronbach e l'associazione degli items con il costrutto mediante il coefficiente di Greenacre.

*Risultati.* La restituzione è stata dell'85%. Nel grafico sottostante vengono riportati i customer indices dei principali items (dati non stratificati). Il 40% dei clinici ritiene che i servizi siano migliorati dopo la certificazione, il 55% non ha notato differenze, il 30% non ritiene necessario un servizio di consulenza del laboratorio per la scelta e l'interpretazione degli esami.

*Discussione e conclusioni.* Il questionario permette la valutazione delle dimensioni della qualità di un servizio; ha reso necessarie azioni di miglioramento in 2 laboratori per quanto riguarda la comunicazione con i reparti e il rispetto della privacy. La modulistica di richiesta, critica a livello dipartimentale, prevede un intervento proattivo a livello aziendale (informatizzazione). Sono in atto azioni di ridimensionamento e consolidamento per migliorare le prestazioni e i tempi di consegna.

**IMPRECISIONE DEL SISTEMA ANALITICO StreamLAB: ANALISI RETROSPETTIVA****H-07****C. Lo Cascio, C. Cocco, A. Pretto, M. Bertolani, M. Marini, M. Graziani, P. Rizzotti**

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

*Scopo del lavoro.* Valutare l'imprecisione analitica di un sistema di chimica clinica comprendente 8 analizzatori.*Materiali e metodi.* Sono stati elaborati i risultati del CQI (MONITROL Dade Behring) per un periodo di 7 mesi su 2 sistemi StreamLAB (Dade Behring) costituiti ciascuno da una stazione preanalitica e 4 strumenti Dimension RxL. I CVa ottenuti sono stati classificati sulla base della variabilità biologica secondo Fraser. Gli analiti al di fuori delle specifiche sono stati ulteriormente valutati sulla base degli elaborati del VEQ, e dei dati ricavabili dai controlli intermacchina (pool processati periodicamente su tutti gli strumenti)*Risultati.* La tabella raggruppa gli analiti sulla base dei CVa.*Discussione e conclusioni.* Relativamente agli analiti al di fuori delle specifiche di Fraser, si considerano ugualmente soddisfacenti quelli che presentano CV in linea con quelli desunti dal VEQ, indicando che lo stato dell'arte non permette prestazioni migliori, e quelli che presentano CV intermacchina (CVaIM) all'interno delle specifiche di Fraser, indicando un possibile problema di matrice o di non corretta gestione del CQI; rimane da approfondire il comportamento di Na e Cl, per i quali è opportuno un più stringente controllo.

Ottimale (CVa<0.25 CVbi)	Desiderabile (CVa<0.5 CVbi)	Minimo (CVa<0.75 CVbi)	Specifiche non soddisfatte (CVa>0.75 CVbi)		
				CV VEQ> CVa	CVa IM <0.75 CVbi
ALT	AMY	Ac urico	Albumina		X
CK	bil dir	AST	ALP	X	
lattato	CHE	Bilirubina tot	Ca	X	
PCR	Colesterolo	CKMB	Cl		
Trigliceridi	Fe	LDH	Colesterolo HDL		X
	GGT		Mg	X	
	Glucosio		Na		
	K		Proteine		X
	LIP		Creatinina	X	
	P				
	urea				

**VALUTAZIONE DI UN NUOVO METODO AUTOMATIZZATO FLUOROIMMUNOENZIMATICO (FEIA-ELIA) PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ANCA****H-08****A. Radice, C. Corace, R.A. Sinico**

Nefrologia e Immunologia, Osp. S. Carlo, Milano

Gli ANCA sono un importante ausilio diagnostico per le vasculiti sistemiche ANCA-associate (VSAA). Pur essendo disponibili numerosi sistemi ELISA commerciali per il loro dosaggio non esiste un'accettabile standardizzazione dei kits proposti.

*Scopo del lavoro.* Valutare la "performance" diagnostica del nuovo sistema FEIA-EliA per la ricerca degli ANCA specifici per la proteinasi 3 e la mieloperossidasi (PR3- e MPO-ANCA).*Materiali e metodi.* Sono stati studiati 129 campioni di siero di 71 pz affetti da VSAA clinicamente ed istologicamente accertate, 58 contr. patol. e 35 contr. sani. Inoltre, PR3 e MPO-ANCA sono stati ricercati in IFI su granulociti fissati in etanolo e mediante un sistema ELISA "home made". Il cut-off è stato scelto dopo analisi delle curve ROC, confrontando i pazienti con VSAA e i contr. patol.*Risultati.* Sensibilità e specificità dei test sono riassunte in tabella. Le variazioni intra e inter-assay erano attorno al 10%. La concordanza EliA-ELISA risultava 0.88 sia per PR3 che per MPO-ANCA.*Discussione e Conclusioni.* Il sistema EliA automatizzato per la determinazione degli ANCA possiede elevata sensibilità ed eccellente specificità, con una "performance" altrettanto buona dei classici PR3 e MPO-ANCA ELISA "home made" utilizzati nel nostro laboratorio da più di 10 anni.**SENSIBILITÀ %**

	N°	ELISA-PR3	EliA-PR3	ELISA-MPO	EliA-MPO	ELISA-PR3 o MPO	EliA-PR3 o MPO
VSAA	71	23.9	25.4	49.3	52.1	76.1	76.1
WG	27	51.9	51.9	25.9	22.2	77.8	74.1
MPA	32	9.4	12.5	68.8	75.0	78.2	87.5
CSS	12	0.0	0.0	50.0	58.3	50.0	58.3

**SPECIFICITÀ %**

Contr. patol.	58	98.3	96.6	98.3	98.3	96.6	94.8
Contr. sani	35	100	100	100	100	100	100

## VALUTAZIONE DI UN METODO CEDIA PER LA DETERMINAZIONE DELLA BUPRENORFINA

H-09

**G. Devoto, G. Albalustri, R. Arsenio, C. Giovannacci**

Laboratorio Analisi Lavagna (GE)

*Scopo del lavoro.* Valutazione di una metodica CEDIA per la determinazione della Buprenorfina.  
*Materiali e metodi.* Abbiamo arruolato 46 pazienti in trattamento con Buprenorfina (Veri Positivi) e 100 pazienti non in trattamento (Veri Negativi). Abbiamo valutato: 1) la concordanza tra i due metodi 2) la Ripetibilità e Riproducibilità del metodo CEDIA 3) la correlazione tra il dosaggio farmacologico e le concentrazioni plasmatiche misurate con il metodo CEDIA. I campioni sono stati testati con i seguenti metodi: 1) ELISA single step qualitativo (cutoff 5 ng/mL) della ditta Diagnostix Ltd con metodica applicativa su DSX (Bouty) 2) CEDIA (cutoff 5 ng/mL) della ditta Microgenics applicato su analizzatore di chimica clinica AU400 (Olympus).

*Risultati.* Abbiamo ottenuto:

- 1) il 100% di concordanza tra i due metodi utilizzati sia sui campioni veri positivi che sui veri negativi
- 2) RIPETIBILITÀ: C.V. 5.3%; RIPRODUCIBILITÀ: C.V. 5.6%
- 3) Esiste una correlazione solamente per dosaggi farmacologici superiori ai 4 mg die (figura 1).

*Discussione e conclusioni.* I risultati ottenuti dimostrano le ottime performance analitiche del metodo CEDIA che permette di ottimizzare il Turnaround time (da 15 giorni a 24 ore). L'utilità clinica del dosaggio semiquantitativo sarà oggetto di studio ad hoc.

## DETERMINAZIONE DI LAMOTRIGINA SIERICA IN HPLC

H-10

**P. Gregori, E. Gianoli, B. Biasioli**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio-Azienda Ospedaliera Universitaria  
 "Ospedali Riuniti" Trieste-Laboratorio di Ricerche Cliniche

*Scopo del lavoro.* La Lamotrigina è un farmaco anticonvulsivante che può essere somministrato con diversi schemi terapeutici, sia in monoterapia che in associazione con altri farmaci antiepilettici induttori enzimatici (quali fenobarbital e carbamazepina) o inibitori enzimatici (come il valproato). L'ottimizzazione della posologia si basa sul raggiungimento e sul mantenimento del controllo delle manifestazioni cliniche: se è vero che non è stato ancora determinato un range terapeutico correlato in modo sicuro al controllo delle manifestazioni convulsive, è anche vero che il TDM risulta di estrema utilità per valutare la compliance del paziente, l'efficacia dei protocolli terapeutici basati sulla politerapia e nella diagnosi differenziale qualora insorgano effetti collaterali che potrebbero essere imputabili al farmaco.

*Materiali e Metodi.* L'analisi in HPLC viene effettuata su colonna RP 18, 5 µm, 250-4. Fase mobile: acetonitrile 30% - tampone (tetrabutylammonioiodrossido 25% in acqua 2 mL + 2 mL acido perclorico 72%, portati a 1 L con acqua) 70%, flusso 1 mL/min, iniezione del surnatante 20 µL, lettura a 220 nm. 200 µL di campione, o di controllo vengono deproteinizzati con acetonitrile 300 µL e 50 µL di soluzione acquosa al 10% di zinco solfato in presenza di fenitoina come standard interno. La calibrazione viene fatta con sieri di donatori già testati con aggiunte scalari di Lamotrigina.

*Risultati.* Abbiamo effettuato i cromatogrammi su 15 pazienti in monoterapia e su 21 in politerapia dove la Lamotrigina era associata a Carbamazepina: effettuando la lettura a nm 220 col sistema cromatografico proposto non c'è presenza del metabolita della Carbamazepina (10,11-epossido), realizzando così una corretta determinazione della lamotrigina.

*Discussione e Conclusioni.* Il metodo in HPLC proposto, rapido, affidabile, di costo estremamente ridotto, permette di effettuare la determinazione della Lamotrigina con lettura ad un'unica lunghezza d'onda evitando le interferenze dovute al principale metabolita della Carbamazepina nel caso della politerapia.

**DETERMINAZIONE DI LAMOTRIGINA SERICA IN HPLC****H-11****P. Gregori, E. Gianoli, B. Biasioli**

Dipartimento di Medicina do Laboratorio-Azienda Ospedaliera Universitaria  
 "Ospedali Riuniti" Trieste-Laboratorio di Ricerche Cliniche

*Scopo del lavoro.* La Lamotrigina è un farmaco anticonvulsivante che può essere somministrato con diversi schemi terapeutici, sia in monoterapia sia in associazione con altri farmaci antiepilettici induttori enzimatici (quali fenobarbital e carbamazepina) o inibitori enzimatici (come il valproato). L'ottimizzazione della posologia si basa sul raggiungimento e sul mantenimento del controllo delle manifestazioni cliniche: se è vero che non è stato ancora determinato un range terapeutico correlato in modo sicuro al controllo delle manifestazioni convulsive, è anche vero che il TDM risulta d'estrema utilità per valutare la compliance del paziente, l'efficacia dei protocolli terapeutici basati sulla politerapia e nella diagnosi differenziale qualora insorgano degli effetti collaterali che potrebbero essere imputabili al farmaco.

*Materiali e Metodi.* L'analisi in HPLC è effettuata su colonna RP 18, 5 m, 250-4. Fase mobile: acetonitrile 30%-tampone (tetrabutylammonio idrossido 25% in acqua 2mL+2mL acido perclorico 72% portati a 1L con acqua) 70%. Flusso 1 mL/min, iniezione del surnatante 20 mL, lettura a 220 nm.

200mL di campione o di controllo vengono deproteinizzati con acetonitrile mL 300 e mL 50 di soluzione acquosa al 10% di solfato di zinco in presenza di fenitoina come standard interno. La calibrazione è fatta con sieri di donatori, già testati, con aggiunte scalari di Lamotrigina.

*Risultati.* Abbiamo effettuato i cromatogrammi di 15 pazienti in monoterapia e su 21 in politerapia dove la Lamotrigina era associata a Carbamazepina: effettuando la lettura a nm 220 col sistema cromatografico proposto non c'è presenza del metabolita della Carbamazepina (10,11-epossido), realizzando così una corretta determinazione della Lamotrigina.

*Discussione e Conclusioni.* Il metodo in HPLC proposto, rapido, affidabile, di costo estremamente ridotto, permette di effettuare la determinazione della Lamotrigina con lettura ad un'unica lunghezza d'onda evitando le interferenze dovute al principale metabolita della Carbamazepina nel caso della politerapia.

**DETERMINAZIONE DI TEICOPLANINA SERICA IN HPLC****H-12****P. Gregori, E. Gianoli, B. Biasioli**

Dipartimento di Medicina do Laboratorio-Azienda Ospedaliera Universitaria  
 "Ospedali Riuniti" Trieste-Laboratorio di Ricerche Cliniche

*Scopo del lavoro.* Presentiamo un metodo di dosaggio della Teicoplanina in HPLC che si propone per economicità, semplicità e rapidità. La Teicoplanina è un antibiotico da somministrare per via parenterale e viene escreta immodificata con le urine. La Teicoplanina è un glicopeptide che trova la sua collocazione come alternativa alla Vancomicina rispetto cui risulta meno tossica e pertanto d'utilizzo più maneggevole; è comunque a sua volta potenzialmente nefrotossica e risulta pertanto d'estrema utilità il monitoraggio della terapia, soprattutto per quei pazienti in cui vi sia un aumento del rischio di nefrotossicità per insufficienza renale anche funzionale, concomitante assunzione di farmaci nefrotossici, età avanzata. Il TDM consente pertanto di ottimizzare la dose in funzione della clearance renale.

*Materiali e Metodi.* Sono stati confrontati i tassi ematici di 56 campioni di pazienti in terapia con Teicoplanina confrontando i risultati ottenuti utilizzando il kit commercializzato da TEMA su TdxFlx Abbot e quelli determinati con la metodica in HPLC proposta. 400 mL di campione addizionato da 50 mL di soluzione di fenitoina (standard interno) vengono deproteinizzati con acetonitrile mL 500. Dopo la digestione e la centrifugazione del precipitato, il surnatante viene sottoposto a cleanup con 2 mL di cloroformio per inversione. Il surnatante, dopo centrifugazione viene diluito con ulteriori 100 mL di metanolo ed iniettato (30 mL) in HPLC. HPLC: colonna RP 8, 5 m, (LiChroCART 250-4, Hewlett Packard), flusso 1,3 mL/min, lettura UV a 210 nm. Fase mobile: acetonitrile 22%/tampone fosfato ( $\text{Na}_2\text{PO}_4$  2,0g/L, pH 5) 78%. Utilizzare per la calibrazione quelli forniti dalla TEMA. RT: fenitoina 16, Teicoplanina  $A_{2,2}^* 5$ , (cloroformio 22). \* su proposta di J. Levy & et al., J. Antimicrobial Chemotherapy, (1987), 19, 533-539.

*Risultati.* Il confronto tra le due serie di risultati ha evidenziato ( $r=0,9888$ ) ottima correlazione tra i dati ottenuti con le metodiche messe a confronto. Il valore  $t$  di Student sulle differenze indica altresì l'affidabilità della procedura proposta ( $t_p 0,05 = 2,00$ , il valore calcolato è stato 2,1518).

*Discussione e Conclusioni.* Il metodo in HPLC si presta molto bene per l'utilizzo routinario per praticità, velocità, affidabilità e costo estremamente ridotto, consentendo inoltre di evitare le possibili interferenze analitiche cui sono esposti i metodi immunoenzimatici.

## APPARENTE IPERDOSAGGIO DI TEICOPLANINA PER CONCOMITANTE ASSUNZIONE DI SULFAMETOSSAZOLO E TRIMETOPRIM: UN CASO

H-13

**E. Gianoli, P. Gregori, B. Biasioli**

Dipartimento di Medicina do Laboratorio-Azienda Ospedaliera Universitaria  
"Ospedali Riuniti" Trieste-Laboratorio di Ricerche Cliniche

**Scopo del lavoro.** Presentiamo il caso di un campione, inviatoci dalla S.C. di Malattie Infettive, in cui abbiamo riscontrato un valore elevatissimo di teicoplanina-antibiotico glicopeptidico con indicazioni terapeutiche sovrapponibili a quelle della vancomicina – non giustificabile dalla posologia né dalla funzionalità renale del paziente, ma concomitante invece con la modifica della terapia: il paziente era stato precedentemente trattato con teicoplanina e rifampicina ed i dosaggi della teicoplanina risultavano sempre entro il range terapeutico; quindi la rifampicina era stata sostituita dall'associazione sulfametossazolo-trimetoprim.

**Materiali e Metodi.** Presso il nostro Laboratorio il dosaggio ematico della teicoplanina viene espletato con metodica HPLC: 400 mL di campione addizionato di 50 mL di fenitoina (standard interno) vengono deproteinizzati con 500 mL di acetonitrile. Dopo la digestione e la centrifugazione del precipitato, il surnatante viene sottoposto a cleanup con 2 mL di cloroformio per inversione: il surnatante, dopo centrifugazione, è ripreso con ulteriori 100mL di metanolo ed iniettato (30 mL) in HPLC; colonna RP 8, 5 m, flusso 1,3 mL/min, lettura UV a 210 nm. Fase mobile: Acetonitrile 22%/tampone fosfato( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 2,0 g/L, pH 5) 78%. Abbiamo allestito uno standard con i composti in questione e l'analisi HPLC ha confermato l'ipotesi di un'interferenza cromatografica: il picco del sulfametossazolo si sovrapponeva a quello della Teicoplanina. Abbiamo pertanto ricercato una modifica della metodica che consentisse una diversa migrazione dei composti in causa.

**Risultati.** Abbiamo modificato la composizione della Fase Mobile della metodica, portando il tampone fosfato a 80%, ottenendo così la separazione dei picchi attesi.

**Discussione e Conclusioni.** Il metodo in HPLC, oltre a prestarsi molto bene per l'utilizzo routinario per praticità, velocità, affidabilità e costo estremamente ridotto, permette inoltre di evidenziare eventuali interferenze analitiche.

## VALUTAZIONE COMPARATIVA DEL DOSAGGIO DEGLI ANTICORPI ANTI-PROTEINASI3 (PR3) E ANTI-MIELOPEROSSIDASI (MPO) CON SISTEMA ANALITICO ELISA TRADIZIONE E CON SISTEMA BIOONE

H-14

**C. Bonaguri, A. Russo, L. Battistelli, R. Rossi, R. Perini, E. Roncari, D. Bonfanti, C. Monica**

Dip. Diagnostica di Laboratorio, Lab. Analisi Emato-Chimiche, Azienda Osp. Parma

**Scopo del lavoro:** Il costante incremento delle richieste nella diagnostica di laboratorio dell'Autoimmunità rende auspicabile validare sistemi analitici innovativi capaci di ottimizzare la flessibilità del lavoro e i tempi di risposta. Scopo della ricerca è stato testare un nuovo sistema ELISA che prevede l'utilizzo di micropiastre rivestite con streptoavidina e di antigeni biotinilati in fase liquida.

**Materiali e Metodi:** Lo studio ha valutato i livelli di anticorpi anti-PR3 e anti-MPO nel siero di 43 pazienti. Per tutti i sieri è stato definito il quadro fluoroscopico (c-ANCA/p-ANCA) su granulociti umani fissati in etanolo. Gli anticorpi anti-PR3 e anti-MPO sono stati dosati a) con un sistema ELISA tradizionale con antigeni in fase solida (Fenning/Alifax); b) con un sistema ELISA alternativo che utilizza micropiastre comuni rivestite di streptoavidina, antigeni biotinilati in fase liquida e una curva di calibrazione multiparametrica comune alle differenti metodiche (Bioone/Zentech-Alifax). Sono stati considerati positivi per anti-PR3 e anti-MPO valori maggiori di 10.0 UI/mL e di 6.0 UI/mL per le metodiche Fenning e di 31.0 UI/ml e di 25.0 UI/mL per il sistema Bioone.

**Risultati:** La percentuale di casi concordanti è risultata del 95.3% (41/43) sia per anti-PR3 che per anti-MPO. L'analisi dei campioni discordanti rileva che, mentre per gli anti-MPO si tratta di deboli positivi per il sistema Bioone non suffragati da quadri positivi di fluorescenza, nel caso dell'anti-PR3 i due risultati positivi forniti da Zentech appaiono più congruenti con i risultati della fluorescenza e con precedenti valutazioni ELISA.

**Discussione e Conclusioni:** I dati riportati indicano in generale una buona concordanza fra i risultati ottenuti con il sistema Bioone e con una metodica ELISA tradizionale. Ci sembra opportuno sottolineare la buona performance in termini di sensibilità fornita dal sistema Bioone nel dosaggio degli anticorpi anti-PR3, legata forse allo stato conformazionale dell'antigene in fase liquida non sottoposto a "coating" diretto come nei sistemi ELISA tradizionali.

I dati relativi agli anti-MPO indicano, a nostro avviso, l'opportunità di ottimizzare la purificazione dell'antigene per ovviare alla piccola quota di risposte aspecifiche. Stiamo al momento effettuando valutazioni comparative per altri analiti (Anticorpi anti-dsDNA, anti-Tireoglobulina, anti-Tireoperossidasi e anti-antigeni ENA) nella prospettiva di dosare nella stessa seduta di lavoro su una comune curva multiparametrica e con procedure analitiche comuni piccole serie analitiche diverse con un vantaggio in termini di flessibilità operativa e di tempi di risposta.

**DETERMINAZIONE DEL BNP A CONFRONTO: TRIAGE vs AXSYM****H-15****L. Norese, S. Leoncino, D. Serra, S. Bellotti, E. Intra**

Laboratorio Analisi - Ospedale Evangelico Internazionale - Genova

*Scopo del lavoro.* Il BNP (Brain Natriuretic Peptide) è un ormone prodotto dai tessuti ventricolare e atriale del cuore. Il suo rilascio induce una diminuzione della pressione arteriosa e venosa centrale. Il dosaggio è utilizzato per la diagnosi dello scompenso cardiaco e come indicatore prognostico di sopravvivenza a lungo termine nei pazienti con scompenso cardiaco e con infarto acuto del miocardio. Scopo dello studio è stato quello di confrontare i dati ottenuti con un test rapido a immunofluorescenza (Triage - BNP - Biosite) con quelli di un metodo automatizzato in immunoenzimatica (AxSYM - Abbott).

*Materiali e metodi.* Sono stati analizzati 65 campioni, processati entro 30 minuti dal prelievo con i due analizzatori sopra descritti. Software utilizzati per l'analisi statistica: MedCalc 6.16, Excel 2000.

*Risultati.* Vedi tabella 1.

*Discussione e conclusioni.* L'analisi statistica dimostra una buona correlazione tra Triage e AxSYM. Nella casistica esaminata i campioni che risultano patologici su Triage lo sono anche su AxSYM. I due campioni che sono positivi su Triage e negativi su AxSYM presentano valori borderline su entrambi gli strumenti, come i due campioni positivi su AxSYM e negativi su Triage, (valore soglia = 100 pg/mL).

**Tabella 1.** Statistiche descrittive e test di correlazione Triage vs AxSYM

Statistiche descrittive					
	Campioni	Media	SD	Valore minimo	Valore massimo
<b>Triage</b>	65	422.73	728.96	5	5000
<b>AxSYM</b>	65	512.18	941.07	0	5581
Correlazioni					
<b>R. Pearson</b>	0.959	<b>Intercetta</b>	42.17	<b>T. Student</b>	2.27
<b>Pendenza</b>	0.743	<b>Diff. Fra le medie</b>	89.4	<b>Limiti di concord. al 95%</b>	da 10.7 a 168.2
<b>Test di Wilcoxon</b>	-0.698 P=0.485				

**CONCENTRAZIONE DI PAPP-A E DI CATENA LIBERA BETA DELLA HCG (FBHCG) USANDO KRYPTOR E IMMULITE 2000: VALUTAZIONE SECONDO L'NCCLS EP21-A****H-16****RM. Dorizzi, A. Ferrari, V. Tinelli \*, R. Zanarotti \*, N. Melloni, P. Rizzotti**

Laboratorio Analisi, \*Ostetricia e Ginecologia, OCM, Azienda Ospedaliera di Verona

*Scopo del Lavoro.* Confrontare i risultati ottenuti con Kryptor e Immulite 2000 nella determinazione di PAPP-A e FBHCG usando lo standard NCCLA EP-21.

*Materiali e Metodi.* La concentrazione di PAPP-A e di FBHCG è stata misurata in 173 donne alla 12<sup>o</sup> settimana di gravidanza impiegando reagenti e strumentazione (Kryptor) forniti dalla ditta Brahms (Henningendorf, Germany) e dalla ditta DPC (Los Angeles, CA, USA) (Immulite 2000) usati secondo le raccomandazioni del produttore.

*Risultati.* Kryptor. La mediana della concentrazione di FBHCG e di PAPP-A è risultata rispettivamente di 43.4 KU/L (I.C. 95% 38.0-47.1 KU/L) e di 3.66 KU/L (3.3-4.2 KU/L). Immulite. La mediana della concentrazione di FBHCG e di PAPP-A è risultata rispettivamente di 50.2 KU/L (I.C. 95% 44.0-57.3 KU/L) e di 3.71 KU/L (3.35-3.87 KU/L). L'Errore Totale nella misura di FBHCG e di PAPP-A (misurato secondo l'EP21-A) è risultato compreso rispettivamente tra -17.9 e 2.2 (figura sopra) e tra -10.5 e 7.8 (figura sotto).

*Discussione e conclusioni.* L'EP 21-A consente di dimostrare in modo molto efficiente che PAPP-A, a differenza del FBHCG, è misurato in modo sovrapponibile da Kryptor e Immulite 2000.

## IMPIEGO DEL DOCUMENTO NCCLS EP21-A NELLA STIMA DELL'ERRORE TOTALE DI QUATTRO METODI PER LA DETERMINAZIONE DEL 17-IDROSSIPROGESTERONE

H-17

**S. Meneghelli, RM. Dorizzi, M. Filippini, N. Lerose, P. Rizzotti**

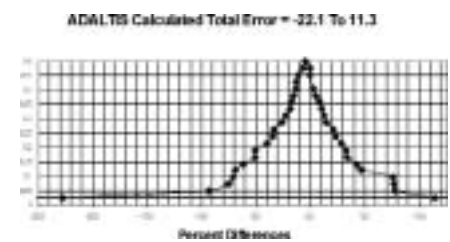
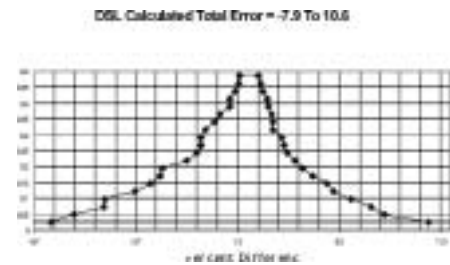
Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche,  
OCM, Azienda Ospedaliera di Verona

*Scopo del Lavoro.* Lo scopo del lavoro è stato quello di applicare il software Total Error Estimator basato sul Documento NCCLS EP21-A nella valutazione dell'errore totale (ET) di quattro metodi radioimmunologici commerciali per la determinazione del 17-idrossiprogesterone (17OHP).

*Materiali e Metodi.* La concentrazione di 17OHP è stata misurata in doppio in 41 campioni di siero provenienti dalla routine impiegando reagenti forniti da RADIM, DSL, CIS e ADALTIS. L'errore totale è stato calcolato usando EP 21-A-C Total Error Estimator (NCCLS, Wayne, USA).

*Risultati.* L'ET del Mountain plot e del Difference plot sono risultati rispettivamente: probabilità cumulativa (pc) RADIM: -7.2, 21.7 e -9.2, 9.9%; DSL: pc = 7.9, 10.6 e 6.8, 9.7; CIS: 10.1, 11.5 e 11.9%, 10.5; ADALTIS pc = -22.1, 11.3 e -12.2, 10.6%.

*Discussione e conclusioni.* Il metodo DSL appare quello con l'ET minore e il metodo ADALTIS quello con l'ET maggiore. La valutazione dei metodi radioimmunologici (per i quali, di norma, non è disponibile un metodo di riferimento) si potrebbe giovare molto di un semplice strumento che consente di confrontare le prestazioni analitiche di metodi diversi.



## DETERMINAZIONE DEL PTH INTATTO; EFFETTO DELLA FASE PRE-ANALITICA SUL METODO IMMULITE 2000 E NICHOLS ADVANTAGE

H-18

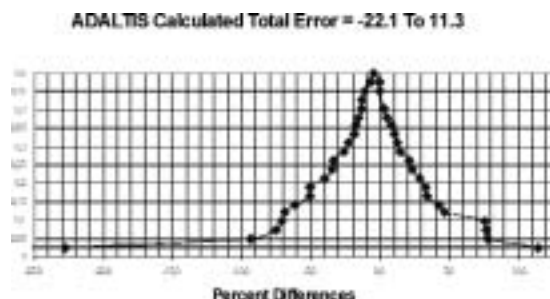
**S. Meneghelli, RM. Dorizzi, A. Ferrari, M. Rocca, P. Rizzotti**

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

*Scopo del Lavoro.* Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare se il plasma è un materiale idoneo per la determinazione del PTH con Immulite 2000 poiché DPC ha comunicato che si trattava di materiale idoneo nell'aprile 2004, non idoneo nel maggio 2004 ed ancora idoneo nel giugno 2004.

*Materiali e Metodi.* La concentrazione di PTH è stata misurata nel maggio 2004 in 173 campioni di plasma EDTA provenienti dalla routine impiegando reagenti Nichols Advantage e strumentazione Liaison Diasorin (Italia) (Liaison) e impiegando reagenti e strumentazione DPC (Los Angeles, CA, USA) (Immulite 2000).

*Risultati.* Nichols. Media e mediana del PTH sono risultate rispettivamente: 12.6 pmol/L (I.C. 95% 10.5-14.8 pmol/L) e 7.8 pmol/L (6.7-8.7 pmol/L). Immulite. Media e mediana del PTH sono risultate rispettivamente: 13.2 pmol/L (I.C. 95% 11.1-15.3 pmol/L) e 8.0 pmol/L (7.3-10.1 pmol/L). L'Errore Totale nella misura di PTH utilizzando i due analizzatori diversi è mostrato in Figura.



*Discussione e conclusioni.* I risultati forniti dai due analizzatori in plasma EDTA non si discostano in modo sostanziale dimostrando la inconsistenza delle informazioni date da DPC agli utilizzatori.

**VALUTAZIONE DEL REAGENTE PROTEINA S HELENA  
PER IL DOSAGGIO COAGULATIVO DELLA PROTEINA S FUNZIONALE**
**H-19**
**O. Paoletti, A. Alatri, G. Morstabilini, N. Denti, E. Martellenghi, S. Testa**

Centro Emostasi e Trombosi, AO Istituti Ospitalieri, Cremona

I test funzionali, attualmente disponibili in commercio, per il dosaggio della Proteina S sono di semplice utilizzo, ma risentono delle di interferenze legate alla presenza di altri difetti, come ad esempio il Fattore V Leiden. E', pertanto, consigliabile determinare anche la quota libera della proteina S antigene.

*Scopo del Lavoro:* valutare le caratteristiche del reagente proteina S Helena confrontandolo con un altro test funzionale (PS Roche STAGO) e con un test immunologico per la proteina S libera (PS Roche libera STAGO). I due test coagulativi ed il test immunologico sono stati poi messi a confronto con un sistema immunoenzimatico (PS Ag libera) in grado di valutare, solo la frazione libera della proteina S.

*Materiali e Metodi:* 1) PS funzionale Helena Laboratories. L'esecuzione del test prevede una iniziale diluizione del campione 1:14 con tampone di Owren per rendere minima l'interferenza da LAC, una miscelazione 1:1 con plasma carente di S per compensare eventuali carenze fattoriali, l'incubazione con l'attivatore (Proteina C attivata) e la misura dei tempi di coagulazione dopo aggiunta di CaCl<sub>2</sub>. 2) -PS Roche STAGO 3)-PS Roche libera STAGO 4)-PS antigene libera ELISA Roche 5)-Analizzatore STA R Roche. Sono stati testati in parallelo 44 campioni patologici e 47 campioni normali (24 maschi e 23 femmine).

*Risultati.* Dallo studio risulta un'ottima correlazione tra i due sistemi funzionali coagulativi (PS STAGO e PS Helena) sia nei campioni normali che in quelli patologici; Dall'analisi di Bland & Altman nel confronto tra i test funzionali ed il test immunoenzimatico nei campioni patologici emerge una notevole discrepanza dei dati: le differenze dei valori di Proteina S determinate con i test coagulativi rispetto al sistema immunoenzimatico risultano nella quasi totalità dei casi al di sotto della media.

*Discussione e Conclusioni.* Dal nostro studio si evidenzia una buona correlazione tra il dosaggio funzionale della Proteina S con il reagente Helena ed il metodo coagulativo Proteina S STAGO sia nel gruppo dei campioni normali che in quello dei patologici. Poiche' i metodi funzionali disponibili in commercio risentono di numerose variabili, al fine di garantire una diagnosi corretta, si raccomanda di prevedere in prima istanza il dosaggio funzionale e successivamente, in caso di riscontro di difetto, la studio della proteina S antigenica.

**BIO-RAD TOX/SEE DRUG SCREEN TEST PER  
LA DETERMINAZIONE DI DROGHE D'ABUSO IN URGENZA**
**H-20**
**G. Zanon, A. Xamin, M. Pradella**

Laboratorio Analisi - Ospedale di Castelfranco Veneto (TV)

*Scopo del lavoro:* validare il metodo BIO-RAD TOX/See Drug Screen per la determinazione in urgenza di droghe d'abuso su campioni di urina.

*Materiali:* Multicontrolli Abbott contenenti Anfetamine/Metanfetamine, Benzodiazepine, Cannabinoidi, Cocaina, Metadone, Oppiacei: Abbott- Axsym X-Systems Controlli Multiconstituenti; Livello L, M e H, in diluizioni scalari. 4 urine variamente positive per droghe d'abuso (A, B, C e D). Urina negativa per droghe d'abuso, impiegata come diluente. Un materiale per valutazione esterna di qualità (CQE-4).

*Metodi:* Analizzatore automatico ABBOTT AXSYM; metodi immunologici a fluorescenza con luce polarizzata (FPIA). Dispositivo di analisi BIO-RAD TOX/See Drug Screen test; immunodosaggio competitivo su membrana cromatografica; cut-off dichiarati dal produttore (ng/mL): Cocaina, Metadone, Oppiacei, Benzodiazepine; Cannabinoidi (THC): 50; Anfetamine: 1000.

*Risultati:* I risultati qualitativi (positivo, negativo e dubbio) ottenuti per gli analiti THC, Metadone, Oppiacei ed Anfetamine con il Tox/See sui campioni in toto e diluiti sono risultati concordanti con tutte le determinazioni quantitative FPIA eseguite con il nostro metodo di riferimento (Axsym) e con i valori previsti. Per gli analiti Cocaina e Benzodiazepine le determinazioni per concentrazioni al di sopra della soglia dichiarata sono sempre risultate concordanti con i valori attesi, mentre per concentrazioni di Cocaina comprese tra 87.5-300 ng/mL e di Benzodiazepine tra 93-300 ng/mL hanno dato risultati positivi o dubbi, invece dell'atteso risultato negativo.

*Conclusioni:* I risultati ottenuti con TOX/See per gli analiti THC, Metadone, Oppiacei e Anfetamine corrispondono ai cut-off del metodo forniti dal produttore. Il cut-off per Cocaina e Benzodiazepine non sia di 300 ng/mL per entrambi, come indicato dal produttore, sembra scendere a circa 100 ng/mL.

## VALUTAZIONE ANALITICA DI UN METODO PER LA DETERMINAZIONE DI PROTEINA C AD ALTA SENSIBILITÀ (HsPCR) E DISTRIBUZIONE DEI VALORI IN UNA POPOLAZIONE DI UNITÀ CORONARICA (UTIC)

H-21

**P. Cappelletti, D. Rubin, P. Bulian, A. Coghetto, F. Grizzo, B. Bertoli, M. Biasin\***

Dipartimento di Medicina di Laboratorio AOSMA PN; \* Laboratorio Analisi, Maniago (PN).

*Scopo del lavoro:* Valutare le performance di un metodo utilizzato per la determinazione di HsPCR, nello studio di pazienti ricoverati in UTIC.

*Materiali e metodi:* La precisione è stata valutata ad un unico punto (1.20 mg/dL) che da dati di letteratura risulta corrispondere a un CV del 10%. A questo scopo sono stati eseguiti 20 replicati in due sedute analitiche distinte. Il carry over è stato calcolato determinando due campioni a concentrazione elevata (37 mg/dL) e tre campioni a concentrazione bassa (0.20 mg/dL), ripetuti 5 volte. La correlazione tra lo strumento RXL (Dade Behring) e BNII (Dade Behring) è stata valutata sui dati ottenuti da 141 pazienti con valori compresi tra 0.05 mg/dL e 18 mg/dL. E' stata inoltre analizzata la distribuzione in percentili dei dati di 350 pazienti ricoverati in UTIC.

*Risultati:* La precisione alla concentrazione di 1.20 mg/dL è 1.2%. Il carry over alle concentrazioni utilizzate risulta trascurabile. La correlazione risulta mediamente buona (pendenza 0.89, intercetta - 0.08, r2 0.97). I valori ai percentili 25°, 50°, 75°, 95°, 97.5° risultano rispettivamente 0.06, 0.32, 1.13, 7.58 e 11.76 mg/dL.

*Discussione e conclusioni:* la precisione risulta migliore rispetto ai dati di letteratura. La correlazione con lo strumento di uso routinario è buona. La distribuzione in percentili dei dati di una popolazione di pazienti ricoverati presso l'UTIC non risulta sostanzialmente differente dai dati di letteratura di pazienti normali.

## PROBLEMATICHE DI DOSAGGIO DELLA PS LIBERA NELLA MALATTIA DI FEGATO ALL'ULTIMO STADIO

H-22

**P. Consiglio, S. De Michele, E. Esposito, M. Salvia, G. Calabrò, A. Aiosa, C. Di Maio, C. Faranna, MR. Trapani, G. Vitale, I. Menozzi**

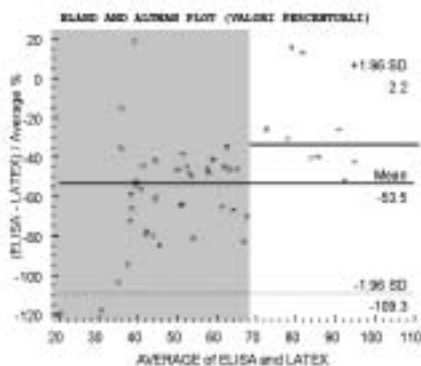
ARNAS Civico Via Lazzaro Palermo Laboratorio Analisi

*Scopo del lavoro:* In uno studio trombofilico su epatopazienti di grado C secondo Child-Pugh il dosaggio al lattice in routine della PS libera ha evidenziato valori non attesi in 49 su 84 pazienti. Si è proceduto ad una verifica di tali risultati utilizzando il gold standard in ELISA.

*Materiali e metodi:* La PS libera è stata dosata con test al lattice Coamatic PS-free-IL e con test ELISA Asse-rachrom free PS-Stago. La PS libera è stata esaminata anche in un gruppo di donatori sani. Per ciascun analita i risultati sono stati espressi con grafico box-whisker e per i due metodi in esame, nei due gruppi, sono stati valutati: coefficiente di correlazione, retta di regressione di Passing e Bablock, bias% con metodo di Bland e Altman.

*Risultati:* nel gruppo di 49 epatopazienti abbiamo ottenuto:  $r=0,7549$  ( $y=19,2378+1,1991x$ ; un bias disomogeneo, Fig.1). Nel gruppo dei donatori vi è una migliore correlazione fra i due metodi con un bias più omogeneo e contenuto (VM=-8.9%).

*Discussione e conclusioni:* Questi dati indicano una problematica metodologica nel dosaggio di PS libera in epatopazienti all'ultimo stadio. Un confronto dei metodi su un ampio spettro di popolazione potrebbe confermare il bias o escluderlo per fattori interferenti (es. autoanticorpi).



**UN CONSUNTIVO AD UN ANNO DALLA CERTIFICAZIONE****H-23****M.R. Marino, A. Rulli, S. Fulvi, S. Martinetti**

Lab. Patologia Clinica II Osp. Clinicizzato SS. Annunziata Chieti

*Scopo del Lavoro.* Scopo del lavoro è fare un consuntivo a distanza di un anno dalla certificazione secondo le norme UNI EN ISO 9001:2000 ottenuta a Luglio 2003.

*Materiali e Metodi.* Il laboratorio di Patologia Clinica II è costituito da sei settori analitici (Allergologia, Immunologia, Immunometria, Microbiologia, Patologia dell'emostasi, Biologia Molecolare) per un totale di un milione di esami annui. Tra Luglio 2003 e Luglio 2004 sono state eseguite due verifiche ispettive interne per settore e due riesami della direzione per mantenere sotto controllo l'applicazione del sistema gestione qualità.

*Risultati.* Alcuni dati estrapolati dal riesame: Attività +3%; 100% degli operatori ha raggiunto l'obiettivo ECM prefissato; 82% delle Azioni correttive intraprese sono state concluse; percentuale incremento VEQ: 65%.

*Discussione.* A distanza di un anno sono emersi aspetti positivi ed altri ancora critici. Tra gli aspetti positivi è da considerare l'acquisizione di una nuova mentalità da parte di quasi tutti gli operatori nell'affrontare problemi di tipo organizzativi, tecnici e professionali. Emerge un maggior rigore scientifico nell'affrontare tematiche quali QCI, VEQ, messa in funzione di nuove apparecchiature. La metodologia dell'analisi dei processi applicata a vari temi quali l'approvvigionamento, la formazione, le manutenzioni etc. ha portato un miglioramento tangibile nella gestione degli stessi; per esempio nel definire il processo di approvvigionamento non si sono considerate solo l'insieme delle attività da svolgere (ordine alla farmacia, raccolta delibere e offerte, statistica dei consumi) ma anche tutte le interfacce coinvolte come la farmacia, il provveditorato, il magazzino e le ditte con le quali si sono valutate le reciproche esigenze e requisiti. La definizione di un responsabile di formazione ha prodotto risultati positivi come la pianificazione basata sulle reali necessità formative dell'unità operativa e un'equa distribuzione dei crediti ECM tra tutto il personale. A distanza di un anno il punto di maggior criticità è l'essere l'unica unità operativa certificata all'interno dell'ASL; ciò comporta difficoltà di comunicazione sui temi della qualità e sulla condivisione degli obiettivi in quanto non ben definiti dall'alto. All'interno dell'unità operativa c'è ancora difficoltà nell'utilizzo degli indicatori e nell'individuazione delle cause delle non conformità che a volte porta ad aprire azioni correttive improprie; nella revisione dei documenti ne abbiamo riscontrato di superflui.

*Conclusioni.* A distanza di un anno il sistema di gestione per la qualità ha contribuito a creare uno spirito di squadra utile per la crescita dell'unità operativa, ma necessita di entusiasmo e tenacia continua per renderlo una metodologia di lavoro puntuale ed efficace per mantenere sotto controllo la propria struttura.

**MONITORAGGIO AMBIENTALE DELL'ANESTETICO SEVOFLURANO: CINETICA DI RIMOZIONE DEL METABOLITA URINARIO ESAFLUOROISOPROANOLO****H-24****M. Bagnati, F. Barbic, M. Basile, V. Zanolì, C. Cassani, P. Porta, A. Fortina, C. Mantovani, G. Bellomo**

Medicina del Lavoro, Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche, Università del Piemonte Orientale- Azienda Ospedaliera "Maggiore della Carità", Novara

L'ampia diffusione del sevoflurano come anestetico generale in chirurgia ha generato la necessità di eseguire un monitoraggio ambientale per controllare l'esposizione professionale degli operatori di sala. Al monitoraggio ambientale si sta associando il monitoraggio del metabolita urinario del sevoflurano, l'esafluoroisopropanolo (HFIP), come indice di esposizione personale al fine di verificare l'esistenza di una correlazione tra i due parametri.

*Scopo della ricerca:* Per determinare le modalità di eliminazione dell'HFIP per via urinaria in seguito all'esposizione da sevoflurano, è stato monitorato un soggetto sano maschio attivo nelle sale operatorie della ASO "Maggiore della Carità" di Novara durante un periodo di 2 ore.

*Metodi:* Sevoflurano è stato campionato mediante fiale di carbone attivo (flusso di 200ml/min). Le urine sono state raccolte prima dell'esposizione, alla fine dell'esposizione ed ogni 4 ore per un periodo di 48 ore; è stato misurato il volume delle urine per ottenere l'escrezione totale di HFIP, mentre la quantità di sevoflurano inalato è stata calcolata utilizzando i seguenti parametri: ventilazione polmonare di 10,65 l/min., coefficiente di ripartizione del sevoflurano tra sangue ed aria di 0.65 ed un volume morto di 0.15l. Il sevoflurano (eluito mediante una miscela acqua/metanolo) e l'HFIP (dopo idrolisi enzimatica del campione urinario) sono stati analizzati e quantizzati mediante Gascromatografia/Spettrometria di massa con iniezione in spazio di testa. Sui campioni urinari è stata dosata la creatinina mediante tecniche di biochimica.

*Risultati:* La quantità dosata di sevoflurano è stata di 48.92mg/m<sup>3</sup>. Il profilo della cinetica di eliminazione dell'HFIP (µg/g.creat.) è stato disegnato ponendo in ordinate l'HFIP ed in ascisse il tempo. L'equazione dell'eliminazione è risultata essere  $y=1771,3e-0,0016x$  ( $R^2= 0,9778$ ) con un t/2 corrispondente a 433 minuti; il valore massimo di HFIP di 1107µg/g.creat. è stato osservato dopo circa 6 ore dalla fine dell'esposizione. Dopo 48 ore nelle urine erano ancora presenti tracce di HFIP. La quantità di HFIP totale eliminata è stata di 979µg. La percentuale di sevoflurano metabolizzato ad HFIP è risultata essere del 3.64%.

*Conclusioni:* HFIP non viene completamente eliminato nell'arco delle 24 ore seguenti l'esposizione, indicando un potenziale accumulo durante i successivi turni lavorativi. Inoltre il picco Massimo di HFIP non risulta essere alla fine dell'esposizione, quando avviene la raccolta del campione urinario per il monitoraggio, ma circa 6 ore più tardi.

## VALUTAZIONE DEL PROFILO DI PRECISIONE DI UN COAGULOMETRO AUTOMATICO

H-25

**V. Miconi, A. Toma, P. Barbera**

Laboratorio di Patologia Clinica, ULSS 5 Arzignano (VI)

**Introduzione e scopo del lavoro.** Il profilo di precisione è un metodo di valutazione delle prestazioni analitiche strumentali esteso ad un ampio intervallo di valori. Confrontato con altre metodologie, ha il vantaggio di esplorare l'andamento della precisione agli estremi dell'intervallo di misura strumentale o in corrispondenza di limiti decisionali importanti per la conduzione della terapia. Il presente lavoro si propone la valutazione del profilo di precisione del coagulometro automatico ACL TOP, di recentissima introduzione nei laboratori di emocoagulazione



**Materiali e metodi.** È stato determinato il profilo di precisione dei test coagulativi PT, aPTT, Fibrinogeno, Antitrombina, D-Dimero. Per ciascun campione, sono stati eseguiti 10 replicati. I risultati sono visibili nelle figure sottostanti.

**Discussione e conclusioni.** I dati di variabilità biologica intra- e interindividuale dei parametri emocoagulativi sono ben noti in letteratura ([www.westgard.com/biodatabase1.htm](http://www.westgard.com/biodatabase1.htm)). In base ad essi, sono state definiti gli obiettivi analitici di imprecisione e inaccuratezza. La presente valutazione evidenzia che lo strumento valutato raggiunge o supera gli obiettivi di precisione auspicati in un ampio ambito di misura.

## IMPIEGO DEL SISTEMA CASA "CGA-WLJY-9000 NELLA DIAGNOSTICA DELL'EIACULATO

H-26

**S. Platzgummer, A. Mahlknecht**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche - Azienda Ospedaliera Ovest Merano

**Scopo del lavoro:** Scopo dello studio è stata la valutazione dello strumento CASA "CGA WLJY 9000" ed il suo utilizzo razionale nella diagnostica dell'ejaculato. Lo studio si divide in due parti:

1. Valutazione della ripetibilità dei parametri misurati dallo strumento
2. Effetto di variabili quali la soluzione di diluizione, il tempo e l'impostazione strumentale dei livelli soglia sulla motilità.

**Materiali e metodi:** Sono stati sottoposti alla valutazione sopra citata 34 ejaculati in condizioni standardizzate. Per tutto il periodo di valutazione l'ejaculato è stato conservato di 37° C. La valutazione CASA è stata effettuata ad un'ora dall'emissione utilizzando delle camere di conta (Micro Cell 12 mm). Si è definito che la valutazione dovesse avvenire contando 200 spermatozoi.

**Risultati:** Si è dimostrato che il CV dei parametri CASA risultavano essere inferiori al 6%, ad eccezione del LIN (13.8%), mentre il CV degli spermatozoi "rapidamente progressivi" era del 25%, con oscillazioni medie della motilità del 6%. Mediante un'analisi del trend risultava esservi un aumento soprattutto della motilità progressiva nel corso delle misurazioni. Le soluzioni di diluizione hanno un'influenza significativa sulla motilità degli spermatozoi ( $p < 0.001$ ), nonché su diversi parametri CASA ad eccezione dei parametri di linearità (LIN, STR e VAP). Per quanto riguarda il fattore tempo, la valutazione a sei ore mostrava una riduzione significativa della motilità, accompagnata da un aumento delle forme immobili (IC 11.2-17.3 %). Di tutti i parametri CASA il parametro MAD è stato influenzato maggiormente dalla soluzione di diluizione (IC 4.4-8.5) e dal fattore tempo (IC -8.3 - -3.9). La modifica delle impostazioni delle soglie a favore della valutazione della motilità porta soprattutto ad un aumento degli spermatozoi classificati come "rapidamente progressivi" e delle forme "in loco".

**Discussione:** Un elevato numero di spermatozoi rende molto difficile una valutazione precisa della motilità con una tendenza alla sovrastima. La diluizione degli ejaculati ha portato ad un aumento statisticamente significativo dei parametri di percorso, in modo particolare della VCL, accompagnato da un incremento degli spermatozoi "non mobili". Questo apparente controsenso si spiega con le due seguenti considerazioni:

1. nel materiale nativo si contano meno spermatozoi, dovuto ad un mancato riconoscimento degli stessi. Di conseguenza si otterrà un numero totale di spermatozoi più basso, nonché una riduzione delle forme "non mobili" ed un aumento relativo di quelle "mobili".
2. l'aumento delle medie dei parametri di percorso è dovuta anche alla presenza di sostanze che favoriscono la motilità, p. es. il glucosio.

In una valutazione comparativa tra microscopia e sistema CASA con parametrizzazione delle soglie a favore della motilità abbiamo riscontrato una elevata correlazione nella classificazione della motilità secondo WHO.

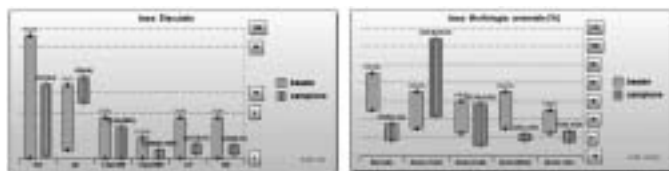
**Conclusioni:** L'utilizzo dei sistemi CASA garantisce una maggiore standardizzazione dell'esame del liquido seminale per quanto riguarda la valutazione della motilità. Per garantire delle misure ripetibili si dovranno seguire delle procedure standardizzate anche nei sistemi CASA.

**ESPERIENZA DI UN CENTRO PER LO STUDIO DELL'INFERTILITÀ MASCHILE****H-27****V. Malatesti, D. Usiglio, M. Mori**

S. C. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, E.O. Ospedali Galliera Genova

*Scopo del lavoro:* vogliamo valutare l'attività del nostro sistema diagnostico in seminologia.*Materiali e metodi:* nel periodo dal giugno 2003 al maggio 2004 sono stati eseguiti 850 test con due conte microscopiche (200x) in camera di Makler a fresco, per valutare la concentrazione del campione, delle cellule germinali e per studiare la motilità quantitativa e qualitativa. Eseguiamo di routine un conteggio con emocitometro di Neubauer (400x), dopo fissazione con soluzione immobilizzante, per confermare la conta. In caso di motilità < 50% si esegue lo studio della vitalità (Eosina-test) e dell'integrità della membrana spermatozoaria (Swelling-test). Se rilevata elevata cellularità, si ricerca la presenza di leucociti mediante il test dedicato Leuco-Screen; su tutti i campioni viene eseguito il Mar-Test per la ricerca di IgM antispermatozoo. La morfologia, dopo striscio del liquido seminale e colorazione di Papanicolau modificata, è studiata in microscopia ottica (lente ad immersione 1000X) secondo i criteri di Kruger, cal-

colando l'indice di teratozoospermia (TZI) e di deformità spermatozoaria (SDI).

*Risultati* in fig.*Conclusioni:* La collaborazione con il Centro di Medicina della Procreazione rende possibile l'attività di fecondazione in vitro e la gestione dell'infertilità di coppia.

Tolleranza e controllo dei campioni vs i valori del pattern basale

**VALUTAZIONE DEL SISTEMA EMATOLOGICO SYSMEX XE-2100 NELL'ANALISI DEI LEUCOCITI NEL LIQUIDO CEFALORACHIDIANO****H-28****A. Crippa, E. Radice, C. Ottomano, N. Piazzalunga, M. Parimbelli**

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti di Bergamo

*Scopo del Lavoro.* Il conteggio cellulare nel Liquido Cefalo Rachidiano (LCR) è ancora oggi effettuato al microscopio ottico con metodo manuale che, oltre a impegnare notevoli risorse di tempo, ha limiti di imprecisione, variabilità tra gli operatori, scarsa standardizzazione. Scopo del nostro studio è stata la valutazione del sistema ematologico Sysmex XE-2100 (vers. Sw. 00-23), nel conteggio e nella differenziazione dei leucociti nel LCR. XE-2100 analizza i leucociti in due canali di lettura, WBC Baso e WBC Diff, con metodo laser in fluorescenza. La vers. Sw.00-23 di XE-2100 consente l'analisi leucocitaria anche su campioni con meno di 10 WBC/?l, ideale per questo tipo di applicazione.*Materiali e Metodi.* 99 campioni di LCR, prelevati con puntura lombare, sono stati analizzati con XE-2100 e al microscopio in camera di Nageotte, dopo diluizione 1:2 con liquido di Turks. L'analisi differenziale dei leucociti in Mononucleati (MONO%) e Granulociti (GRAN%), effettuata al microscopio sui 32 campioni con più di 10 WBC/?l, è stata comparata alla somma di Linfociti+Monociti (MONO%) e Neutrofili+Eosinofili+Basofili (GRAN%) di XE-2100. I conteggi WBC Baso, WBC Diff e la differenziazione leucocitaria di XE-2100 sono stati valutati mediante correlazione di Pearson (coefficiente r), retta di regressione Passing-Bablok, analisi delle differenze secondo Bland-Altman, con software Analyse-it vers. 1.71.*Risultati.* I risultati evidenziano ottima correlazione tra il conteggio WBC Diff di XE-2100 e la lettura al microscopio ( $r=1.00$ ;  $y=1.165x + 3.665$ ). Anche il conteggio WBC Baso è ben correlato ( $r=1.00$ ;  $y=1.063x + 10.00$ ) ma è più disperso e sovrastimato per conteggi inferiori a 40 WBC/?l. Eccellenti i dati di differenziazione leucocitaria, sia per i MONO% ( $r=0.95$ ;  $y = x$ ) che per i GRAN% ( $r=0.95$ ;  $y = x$ ). La differenza media tra XE-2100 e microscopio è di +1.44 per MONO%, -1.50 per GRAN%. L'ottima concordanza di formula leucocitaria è indipendente dal conteggio totale dei leucociti.*Discussione e Conclusioni.* I nostri risultati dimostrano la praticabilità di impiego di XE-2100 nell'analisi del LCR, con conteggio e differenziazione leucocitaria ben correlati all'analisi microscopica, e tutti i vantaggi dell'automazione: standardizzazione, precisione, velocità di analisi, nessuna preparazione del campione. Per il conteggio dei leucociti è preferibile utilizzare il valore del canale WBC-Diff. La valutazione dei citogrammi di formula leucocitaria consente al laboratorio l'approfondimento microscopico nei casi di anomala distribuzione, di difficile separazione delle sottopopolazioni leucocitarie, o di possibili interferenze da rumore di fondo.

## PROVETTE PER PLASMA CON GEL SEPARATORE PER TEST DI CHIMICA ED IMMUNOCHEMICA: VALUTAZIONE DEL BIAS PREANALITICO DA PROVETTE DIVERSE (TERUMO®, BECTON DICKINSON™)

H-29

**D. Giavarina, A. Bevilacqua, G. Soffiati**

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

*Scopo del Lavoro.* L'uso del plasma in chimica ed anche in immunochimica è crescente, per il consolidamento progressivo di aree analitiche e per l'integrazione routine-urgenza. L'uso di gel separatori fornisce alcuni vantaggi, legati alla stabilità e alla conservazione breve del campione su tubo primario. I gel possono però interferire con diverse molecole, introducendo bias rispetto al plasma senza gel. Il questo lavoro valutiamo se gel diversi possano generare ulteriori bias.

*Materiali e metodi.* 40 campioni in doppio su provette Terumo VF...SAHLW e Becton Dickinson PSTTM II plus sono stati analizzati su ADVIA-1650 ed ADVIA-Centaur per i test elencati in tabella. Analisi statistica: Bias e limiti di concordanza, secondo Bland-Altman.

*Risultati:* vedi tabella.

*Discussione.* Le differenze tra le due provette appaiono non significative, con l'eccezione della Vitamina B12 (limiti di concordanza ampi, bias non significativo). Con questa eccezione, i tubi possono essere utilizzati contemporaneamente per test di chimica ed immunochimica.

Costituente	Numero campioni	Range	differenza media	Conferenza (CI)	Concordanza 95%		CI
					min	max	
Acido folico	38	7.4 - 20	-2.1	-2.9 - -1.4	-6.6	2.3	+1.3
Acido urico	41	1.9 - 7.5	-0.1	-0.1 - 0.0	-0.5	0.4	+0.1
Albumina	41	3.9 - 4.9	0.0	0.0 - 0.0	-0.1	0.2	+0.0
ALT	41	8 - 47	0.4	-0.3 - 1.1	-4.0	4.8	+1.2
AST	41	8 - 38	-0.1	-0.7 - 0.5	-3.8	3.5	+1.0
Bilirubina tot	41	0.4 - 1.4	0.0	-0.1 - 0.1	-0.5	0.5	+0.1
Ca tot	39	7.3 - 10	0.0	-0.1 - 0.1	-0.8	0.8	+0.2
Cl	41	98 - 114	-0.6	-1.0 - -0.1	-3.6	2.5	+0.8
Colesterolo HDL	40	32 - 102	0.5	-0.8 - 1.8	-7.5	8.5	+2.2
Colesterolo LDL	39	70 - 221	-0.3	-1.6 - 1.0	-8.3	7.7	+2.3
Colesterolo tot	40	148 - 351	0.5	-0.3 - 1.3	-4.7	5.7	+1.4
Creatinina	41	0.7 - 1.5	0.0	0.0 - 0.0	0.0	0.0	+0.0
Etanolo	17	0 - 174	0.9	-1.9 - 3.7	-10.1	11.9	+4.9
Femina	40	4 - 581	-0.7	-2.8 - 1.4	-14.1	12.7	+3.7
Ferro	41	21 - 184	1.7	-0.5 - 3.8	-12.0	15.4	+3.7
Fosfatasi alcalina	41	36 - 240	1.3	0.0 - 2.6	-7.1	9.6	+2.3
FSH	41	0 - 83	0.1	-0.5 - 0.7	-3.5	3.8	+1.0
FT4	41	0.8 - 1.8	0.0	0.0 - 0.0	-0.1	0.1	+0.0
Gamma GT	41	4 - 154	1.3	-1.0 - 3.6	-13.5	16.1	+4.0
Glucosio	41	69 - 232	-0.4	-2.0 - 1.1	-10.2	9.4	+2.7
K	40	3.7 - 5.2	-0.1	-0.2 - 0.0	-0.5	0.4	+0.1
LH	41	0 - 33	0.6	0.3 - 0.9	-1.5	2.7	+0.6
Na	39	135 - 149	0.6	-0.4 - 1.6	-5.8	7.0	+1.8
P	41	1.3 - 7.3	-0.2	-0.4 - 0.0	-1.6	1.2	+0.4
Progesterone	21	0.3 - 146	0.4	-0.7 - 1.4	-4.4	5.1	+1.9
Proteine totali	41	6.7 - 8.3	0.0	0.0 - 0.0	-0.1	0.2	+0.0
PSA totali	20	0 - 3.3	0.0	0.0 - 0.0	-0.2	0.1	+0.1
Testosterone	20	1.2 - 7.3	-0.1	-0.4 - 0.3	-1.7	1.6	+0.7
Trigliceridi	40	38 - 255	0.6	-0.9 - 2.0	-8.5	9.6	+2.5
TSH	41	0 - 9.7	0.0	0.0 - 0.1	-0.3	0.3	+0.1
Urea	41	17 - 65	0.3	-0.2 - 0.7	-2.6	3.2	+0.8
Vitamina B12	37	219 - 843	2.1	-20.3 - 24.6	-132.6	136.8	+38.9

## IL CONTEGGIO DEI GRANULOCITI IMMaturi SULL'ANALIZZATORE EMATOLOGICO SYSMEX XE 2100

H-30

**M. Buttarello, E. Piva, V. Temporin, P. D'Altoè, A. Falda, M. Plebani**

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera- Azienda USL 16, Padova

*Scopo del lavoro.* I granulociti immaturi (IG) sono normalmente presenti soltanto nel midollo osseo con le sole eccezioni dell'età neonatale e della gravidanza fisiologica nelle quali possono essere presenti anche nel sangue periferico. La presenza di IG in periferia è indice di aumentata attività midollare della linea granulocitopoietica e può essere conseguente a infezioni, malattie infiammatorie acute o patologie del midollo emopoietico. Il conteggio degli IG è perciò utile a livello diagnostico e talvolta anche nel controllo post-terapeutico. Fino ad oggi l'unico metodo disponibile era quello microscopico con i noti limiti di sensibilità clinica e imprecisione. Recentemente la Sysmex ha reso disponibile un software in grado di quantificare gli IG sull'analizzatore XE 2100; questo lavoro si prefigge di valutarne l'attendibilità.

*Materiali e metodi.* La quantificazione degli IG sull'XE 2100 ha luogo nel canale "diff" utilizzando le informazioni di "side scatter" e fluorescenza. Per questo lavoro sono stati selezionati 40 soggetti affetti da malattie infiammatorie acute o patologie neoplastiche. Il metodo di riferimento è costituito dallo standard NCCLS H20-T (200x4).

*Risultati.* La percentuale di IG sui campioni studiati varia da 0.5% a 32.3% . La comparabilità è stata valutata con la regressione lineare (a: -0.267, b: 1.087, R2: 0.971), e con il bias plot (d: 0.063, p: ns).

*Discussione e conclusioni.* La concordanza con il metodo di riferimento è da ritenersi elevata. Sarà tuttavia necessario verificare il comportamento nel caso di grandi leucocitosi o quando siano presenti altre cellule immature che possono costituire dei potenziali interferenti quali promielociti o blasti mieloidi.

**VELOCITÀ DI REFERTAZIONE IN REGIME DI URGENZA:  
VALUTAZIONE DEL SISTEMA StreamLAB****H-31****C. Lo Cascio, M. Bertolani, G. Bacciga, C. Cocco, M. Negri, P. Rizzotti**

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

*Scopo del lavoro.* La rapidità di refertazione è un parametro fondamentale in regime di urgenza-emergenza. Si sono voluti pertanto verificare i tempi di produzione dei risultati di un sistema di chimica clinica StreamLAB (Dade Behring) e comparare le prestazioni in piena e parziale automazione.

*Materiali e metodi.* Il sistema è costituito da una stazione preanalitica con funzioni di sorting, decapping e centrifugazione e da 4 strumenti Dimension RxL Max in catena. Sono stati valutati campioni in emergenza, centrifugati manualmente, e campioni urgenti, centrifugati nel sistema. L'analisi è stata fatta sulle 24h e nella fascia oraria di massimo carico (7-12) in cui vengono processati anche campioni di routine (tot 500 tubi). La tipologia dei test eseguiti è: glicemia, ALT, Na, K, TNI, creatinina, lipasi, Ca, albumina, hCG, bilirubina neonatale; sono stati considerati i referti contenenti i seguenti analiti: K (tempo analitico 45''), glicemia (3'11''), TNI (15'26'').

**Risultati**

Fascia oraria processazione campioni		Stream LAB + centrifugazione manuale			totale
		StreamLAB piena automazione	Esecuzione analitica	Centrifugazione manuale	
7-12	Media (min)	53	17	20	37
	Mediana (min)	34	15	19	34
	90perc (min)	53	28	28	56
	n° test	469	191		
0-24	Media (min)	60	19	17	36
	Mediana (min)	28	13	17	30
	90perc (min)	52	23	25	48
n° test	755	775			

*Discussione e conclusioni.* L'efficienza produttiva appare soddisfacente, la piena automazione consente tempi simili a quelli riscontrati con centrifugazione esterna e il picco di lavoro, non influenza significativamente i tempi di refertazione delle emergenze.

**L'ESAME DEI VERSAMENTI CAVITARI: STUDIO COMPARATIVO  
TRA ESECUZIONE MANUALE E STRUMENTAZIONE AUTOMATIZZATA****H-32****A. Caleffi, S. Pipitone, R. Fontana, M. Mercadanti, C. Monica**

Laboratorio Analisi Emato-Chimiche, Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliera di Parma.

*Scopo del lavoro:* L'indagine morfologica dei liquidi biologici è ancora eseguita al microscopio ottico. Si richiede quindi una certa competenza specialistica nel riconoscere gli elementi cellulari. Negli ultimi anni sono stati proposti strumenti automatizzati anche per l'analisi dei versamenti cavitari ma i riscontri in letteratura sono pochi. Abbiamo voluto provare il sistema ADVIA120 CSF (Bayer), utilizzando reattivi specifici per i liquor. Lo scopo è sempre quello di trovare un sistema in grado di sostituire la microscopia senza diminuire la sensibilità e specificità dell'esame magari aumentandone la praticità. Siamo stati stimolati dai colleghi infettivologi interessati ad avere un referto anche con il numero % ed assoluto dei leucociti e della sottopopolazione dei neutrofili per migliorare l'inquadramento clinico nei casi di versamento ascitico.

*Materiali e Metodi:* Nel mese di luglio 2004 abbiamo valutato 25 liquidi biologici (16 campioni di liquido ascitico, 8 campioni di liquido pleurico, 1 campione di liquido da cisti addominale) pervenuti al nostro Laboratorio dai reparti di Malattie Infettive, Chirurgia, Medicina Interna, Pneumologia. I campioni sono stati analizzati con il sistema ADVIA120 CSF, con il sistema ADVIA120 ematologico e inviati all'osservazione al microscopio eseguita su vetrini precolorati (Testsimplers-R Waldeck) da due operatori diversi.

*Risultati:* Il numero dei casi è senza dubbio limitato ma il 60 % dei liquidi esaminati con ADVIA120 CSF non mostra avere buona correlazione con la determinazione semiquantitativa delle popolazioni cellulari eseguita in microscopia. In particolare si è notata una sovrastima del conteggio degli elementi mononucleati/monociti a svantaggio del conteggio dei polimorfonucleati/neutrofili per non precisa collocazione delle "nuvole" nei grafici ottenuti; in questo sistema non vengono riconosciute le cellule atipiche o neoplastiche; infine il numero limitato dei campioni non ci ha permesso di verificare l'attendibilità dei dati sugli eosinofili. Viceversa esaminando i campioni con ADVIA120 ematologico si riscontra maggiore definizione delle "nuvole" delle sottopopolazioni cellulari ed eventuali segnalazioni di eosinofili e cellule anomale ma devono essere presenti almeno 100 elementi cellulari/microlitro di liquido. Al di sotto di tale soglia il conteggio non è comunque affidabile.

*Discussione e Conclusioni:* Oggi refertiamo con ADVIA120 ematologico il numero % ed assoluto dei leucociti, dei neutrofili, dei linfociti, dei monociti insieme con l'esame morfologico al microscopio. Ci sembra di avere migliorato comunque la qualità del referto finale senza costi aggiuntivi.

**VALUTAZIONE MULTICENTRICA DEL SISTEMA COADATA 501S WB PER IL MONITORAGGIO DEL TEMPO DI QUICK SU SANGUE INTERO IN PAZIENTI IN TAO**

H-33

**MA. Lavizzari<sup>1</sup>, G. Clerici<sup>1</sup>, G. Viberti<sup>1</sup>, AM. Calabrese<sup>2</sup>, G. De Luca<sup>2</sup>, O. Paolini<sup>3</sup>, G. Morstabilini<sup>3</sup>, N. Denti<sup>3</sup>, E. Martellenghi<sup>3</sup>, S. Testa<sup>3</sup>**

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche Ospedale di Luino 1, Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche Ospedale di Orbassano 2, Centro Emostasi e Trombosi AO Istituti Ospitalieri Cremona 3

*Scopo del Lavoro:* valutare il sistema "Point of care" Helena Coadata 501 wb per la determinazione del tempo di Protrombina su sangue capillare in pazienti in Terapia Anticoagulante Orale (TAO), considerando sia l'applicabilità, in termini di maneggevolezza e semplicità di utilizzo per gli operatori, sia la concordanza dei dati con i valori ottenuti dai sistemi analitici utilizzati nei rispettivi laboratori.

*Materiali e Metodi:* Sistema Coadata 501 wb Helena Laboratories, metodo turbodensitometrico e utilizza la Tromboplastina Capillary Li estratta da cervello di coniglio con ISI 0.90 ed MNPT 22.1. Il sistema viene calibrato in base al lotto di tromboplastina ed il risultato viene espresso in secondi, percentuale ed INR. Per l'esecuzione del test è sufficiente una piccola quantità di sangue citratato o capillare (25 ml); 1) Analizzatore automatico BCS Dade Behring, tromboplastina Thromborel S estratta da placenta umana con ISI 0.98, in uso presso il laboratorio dell'Ospedale Civile di Orbassano; 2) Analizzatore automatico Ca 1500 Sismex Dade Behring, tromboplastina ricombinante Innovin con ISI 1.05, in uso presso il laboratorio dell'Ospedale Civile di Luino; 3) Analizzatore automatico STA Rack Diagnostica Stago Roche, tromboplastina Neoplastin estratta da coniglio con ISI 1.31, in uso presso il Servizio di Patologia Clinica degli Istituti Ospitalieri di Cremona. I campioni analizzati sono stati selezionati in modo da ottenere un gruppo rappresentativo di tutto il range terapeutico ed analizzati con il sistema Coadata e con i coagulometri in uso in ciascun laboratorio.

*Risultati:* In tutti e tre i casi si sono ottenuti coefficienti di correlazione superiori allo 0.85, la miglior correlazione è stata ottenuta con il sistema STA Rack Diagnostica Stago Roche, come mostrano i limiti di confidenza del bias e la retta di regressione lineare. Con il metodo statistico di Bland-Altman si è valutata l'entità delle differenze tra le serie di dati che, nella maggior parte dei casi, sono risultate comprese tra due DS, evidenziando inoltre l'assenza di errori sistematici.

*Discussione e Conclusioni.* Il sistema Coadata 501 wb si è dimostrato un sistema maneggevole, di semplice utilizzo. Le differenze maggiori sono state riscontrate nei confronti del sistema Sismex. Per le caratteristiche di praticità e semplicità di utilizzo il sistema, con adeguato sistema di qualità, potrebbe essere efficacemente impiegato presso centri prelievo periferici e Centri di Sorveglianza della TAO in pazienti selezionati.

**iQ 200 NUOVO SISTEMA DI MICROSCOPIA AUTOMATIZZATA DELLE URINE: VALUTAZIONE PRELIMINARE**

H-34

**R. De Rosa, L. Zannier, G. Ferrai, P. Cappelletti**

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, AOSMA Pordenone

*Premessa e Scopo del lavoro:* I sistemi di analisi automatizzata del sedimento urinario si basano sulla metodologia citofluorimetrica o di riconoscimento d'immagine. Abbiamo valutato le prestazioni analitiche dell'analizzatore di particelle urinarie iQ 200 (IL).

*Materiali e metodi:* Nel sistema iQ 200, tecnologia di microscopia di immagine automatizzata associata al riconoscimento di particelle mediante rete neurale, il campione viene presentato fra 2 strati di liquido in sospensione ad un microscopio accoppiato ad una videocamera, la quale cattura più di 500 immagini per campione. Gli elementi sono classificati in 12 categorie - RBC, WBC, WBC clumps, cilindri ialini, cilindri non classificati, cellule epiteliali squamose (SqEp), non squamose, batteri, miceti, cristalli, muco e spermatozoi - e refertati in  $el/??L$ ,  $el/HPF$  o  $LPF$ . La precisione è stata calcolata secondo il protocollo NCCLS H20A per RBC, WBC, SqEp (n. 189), nei sottogruppi con RBC <20/mL (n=148), RBC >20/mL (n=41), WBC/mL <20 (n=129), WBC >20 (n=60) e con il modello di Poisson per gli eventi rari (cilindri ialini e cilindri non classificati). L'accuratezza è stata valutata con il metodo di riferimento ISLH (n=65) e la praticabilità come carico giornaliero (n.285).

*Risultati:* Per quanto riguarda l'imprecisione, il CV sui RBC totali è del 21,9% (in RBC <20/mL 43,9%; in RBC >20/mL 11%), sui WBC totali è del 25,7% (in WBC <20 44,0%, in WBC/mL >20 14,6%), sulle SqEp 55,8%, sui cilindri ialini 48,7%, sui cilindri non classificati 109%. Il confronto con il metodo ISLH ha presentato per RBC  $r^2$  .89 intercetta -2.337 e pendenza 1.147; per WBC  $r^2$  .85, intercetta 11.927 e pendenza .672. La concordanza per SqEp è stata del 70 %, per cilindri ialini 69,7%, per cilindri non ialini 73,8%. Per quanto riguarda la praticabilità, la dichiarata cadenza analitica di 60 campioni/h è stata rispettata, ma il 10,5% dei campioni ha richiesto una o più diluizioni. Nel 35% dei campioni è stato necessario il controllo visivo e/o microscopico degli elementi selezionati dallo strumento, principalmente per la segnalazione di amorfi e per la categoria miceti (BYST).

*Discussione e Conclusioni:* L'imprecisione ai valori superiori dell'intervallo di riferimento è soddisfacente per RBC e WBC, migliorabile per i cilindri e SqEp in modo non dissimile dagli altri metodi di conta. Il confronto fra metodi è mediamente buono, anche se esistono alcuni outlier da misclassificazione (es. RBC dimorfici classificati come miceti). La praticabilità è migliorabile, specialmente in grandi carichi giornalieri, anche se sovrapponibile ad altri sistemi automatici. La fondamentale categoria "artefatti" è risultata dipendente dalla qualità (tempo dall'emissione) del campione urinario.