

VOLUME 52
N. 2/2013



A.I.Pa.C.Me.M.
ASSOCIAZIONE ITALIANA
DI PATOLOGIA CLINICA
E MEDICINA MOLECOLARE

IL PATOLOGO CLINICO JOURNAL OF MOLECULAR AND CLINICAL PATHOLOGY

Direzione, Amministrazione e Redazione:
A.I.Pa.C.Me.M.
Via L. Ungarelli, 23 - 00162 Roma

Componente WASPaLM



Periodico
Poste Italiane S.p.A.
Spedizione in abbonamento postale
D.L. 353/2003 (conv. in L. 27/02/2004 n. 46)
art. 1 comma 1 DCB - Roma
Registrazione al Tribunale Ordinario di Roma
Settore Civile - Sezione per la stampa e l'informazione
Parte cartacea n. 13410 del 24/06/1970
Parte telematica n. 125/2013 del 22/05/2013



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

CENTRO DI RICERCA
PER LA MEDICINA
E IL MANAGEMENT
DELLO SPORT

Direttore Prof. Roberto Verna
Ordinario di Patologia Clinica

BANDI DI CONCORSO PER L'ANNO ACCADEMICO 2013/2014

Il Centro MeMaS promuove, nella Facoltà di Medicina e Odontoiatria per l'anno accademico 2013/2014, i seguenti corsi di Master universitario:

MASTER DI I LIVELLO

in "Progettazione e gestione della ricerca applicata allo sport e performance analysis"

DIRETTORE: *Prof.ssa Cinzia Marchese*

MASTER DI II LIVELLO

in "Management delle Organizzazioni sanitarie"

DIRETTORE: *Prof. Mauro Modesti*

MASTER DI II LIVELLO

in "Sperimentazione clinica"

DIRETTORE: *Prof. Roberto Verna*

LA SCADENZA DEL BANDO È FISSATA AL DICEMBRE 2013,
L'INIZIO DEI CORSI AL GENNAIO 2014

I BANDI SARANNO PUBBLICATI SUL SITO:

www.uniroma1.it/didattica/offerta-formativa/master



IL PATOLOGO CLINICO JOURNAL OF MOLECULAR AND CLINICAL PATHOLOGY

Organo Ufficiale della Associazione Italiana di Patologia Clinica e Medicina Molecolare

Editor in Chief/Direttore Scientifico

Roberto Verna (RM)

Director/Direttore Responsabile

Roberto Verna (RM)

Editor/Redattore

Marina Vitillo (RM)

International Scientific Board/Comitato Scientifico Internazionale

Francesco Saverio Ambesi Impiombato (UD)

Sebastiano Andò (Rende - CS)

Jagdish Butany (Quebec - CA)

Massimiliano M. Corsi Romanelli (MI)

Francesco Curcio (UD)

Gaetano Danzi (CE)

Enrico De Simone (NA)

Eleftherios P. Diamandis (Toronto - CA)

Francesco Dieli (PA)

Javier Diez (Pamplona - E)

Ricardo P. Garay (Paris - F)

Anna Gasperi Campani (BO)

Alberto Gulino (RM)

Gamze Mocan Kuzey (Ankara - TR)

Michael Laposata (Nashville - USA)

Sebastiano La Rocca (RM)

Andrea Lenzi (RM)

Lai Men Looi (Kuala Lumpur - MY)

Alberto Mantovani (MI)

Marilene Melo (Sao Paulo - Brasil)

Bruno Moncharmont (CB)

Mikio Mori (Japan)

Claudio Napoli (NA)

Michael Oellerich (Gottingen - Germany)

Giuseppe Poli (TO)

Daniela Quaglino (MO)

Paul Raslavicus (Boston - USA)

Dario Roccatello (TO)

Luigi Massimino Sena (TO)

Vincenzo Sica (NA)

Henry Travers (Sioux Falls - USA)

CONSIGLIO DIRETTIVO

A.I.Pa.C.Me.M.

Presidente

Roberto Verna

Past President

Enrico De Simone

Vice Presidente Vicario

Gaetano Danzi

Segretario Nazionale

Tomaso Stampone

Tesoriere Nazionale

Gaetano Danzi

Rappresentante Nazionale Soci Aderenti

Maria Rosaria Andreozzi

Consiglieri

Giovanni Aloisio

Marina Cambi

Massimiliano Marco Corsi Romanelli

Rosarina Impera

Mariella Pallotta

Simonetta Morlunghi

Alessandro Porcu

Vittorio Sargentini

Esperta per i problemi professionali

Alessandra Di Tullio

Responsabile Nazionale

Qualità e Formazione

Vittorio Sargentini

Collegio dei Revisori dei Conti

Carla Lanzillotto

Mauro Martelli

Elena Vagnoni

Collegio dei Probiviri

Gelsomino De Vita

Antonio Picerno

Giuseppe Sciarra

Componente WASPaLM



La presente pubblicazione
viene inviata gratuitamente
ai Soci A.I.Pa.C.Me.M.

Associato all'USPI
Unione Stampa
Periodica Italiana



VOLUME 52
N. 2/2013

Direzione, Amministrazione e Redazione:

A.I.Pa.C.Me.M.

Via L. Ungarelli, 23 - 00162 Roma

Tel. (06) 8600007 - Fax (06) 8600042

internet: www.aipacmem.it

e-mail: segreteria nazionale@aipacmem.it

Fotocomposizione e stampa:

Poligrafica Laziale s.r.l.

00044 Frascati - P.le Sandro Pertini, 4

www.poligraficalaziale.it

63° Congresso Nazionale A.I.Pa.C.Me.M.

ASSOCIAZIONE ITALIANA DI PATOLOGIA CLINICA E MEDICINA MOLECOLARE

INNOVAZIONE, CONOSCENZA E INTEGRAZIONE NELLA MEDICINA DI LABORATORIO

16-18 settembre 2013 - Perugia

Riassunto delle Relazioni Comunicazioni e Poster



Presidente del Congresso
Roberto Verna

Comitato Scientifico
Massimiliano Marco Corsi Romanelli - Coordinatore
Gaetano Danzi
Giovanni Grande
Simonetta Morlunghi
Vittorio Sargentini
Giuseppina Viberti

Comitato Organizzatore Locale
Simonetta Morlunghi - Coordinatore
Roberto Biondi
Silvio Canino
Eugenio Pacifico
Luigina Romani
Alessandro Vujovic

EDITORIALE

ROBERTO VERNA

Carissimi,

dopo un lungo ed intenso lavoro preparatorio ecoci giunti alla data di inizio del nostro 63° Congresso Nazionale di Perugia.

Non devo certo sottolineare l'importanza che Perugia ha nella cultura italiana e in quella medica in particolare; ormai, anche chi non conosceva questa realtà la può ora toccare con mano.

Il programma, di alto profilo sia dal punto di vista educativo che scientifico, prevede Simposi e Sessioni interattive, che interesseranno tutti i settori della Patologia Clinica e della Medicina di Laboratorio, in particolare quello della responsabilità e dell'appropriatezza diagnostica finalizzate al contenimento della spesa pubblica.

Il nostro Paese sta passando un difficile momento, come quasi tutta l'Europa, e la Sanità non è certo un giardino fiorito. La situazione, critica, è per fortuna rischiarata dalla presenza di un Ministro, Beatrice Lorenzin, che, in ogni suo intervento, dimostra di avere competenza, equilibrio, idee chiare e la volontà di definire programmi operativi.

Anche la nostra Associazione ha voluto, pertanto, dedicarsi, almeno in parte, al problema del contenimento della spesa sanitaria, individuando la competenza professionale quale cardine indispensabile per contenerla. La sessione della prima giornata, che precederà la seduta inaugurale, è dedicata ai problemi medico legali ed alla responsabilità in laboratorio, perché sempre più spesso i professionisti della sanità vengono coinvolti in problematiche legali con la conseguenza di aumentare a dismisura gli atti diagnostici attuando la cosiddetta medicina difensiva che tanto pesa sulle risorse economiche del sistema sanitario. Il dibattito sulla necessità di un'appropriatezza diagnostico-clinica, con la formulazione di linee guida adeguate alle differenti realtà sanitarie ma condivise fra tutte

le componenti della sanità, potrà certamente aiutare a dirimere una questione non facile ma assolutamente necessaria da affrontare. Questa sessione, che ha l'obiettivo di far conoscere al pubblico l'importanza e il valore della diagnostica di laboratorio, vedrà la partecipazione di Operatori sanitari, Magistrati, Dirigenti di Aziende Sanitarie e di Aziende del settore Diagnostico, Società Scientifiche ed Associazioni dei Pazienti, per un dibattito globale.

Le altre due giornate del Congresso sono ricche di tematiche scientifiche di grande attualità; fra di esse, una sessione internazionale organizzata con la WASPaLM, una sessione professionale organizzata con l'AIPaC, una sessione per i tecnici di laboratorio, che nella nostra Associazione hanno un ruolo di grande importanza.

Un congresso, quindi, ricco di motivazioni e di prospettive che spero risponda alle vostre aspettative.

Desidero ora ringraziare tutti coloro i quali hanno reso possibile questo evento: il Prof. Massimiliano Corsi Romanelli, Presidente del Comitato Scientifico dell'Associazione, e i membri del Comitato; la Dottoressa Simonetta Morlunghi, Presidente della Sezione Regionale Umbria e del Comitato Organizzatore Locale, e i membri del Comitato; il Consiglio Direttivo dell'AIPaCMeM e i Presidenti Regionali; le Autorità che hanno accettato di partecipare, i Relatori e Moderatori, tutti i partecipanti. Non vanno peraltro dimenticate le Aziende che ci hanno consentito di realizzare questo evento e la FASI, che ha collaborato attivamente fin dal primo istante, con dedizione e passione. In ultimo, ma con un ruolo di prim'ordine, un caloroso ringraziamento va a Barbara Mecozzi per aver supportato (e sopportato) ogni momento dell'organizzazione con competenza e dedizione.

Benvenuti a Perugia e buon Congresso.

INDICE DEGLI AUTORI DELLE RELAZIONI CONGRESSUALI

Amato G pag	27	Minisola S pag	13
Andreozzi MR“	18	Papi C, Romagnuolo I, Sticchi E, Fedi S, Cellai AP, Lami D, Alessandrello Liotta A, Rogolino A, Cioni G, Noci I, Abbate R, Fatini C“	17
Andreozzi MR“	20	Postiglione L“	14
Aversa F“	29	Sargentini V“	15
La Rocca S“	6	Lucà F“	21
Caputo M“	10	Sensini A, Castronari R, Scarpelloni M, Zepparelli N, Pistoni E, Bistoni F“	25
Ceccarelli C, Matteucci E, Morganti T, Collipa S, Ferrari C, Putignano AL, De Donno M, Genuardi M, Rombolà G“	19	Viberti G, Ruffino ED, Camusso E“	8
Cotana F“	16	Vitillo M“	7
D’Amora M“	11	Vujovic A“	30
Dieli F, Hayday A“	24		
Martini A“	23		

RELAZIONI**L'APPROPRIATEZZA DIAGNOSTICA COME STRUMENTO DEL PIANO DI RIORDINO DELLA RETE LABORATORISTICA NELLA REGIONE LAZIO**

SEBASTIANO LA ROCCA

U.O.C. Patologia Clinica, A.C.O. San Filippo Neri, Roma

La Regione Lazio ha definito, a decorrere dall'anno 2007, con la DGR 1040/07, un complesso percorso di riorganizzazione della diagnostica di laboratorio, fondato sull'articolazione delle strutture pubbliche di medicina di laboratorio, riclassificate per tipologia e soglie minime di produzione, in reti logiche aziendali, individuando laboratori di base, laboratori core e laboratori specialistici, e su di una ulteriore integrazione a livello della intera Regione Lazio, con la individuazione di laboratori specialistici e di riferimento interaziendali e regionali, supportati da una adeguata rete informatica, il cosiddetto "Laboratorio Logico Unico Regionale". Pertanto, il piano, che, riconoscendo l'indispensabilità della prossimità della medicina di laboratorio al luogo di erogazione della cura, stabilisce la presenza del laboratorio clinico e delle relative competenze professionali in ogni struttura ospedaliera con attività per acuti (pronto soccorso, chirurgia, terapia intensiva), prevede la seguente tipologia di laboratori:

primo livello o di base (ospedale per acuti – presidi territoriali);

secondo livello (core lab, di norma ospedalieri);

specialistico (ospedaliero);

di riferimento interaziendale (screening specialistici, esami rari e/o ad alta complessità);

regionale (ad es. sicurezza trasfusionale, validazione biologica, farmaco tossicologia, etc.).

La DGR 1040/07 ha previsto anche la costituzione di un apposito Nucleo Operativo Tecnico (NOT), organismo di professionisti del settore, con il compito di coordinare le azioni e monitorare l'attuazione dei processi.

Uno degli aspetti caratterizzanti del piano di riordino della diagnostica di laboratorio è il richiamo alla appropriatezza, sia prescrittiva che organizzativa.

L'appropriatezza di una prestazione sanitaria consiste nel fatto che questa venga erogata rispettando il quadro clinico del paziente e le indicazioni per le quali si è dimostrata efficace, nel momento giusto e secondo il regime organizzativo più adeguato, in base a criteri di efficacia ed efficienza che coniugano l'aspetto sanitario a quello economico. Si configurano, pertanto, una appropriatezza di tipo professionale, caratterizzata dal fatto che le prestazioni siano di provata efficacia, erogate nelle indicazioni corrette e con benefici per il paziente superiori ai rischi, ed una appropriatezza di tipo organizzativo, caratterizzata da un adeguato consumo di risorse per la erogazione della prestazione.

L'appropriatezza organizzativa del piano si basa sulla riduzione, riclassificazione e specializzazione dei centri di erogazione di prestazioni di diagnostica di laboratorio, con aumento dell'efficienza, in ragione del consolidamento delle prestazioni specialistiche, e dell'efficacia, anche per la concentrazione e crescita di competenza e professionalità nelle strutture che si specializzano. La decisione sul mantenimento o sulla dismissione di metodologie diagnostiche va basata sulla tipologia di utenza afferente al laboratorio (appropriatezza rispetto alla domanda analitica) e sulla convenienza economica (analisi economiche di break even point e benchmarking).

L'appropriatezza professionale, invece, deve essere promossa, secondo il piano, dalle Aziende Sanitarie della Regione incrementando l'appropriatezza prescrittiva, anche tramite lo sviluppo e la diffusione di linee guida e percorsi diagnostici, valutandone la ricaduta sugli outcome clinici. È da segnalare, a tal fine, che nella Regione Lazio si è costituito un gruppo di lavoro intersocietario per l'applicazione della appropriatezza in Medicina di Laboratorio (Gruppo AdAMeL), che, tra le altre attività, ha avviato in accordo con il NOT una sperimentazione che coinvolge dieci tra ASL Aziende Ospedaliere e IRCCS, per l'applicazione di alcune linee guida comuni, per valutarne fattibilità ed esiti, ai fini della miglior allocazione delle risorse, sempre più ridotte in sanità pubblica.

RELAZIONI**APPROPRIATEZZA PRESCRITTIVA E RISPARMIO SANITARIO:
L'ESPERIENZA DEL LAZIO**

MARINA VITILLO

U.O.C. Patologia Clinica, A.C.O. San Filippo Neri, Roma

Molte iniziative sono state intraprese negli ultimi anni in diverse regioni, nell'ambito della Medicina di Laboratorio, con l'obiettivo di migliorare l'uso delle risorse, attraverso l'applicazione di linee guida condivise nei percorsi diagnostico-terapeutici, mantenendo la qualità e aumentando l'efficacia e l'efficienza delle prestazioni nell'ottica di un servizio centrato sul paziente e sui reali bisogni di salute.

Nella Regione Lazio si è costituito il 15 febbraio 2012 un Gruppo di Lavoro Regionale Inter-societario per l'Applicazione dell'Appropriatezza in Medicina di Laboratorio, costituito da rappresentanti delle 4 Società Scientifiche: AIPaCMeM, AMCLI, SIBioC, SIMeL. La finalità del Gruppo di Lavoro (GdL) è favorire la crescita, nelle strutture assistenziali della regione, dell'appropriatezza professionale ed organizzativa in Medicina di Laboratorio, intesa sia nei suoi aspetti prescrittivi, sia in quelli relativi alla esecuzione e refertazione dei test di laboratorio.

Nel marzo 2012 il GdL ha condotto un'indagine conoscitiva per valutare l'esistenza e la diffusione di linee guida e protocolli diagnostici nel Lazio, attraverso la formulazione e proposta di un questionario inviato ai 61 laboratori delle strutture ospedaliere della regione. In particolare il questionario riguardava alcuni tra i più condivisi aspetti dell'appropriatezza prescrittiva della diagnosi funzionale tiroidea, dell'infarto miocardico acuto e delle epatiti virali.

Dei 47 laboratori che hanno risposto al questionario (77%) solo il 17% aveva linee guida concordate per la richiesta di ormoni tiroidei, il 36.8% linee guida per la richiesta di marcatori di danno miocardico e l'11.8% linee guida per la richiesta di marcatori di epatite B e C.

Il GdL, constatata la scarsa diffusione di linee guida, ha proposto, in accordo con il Nucleo Operativo Tecnico Regionale per il riordino della Medicina di Laboratorio, in via sperimentale al fine di valutarne rapidamente la fattibilità, l'applicazione di alcuni protocolli comuni a dieci tra ASL, Aziende Ospedaliere e IRCCS della regione. Gli 8 protocolli proposti, che sono stati divisi in due gruppi, riguardano i più condivisi aspetti dell'appropriatezza prescrittiva.

In particolare, il primo gruppo di linee guida proposte riguarda:

- Percorso diagnostico delle alterazioni funzionali tiroidee, ovvero TSH Reflex
- Percorso diagnostico del tumore della prostata, ovvero PSA Reflex
- Percorso diagnostico della sindrome coronarica acuta/IMA NSTEMI
- Diagnosi di Diabete Mellito

Tale sperimentazione è stata avviata a marzo ed è prevista una verifica dei risultati a sei mesi.

L'avvio del secondo gruppo di linee guida è previsto per ottobre e riguarderà:

- Percorso diagnostico delle malattie autoimmuni sistemiche, ovvero ANA Reflex
- Algoritmo diagnostico delle epatiti virali
- Diagnosi della malattia celiaca
- Diagnosi delle gammopatie monoclonali

Nell'esperienza della nostra Azienda Ospedaliera, l'attenzione all'adozione di linee guida, ormai da diversi anni, ha portato ad un discreto risparmio di risorse da reinvestire, nonché all'aumento dell'efficacia diagnostica e al miglioramento dell'efficienza delle prestazioni.

RELAZIONI

L'APPROPRIATEZZA DIAGNOSTICA PER IL RISPARMIO SANITARIO: METODOLOGIE DI GOVERNANCE APPLICABILI ALLA PATOLOGIA CLINICA

GIUSEPPINA VIBERTI¹, EMANUELE DAVIDE RUFFINO², ELISA CAMUSSO³

¹S.C.D.O. Patologia Clinica, ²S.C. Gestione Economico Finanziaria e S.C. Controllo di Gestione, ³Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica - Università degli Studi di Torino, Azienda Ospedaliera Universitaria San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)

Nelle moderne organizzazioni sanitarie, il tema dell'appropriatezza diagnostica può essere declinato nei suoi due aspetti principali: professionale ed organizzativo.

In termini generali, un intervento sanitario è appropriato quando risponde ad alcune caratteristiche principali: è di efficacia provata da variabili livelli di evidenza, viene prescritto al paziente giusto, al momento giusto e per la giusta durata, gli effetti sfavorevoli sono accettabili rispetto ai benefici, viene erogato "consumando" un'appropriata/adeguata quantità di risorse, nel luogo adeguato, dal professionista giusto e con la dovuta esperienza. Questi aspetti nella pratica incontrano notevoli condizionamenti che ne rendono difficile il governo e l'applicabilità in un sistema complesso e consolidato quale quello delle strutture sanitarie.

Le evidenze scientifiche disponibili enfatizzano solo l'efficacia dei processi diagnostici, molti trials tendono ad evidenziare i risultati favorevoli e a minimizzare quelli negativi, la percezione dei professionisti spesso è distorta da conflitti di interesse, il commercio di tecnologie sanitarie viene autorizzato sulla base di criteri a volte poco rigorosi, mentre il consumismo sanitario influenza la domanda di prestazioni; a ciò si deve aggiungere la contrazione delle risorse disponibili e il numero molto limitato di studi di valutazione del rapporto costo-efficacia e di efficienza degli standard organizzativi le cui evidenze emerse siano generalizzabili. Un ulteriore aspetto è la visione "bidimensionale" dell'appropriatezza: quella "in eccesso" e quella "in difetto". Tagliare le inapproprietezze in eccesso (professionali e organizzative) determina un risparmio immediato; puntare sulle inapproprietezze in difetto realizzando interventi, creando servizi, usufruendo di prestazioni di provata efficacia (sottoutilizzati e la cui corretta implementazione nel breve e medio termine determinerebbe un incremento dei costi ma, nel lungo periodo, una riduzione dei costi impropri) richiede investimenti economici che nell'attuale momento di crisi sono difficili da realizzare. Le scelte inappropriate sono spesso condizionate dalle aspettative del paziente che non conosce l'entità dei costi sanitari e di cui, in generale, non si preoccupa assolutamente. Se aumentano le risorse economiche disponibili il sistema può offrire servizi e prestazioni ad un numero sempre maggiore di utenti con conseguente incremento dell'inappropriatezza in eccesso; inoltre possono crearsi delle disuguaglianze tra i livelli socio-economici della popolazione e, nel tempo, ridursi progressivamente i benefici per la popolazione generale con aumento esponenziale dei costi sanitari senza un reale miglioramento delle condizioni di salute dei cittadini. Per migliorare quest'ultima in modo stabile sono utili gli investimenti in termini di prevenzione, di educazione sanitaria e di educazione ambientale; per esempio l'esecuzione mensile della colesterolemia è inutile se non vi è un cambiamento dello stile di vita.

Per un'analisi dei processi produttivi abbiamo ricercato degli indicatori in grado di "misurare" quanto gli interventi sull'appropriatezza potrebbero incidere sul miglioramento dei processi in ambito sanitario. I punti d'intervento da noi individuati sono: 1) affidabilità ed efficacia dell'output, 2) analisi gestionale per l'ottimizzazione dei processi, 3) appropriatezza del binomio income - outcome; 4) governance di sistema. Per ogni area di intervento proponiamo degli indicatori per valutare la risposta del sistema ad un fenomeno organizzativo. 1) *Affidabilità ed efficacia dell'output*: sono messe in evidenza dall'analisi dei processi diagnostici costituiti, nella maggior parte dei casi, dalla componente clinica e da quella laboratoristica. Pertanto risulta difficile porre a confronto un processo diagnostico con quello che dovrebbe essere il riferimento condiviso da tutti per la diagnosi della patologia sospettata,

RELAZIONI

perché appunto tale riferimento, in un'elevata percentuale di casi, non è stabilito. È tuttavia possibile confrontare fra loro le procedure operative impiegate da ciascun laboratorio per eseguire una determinata analisi facente parte di uno specifico processo diagnostico.

Indicatori: a) Produttività di un processo: rapporto tra gli input impiegati ed i benefici ottenuti. b) Coerenza dei risultati: rapporto fra gli obiettivi assegnati e i risultati ottenuti al termine del periodo preso in esame. c) Rispetto degli standard, siano essi economici, gestionali od organizzativi.

L'analisi non può inoltre prescindere dall'individuazione del break even point (utile strumento per verificare il grado di raggiungimento dell'equilibrio economico).

2) *Analisi gestionale per l'ottimizzazione dei processi*: fondamentale per evidenziare possibili punti di miglioramento; sono necessari modelli organizzativi condivisi, predisposizione culturale al confronto ed alla collaborazione, criteri di valutazione stabiliti a priori in grado di verificare come i processi produttivi rispondano a parametri di razionalità. Vanno quindi analizzate quelle parti del processo che, se organizzate in modo differente, possono alleggerire l'intera procedura di lavorazione ed ottimizzare i tempi di lavoro/consegna dei referti.

Indicatori: a) Analisi del carico burocratico: rapporto tra peso delle attività burocratiche e volume di attività svolte, indispensabile per alleggerire e semplificare alcune procedure servendosi dei sistemi informatici. b) Riduzione dei tempi morti: rapporto fra i tempi ottimali per l'esecuzione delle analisi e quelli reali. La logistica ha un ruolo fondamentale nella progettazione e riorganizzazione dei laboratori e nell'introduzione di nuove tecnologie di automazione. c) Incidenza dei reagenti in rapporto alla produzione: i reagenti utilizzati sono molteplici e presentano costi variabili fra pochi centesimi di euro a centinaia di euro; l'ottimizzazione del loro utilizzo consente di svolgere un pari volume di attività con un consumo minore dei reagenti.

3) *Appropriatezza del rapporto income - outcome*: necessario per valutare quanto la produzione di un laboratorio risulti qualificata per l'apporto di risorse esperte e professionali e risulti significativamente utile per i bisogni di salute della società. L'attenzione deve spostarsi dall'efficienza all'efficacia, intesa come capacità di rispondere alle reali necessità del sistema. Solo disponendo di risorse qualificate e applicando in modo costante l'appropriatezza prescrittiva è possibile ridurre quella parte di attività del laboratorio che non è utile perché non porta alcun beneficio alla società, ma pesa in modo importante sui costi complessivi.

Indicatori: a) Dati epidemiologici: andrebbero sempre rapportati al numero di analisi effettuate; ciò consente di valutare se ogni singolo esame venga eseguito in quantità congrua al numero di malati (in base alla prevalenza/incidenza della malattia stessa) o se venga richiesto eccessivamente. b) Verifica dell'output ottenuto: inteso come rapporto fra benefici diretti ed indiretti per i cittadini e le risorse impiegate per ottenerli. L'esecuzione di esami inappropriati aumenta la quantità di risorse impiegate e ne riduce i benefici con un impatto significativo sui costi. c) Case mix ed experience: rapportando le economie di scala con l'organizzazione armonica delle attività erogate in funzione delle caratteristiche dell'azienda sanitaria analizzata.

4) *Governance di sistema*. La sua valutazione non può prescindere dal benchmarking che necessita di un unico sistema informatico regionale, deve essere disponibile un software di elaborazione adeguato e i risultati devono essere analizzati da personale esperto con le stesse modalità per le diverse aziende e per i differenti dati di produzione.

Indicatori: a) Benchmarking del rapporto costi/ricavi: per analizzare i dati economici. b) Indice di tempo medio di adattamento alle nuove soluzioni: calcolato come rapporto fra il tempo impiegato per l'introduzione di un nuovo processo con il tempo impiegato dai competitor. La quantità di tempo necessaria al sistema dipende sicuramente dall'entità delle modifiche apportate, ma è influenzata significativamente dal modello organizzativo sotteso e dalla predisposizione del sistema stesso al cambiamento. c) Indice di ritardo nella diagnosi e nelle dimissioni: per alcune patologie viene indicato un tempo medio tra l'insorgenza della malattia e la sua diagnosi; quando i tempi reali si allontanano marcatamente dal riferimento si può parlare di ritardo. Il ritardo della dimissione a volte è direttamente dipendente dal ritardo diagnostico, ma anche dalla difficoltà di interpretare le informazioni disponibili. L'analisi di questi dati da un'idea di quanto sia ben governato ed organizzato il sistema.

RELAZIONI

IL LABORATORIO NELLE MALATTIE ENDOCRINE

MARCO CAPUTO

*Dipartimento dei Servizi Di Diagnosi e Cura, Azienda USL 22 Regione Veneto,
Bussolengo (VR)*

Tra tutte le specialità mediche, l'Endocrinologia clinica è forse quella che dipende più strettamente dal servizio di Laboratorio. Sono innumerevoli i casi in cui interi settori di questa branca si siano visti letteralmente trasformare dalla introduzione in routine di metodi di laboratorio accurati e precisi il cui impatto sulla diagnosi, follow up, monitoraggio terapeutico di numerosissime endocrinopatie si sono avvantaggiati delle diverse potenzialità offerte dalla Diagnostica in vitro.

Un caso di specie è rappresentato dalla tiroide, la cui patologia è certamente la più diffusa e la meglio conosciuta ma che riserva ancora notevoli spazi per approfondimenti e perfezionamenti dei percorsi diagnostico-terapeutici.

Nella presente relazione verranno brevemente esaminati i più recenti sviluppi nel campo della patologia tiroidea. In particolare, verrà esaminata la controversia sull'intervallo di riferimento della tireotropina (TSH). La fisiologia spiega come questa molecola rappresenti di gran lunga il miglior strumento per monitorare la funzionalità della ghiandola. Sulla base di questa certezza sono state sviluppate soluzioni operative come il "TSH riflesso", che rappresentano davvero un paradigma di come il laboratorio possa aiutare a massimizzare l'outcome clinico riducendo drasticamente i costi assistenziali complessivi. Tutto questo si è reso possibile grazie alla efficace collaborazione di clinici e laboratoristi e alla capacità di utilizzare con intelligenza i progressi tecnologici. È noto che, sulla base dei miglioramenti sostanziali dei metodi di dosaggio e di una selezione della popolazione di riferimento basata su criteri più rigorosi, negli ultimi decenni il limite superiore dell'intervallo è stato decisamente e significativamente abbassato, determinando un diverso approccio clinico allo screening e alla gestione dell'ipotiroidismo, ivi compreso il tema sempre attuale dello studio di tali forme in gravidanza. Esistono ancora notevoli differenze nelle prestazioni dei metodi di dosaggio maggiormente diffusi in commercio, ed è responsabilità del Patologo clinico comunicare al curante nel modo più efficace il possibile impatto del risultato fornito alla luce delle caratteristiche del sistema diagnostico prescelto. Entro la fine del prossimo anno è attesa la conclusione del percorso di standardizzazione che la Federazione Internazionale di Chimica clinica ha intrapreso a partire dal 2005. Il gruppo di lavoro appositamente costituito ha dovuto trovare una soluzione al problema della mancanza di una procedura di misura standard, ed ha proposto un percorso alternativo che si avvale della disponibilità di un numero elevatissimo di campioni su cui operare opportune valutazioni statistiche. I risultati sono tali da lasciar sperare di poter vivere a breve scadenza anche per il TSH in un "futuro armonizzato".

RELAZIONI

LA MEDICINA DI LABORATORIO NELLE ENDOCRINOPATIE DELL'ADOLESCENZA

MAURIZIO D'AMORA

*Direttore Generale ASL Napoli 3 Sud**Già Direttore Dipartimento Centrale Medicina di Laboratorio ASL Napoli 1 Centro*

Le malattie endocrino-metaboliche dell'età pediatrica ed adolescenziale sono molte per poter essere trattate o citate tutte in questa sede, anche solo dal punto di vista della medicina di laboratorio. Tra queste, dal nostro punto di vista, la patologia dello sviluppo puberale, il deficit di GH ed il Diabete Mellito di tipo 1 rappresentano l'endocrinopatie in età adolescenziale di maggiore rilievo sia per i meccanismi patogenetici, sia per l'impatto sociale che, infine, per l'importante ruolo svolto dal laboratorio nel percorso diagnostico.

Patologie dello sviluppo puberale

Nella maggior parte dei ragazzi si registra lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari ed il raggiungimento della capacità riproduttiva a circa 11 anni. Questi eventi si associano ad un periodo di rapida crescita e maturazione scheletrica definito «growth spurt» o «scatto della crescita puberale». L'inizio dello sviluppo puberale (la prima manifestazione clinica è generalmente costituita dallo sviluppo della mammella nel sesso femminile e dall'aumento di volume dei testicoli nel sesso maschile), la sua progressione ed il suo completamento presentano un'ampia variabilità nella popolazione normale. Si definisce convenzionalmente precoce, in ambedue i sessi, l'inizio della maturazione puberale quando avviene prima degli 8 anni nella femmina e prima dei 9 anni nel maschio. L'approccio diagnostico alle pubertà precoci risulta complesso e multidisciplinare, le indagini di laboratorio praticabili si suddividono in quelle da eseguire in ogni caso clinico ed in quelle definite integrative. Si definisce, per contro, ritardata la non comparsa dei segni clinici di maturazione puberale ad una età superiore ai 13-14 anni per la popolazione femminile ed ai 14-15 anni per quella maschile.

Scarsa crescita staturale

L'alta statura è percepita quale parametro di salute fisica, di prestanza, in ultima analisi una caratteristica positiva nella vita. Il problema della scarsa altezza, invece, si avverte tanto più nella realtà odierna poiché in Italia, come in altri paesi europei, la statura media dei giovani è notevolmente aumentata nel corso di questi ultimi decenni. Ad acuire l'interesse su questo carattere fenotipico contribuisce anche la conoscenza, ormai di dominio pubblico, della disponibilità in commercio dell'ormone della crescita. La bassa statura rappresenta oggi uno dei motivi più frequenti di consultazione genitoriale del pediatra ! Come inquadrare il problema? Qual'è il contributo che la Medicina di Laboratorio può offrire in questo campo ? Il primo punto da affrontare riguarda la rilevazione della statura, che deve essere il più possibile accurata poiché anche un'imprecisione modesta (es. 1-2 cm) può «falsare» il calcolo della velocità di crescita. La misura dell'altezza è valutata utilizzando le curve dei percentili. Questi grafici, disponibili sia per i maschi che per le femmine, permettono di valutare l'altezza del soggetto in funzione dell'età. Poiché i «binari» delimitano l'intervallo di normalità, eventuali valori che si posizionano al di sotto di essi («tecnicamente» inferiori al 3° percentile) confermano che il bambino è basso per l'età. Per favorire l'inquadramento diagnostico sono importanti altre due valutazioni: 1) il calcolo della velocità di crescita; valutata misurando l'incremento di altezza del bambino nell'arco di almeno 6-12 mesi. Utilizzando le apposite curve dei percentili si verifica che nelle situazioni patologiche la velocità di crescita è generalmente diminuita; 2) la rilevazione dell'età ossea quale parametro dell'età «biologica» del bambino. L'esame si esegue mediante una radiografia del polso e della mano (in genere la sinistra), con la quale si rileva lo sviluppo della componente ossea. Con i dati suddetti è possibile inquadrare alcune situazioni, di frequente riscontro, *che non dovrebbe-*

RELAZIONI

bero essere considerate patologiche, ma semplici varianti dello sviluppo normale: a) bassa statura familiare, in questo caso il deficit staturale del bambino dipende unicamente da fattori ereditari; b) ritardo costituzionale di crescita, in questi bambini la bassa statura dipende dal ritardo dell'età biologica, sono soggetti "indietro" rispetto ai coetanei; c) ritardo di accrescimento intrauterino, la caratteristica di questi soggetti è il basso peso alla nascita, nettamente inferiore rispetto a quello atteso in base alla durata della gravidanza.

Meno frequentemente la bassa statura dipende da cause "patologiche". Diverse malattie endocrine, quindi, possono provocare bassa statura. L'ipotiroidismo, caratterizzato da insufficiente formazione, secrezione ed azione degli ormoni tiroidei è causato da una lesione primitiva della ghiandola tiroide (ipotiroidismo primario) o da mancata stimolazione di una tiroide intrinsecamente normale da parte del suo stimolo fisiologico, l'ormone tireotropo ipofisario o TSH (ipotiroidismo secondario). È valutabile in laboratorio con la misurazione delle concentrazioni sieriche di solo due marcatori: fT4 e TSH. I valori di fT4 (tiroxina libera) contribuiscono a determinare la gravità dell'ipotiroidismo, quelli di TSH aiutano a distinguere l'ipotiroidismo primario da quello secondario. La Sindrome di Cushing è causata da uno stato prolungato di eccesso di cortisolo, o di "ipercortisolismo". Riconosce tra le cause: a) la somministrazione prolungata di glucocorticoidi; b) l'ipersecrezione ipofisaria di ACTH; c) la produzione ectopica di ACTH (ormone adrenocorticotropo) o di CRH (corticotropo releasing factor); c) la ipersecrezione di cortisolo ACTH-indipendente. La diagnosi di laboratorio si esegue con la determinazione dell'escrezione urinaria dei corticosteroidi (Cortisolo Libero Urinario, 17-KS e 17-OHCS urinari) e con la misurazione di cortisolo e ACTH plasmatici in condizioni basali o dopo Test di Nugent e/o Test di Liddle a bassa dose. L'ormone della crescita (growth hormone, GH) è indispensabile per il normale processo di accrescimento del bambino; è prodotto dall'ipofisi, una ghiandola endocrina situata alla base dell'encefalo.

Conclusioni

I test di laboratorio oggi disponibili nelle endocrinopatie in età adolescenziale sono numerosi ma non sempre è agevole la scelta tra essi in termini di appropriatezza e di corretto utilizzo delle risorse umane, tecnologiche ed economiche disponibili. Le linee guida, attraverso specifiche raccomandazioni, basate su dati pubblicati o derivate dal consenso di esperti con logiche di Evidence Based Medicine – EBM -, ci possono aiutare a districarci tra sigle ed acronimi ed a praticare solo quelle indagini diagnostiche che servono al paziente ed al clinico al momento giusto, con modalità corrette e con costi adeguati.

RELAZIONI

LA VALUTAZIONE BIOCHIMICA DELL'OSTEOPOROSI

SALVATORE MINISOLA

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, "Sapienza", Università di Roma

Nei pazienti con accertata o sospetta diagnosi di osteoporosi, indipendentemente dal quadro clinico, andrebbero richiesti alcuni esami ematochimici, semplici e poco costosi che, nella maggior parte dei casi, escludono sia le altre malattie metaboliche dello scheletro che le forme più comuni di osteoporosi secondaria.

Se la storia clinica, l'esame obiettivo ed eventuali alterazioni degli esami biochimici iniziali suggeriscono altre cause di riduzione della massa ossea, è consigliabile l'esecuzione di esami più costosi e mirati, in rapporto al sospetto clinico.

A tale proposito occorre ricordare che non esistono linee guida universalmente accettate su quale sia l'iter diagnostico biochimico più appropriato e costo-efficace per l'individuazione delle forme secondarie di osteoporosi; la scelta di queste indagini è spesso irrazionale e non efficacemente concentrata sulle forme più comuni e per altro verso asintomatiche. Alcune linee guida suggeriscono che una ricerca approfondita delle cause secondarie dovrebbe essere condotta nelle donne in età fertile, nei maschi con numerose fratture da fragilità o in tutti i pazienti nei quali la massa ossea sia particolarmente ridotta rispetto ai valori attesi per l'età. Tuttavia, quest'ultimo criterio appare piuttosto discutibile, poiché non esistono evidenze che pazienti con densità minerale ossea molto ridotta siano più probabilmente affetti da una forma secondaria; il giudizio clinico rimane l'elemento fondamentale che dovrebbe guidare l'approccio diagnostico. Infine, solo quando tutte le altre cause sono state escluse, se il paziente non risponde alla terapia, o si sospetta una causa molto rara di osteoporosi è indicata l'esecuzione della biopsia ossea.

RELAZIONI

IL LABORATORIO NELLE MALATTIE AUTOIMMUNI SISTEMICHE

LOREDANA POSTIGLIONE

Dipartimento Universitario di Scienze Mediche Traslazionali – Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Nelle patologie autoimmuni, la cui eziologia è multifattoriale, l'evento patogenetico fondamentale è caratterizzato dalla produzione da parte del sistema immunitario di anticorpi (autoanticorpi) diretti contro antigeni propri (self).

La diagnosi delle malattie autoimmuni si basa sul riconoscimento di segni e sintomi clinici e nell'individuazione di specifici biomarker (autoanticorpi). Il progresso delle conoscenze sulla natura degli autoanticorpi, la caratterizzazione molecolare dei principali autoantigeni bersaglio e il recente riconoscimento del grande significato diagnostico e prognostico della presenza e della concentrazione di alcuni autoanticorpi nel siero di soggetti affetti da malattie autoimmuni, sono i principali motivi del notevole incremento di richieste di test per la rilevazione di questi analiti.

I test per la determinazione di autoanticorpi comprendono un insieme di procedure estremamente diverse tra loro in termini di metodo, sensibilità, specificità e correlazione clinica. Rispetto ad una decina di anni fa, i test commerciali sono diventati numerosi e le tecnologie si sono diversificate: ai classici metodi di immunofluorescenza indiretta (IFI) si sono aggiunti i metodi immunoenzimatici (ELISA) e di blot, fino ai più recenti arrays antigenici.

La biologia molecolare e le tecniche ad essa connesse sono materia altamente specialistica in continua evoluzione ed hanno un sempre maggiore impatto nell'attività di diagnostica di laboratorio. Infatti, l'avvento delle tecnologie proteomiche e dei microarray modifica radicalmente l'approccio diagnostico passando da una diagnostica basata su test singoli eseguiti in serie a una diagnostica basata su test multipli eseguiti in parallelo. Dal punto di vista genetico è noto che nel caso delle malattie autoimmuni esiste una complessa interazione tra i prodotti di vari geni; le analisi genomiche eseguite con la tecnologia degli array possono rilevare quali geni sono attivati nei diversi tessuti dei pazienti affetti da malattie autoimmuni. La tecnologia degli array, inoltre, favorisce la comprensione di alcuni aspetti patogenetici che possono in futuro avere ripercussioni anche sul fronte terapeutico, quali l'utilizzo di terapie antigene specifiche.

È molto probabile che nel prossimo futuro il progresso tecnologico, e in particolare le tecnologie proteomiche e lo sviluppo dei microarrays, modifichino in maniera sostanziale l'approccio diagnostico alle malattie autoimmuni.

RELAZIONI

LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE NELLE PATOLOGIE IMMUNITARIE: L'ESEMPIO DELLE ALLERGIE ALIMENTARI

VITTORIO SARGENTINI

U.O.C. Patologia Clinica P.T.P Nuovo Regina Margherita, ASL RM/A – Roma

L'allergia alimentare può essere definita come una risposta immune avversa che si verifica con carattere di riproducibilità in seguito all'esposizione ad un determinato cibo. La percentuale delle reazioni allergiche ai diversi alimenti, dimostrate attraverso test di scatenamento in doppio cieco controllato con placebo, varia a seconda del tipo di alimento, attestandosi tra l'1% e il 10,8% verso latte, uova, pesci e arachidi, tra lo 0,1% e il 4,3% verso frutta e noci, tra lo 0,1% e l'1,4% verso altri vegetali ed è inferiore all'1% verso grano, soia e sesamo. Negli ultimi anni si è evidenziato un notevole incremento di allergie alimentari, soprattutto nei bambini, al punto che l'Accademia Europea di Allergologia ed Immunologia Clinica, nel Congresso di Ginevra del 2012 ha sentito la necessità di lanciare un allarme evidenziando come queste rappresentino la prima causa di anafilassi nei soggetti fino a 14 anni, con un terzo di casi di shock registrati durante l'orario scolastico quando è maggiore il pericolo di entrare a contatto con i cibi a rischio e con un incremento, di almeno 7 volte, dei casi in cui la reazione allergica ha comportato il ricorso al pronto soccorso.

Particolare importanza nell'allergia alimentare rivestono le modalità di sensibilizzazione. Questa può avvenire primariamente nel tratto gastrointestinale ed è, in questo caso, legata prevalentemente ad allergeni alimentari di classe I che contengono epitopi sequenziali, stabili al calore, acido e proteasi resistenti; oppure essere una sensibilizzazione secondaria, a partenza dall'apparato respiratorio e legata ad antigeni pollinici cross-reattivi con allergeni presenti per lo più nella frutta e nei vegetali, contenenti epitopi di tipo conformazionale labili al calore e sensibili alle proteasi, gli allergeni alimentari di classe II. L'allergia sostenuta dalla presenza di IgE rivolte contro antigeni sequenziali tende ad essere persistente, con manifestazioni cliniche di tipo sistemico e spesso anafilattico che si manifestano prevalentemente nell'infanzia e nell'adolescenza; quella sostenuta dalle IgE rivolte verso antigeni conformazionali tende ad essere transitoria con manifestazioni cliniche prevalentemente a livello orale e faringeo che compaiono in particolare negli adulti.

Negli ultimi anni è stato possibile, grazie all'uso di tecniche di biologia molecolare, identificare, clonare e produrre, sotto forma di proteine ricombinanti, un notevole numero di molecole allergizzanti, tra le quali molte di quelle responsabili di allergie alimentari. La *Component resolved diagnosis* (CRD), detta anche *Molecular diagnosis* (MD), che utilizza al posto degli estratti le componenti allergeniche rappresentate dagli allergeni molecolari, purificati o ricombinanti, consente di identificare gli allergeni per i quali un paziente si è sensibilizzato, permette di distinguere le sensibilizzazioni primarie dalle forme di cross-reattività e può avere un elevato valore predittivo sulla severità delle manifestazioni cliniche. In particolare, nelle forme di allergia alla frutta della famiglia delle Rosacee e alla frutta secca, sulla base del profilo allergologico di sensibilizzazione del singolo soggetto, ottenuto attraverso l'impiego della diagnostica molecolare, è possibile definire il fattore di rischio di reazioni gravi in seguito all'assunzione dell'alimento, che è basso per le *profiline* e le PR-10 e va ad aumentare per le *Lipid Transfer Protein* (LTPs), le *2S albumine* e le *Cupine*.

In laboratorio la diagnosi molecolare può essere attuata attraverso due distinte strategie: una diagnosi mirata mediante l'utilizzo di singole componenti molecolari che può essere eseguita con lo stesso sistema utilizzato per la ricerca delle IgE specifiche verso gli estratti, applicando dei veri e propri algoritmi diagnostici di approfondimento, oppure attraverso una diagnosi non mirata mediante l'utilizzo di matrici di allergeni precostituite, i *microarray*. L'uno o l'altro dei due sistemi potranno essere impiegati di volta in volta, tenendo conto delle particolari situazioni cliniche, del numero di molecole da testare e della disponibilità delle stesse.

RELAZIONI**LA CONVERSIONE ENERGETICA DELLE BIOMASSE**

FRANCO COTANA

Direttore del CRB – CIRIAF dell'Università degli Studi di Perugia

Il CIRIAF, Centro Interuniversitario di Ricerca sull'Inquinamento da Agenti Fisici dell'Università degli Studi di Perugia, diretto dal prof. Franco Cotana, dispone, nella sua sezione CRB, Centro di Ricerca sulle Biomasse, di laboratori all'avanguardia certificati con protocolli ISO 9001.

Si tratta di laboratori per la caratterizzazione energetica delle biomasse, laboratori di processi termici, biocarburanti e biochemicals, in grado di fornire, solo per citarne una tra le attività attualmente in corso, il supporto alle autorità giudiziarie contro la frode nel commercio di idrocarburi.

Inoltre, alla luce del recente Decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare del 14/02/2013 inerente la promozione del reimpiego di rifiuti non pericolosi per la produzione di Combustibile Solido Secondario (CSS) da utilizzare in cementifici e centrali termoelettriche per la produzione di energia termica ed elettrica, i laboratori del Centro di Ricerca sulle Biomasse sono in grado di eseguire la analisi sul potere calorifico del materiale e sulla presenza di metalli.

Le tecnologie per la conversione energetica della biomassa sono principalmente due: per via biochimica, mediante l'azione di batteri ed enzimi e finalizzata alla produzione di biogas e bioetanolo e per via termochimica, mediante combustione, pirolisi o gassificazione. In questo secondo caso la termovalorizzazione dei rifiuti comporta la problematica della produzione di residui solidi ed emissioni gassose a valle del processo termico; mentre la combustione di biomasse agroforestali vergini, come pellet, cippato, legno da ardere e biomasse residuali, comporta una riduzione drastica degli impatti e costituisce un enorme potenziale in termine di produzione di energia rinnovabile (fino al 70%) in Europa ed in Italia.

Per quanto concerne le biomasse da rifiuto, oggi vengono avviate quasi completamente in discarica, ma costituirebbero un potenziale significativo in termini di produzione di energia rinnovabile e biochemicals. Infatti, nell'ipotesi di una filiera di raccolta differenziata efficiente, la FORSU, Frazione Organica del Rifiuto Solido Urbano potrebbe essere valorizzata energeticamente. Infatti se per assurdo tutto l'umido prodotto in Italia potesse essere trattato mediante 100 impianti di bioraffineria, mediamente uno per provincia, della stessa potenzialità di quello realizzato da Mossi & Ghisolfi in Piemonte, si produrrebbero ogni anno 4 milioni di tonnellate di bioetanolo e 6 milioni di tonnellate di lignina, innalzando la quota di energia elettrica da rinnovabile, e specificamente da biomassa e coprendo il 10% di biocarburanti per i trasporti, come imposto dagli obiettivi comunitari del pacchetto clima-energia.

Dal pretrattamento della FORSU viene separata la frazione lignocellulosica dalla frazione umida. La prima componente, se indirizzata a processi biochimici, consente la produzione di bioetanolo e lignina; mentre l'altra viene valorizzata tramite la tecnologia anaerobica del biogas producendo energia elettrica e calore, per un totale di un 15% di energia rinnovabile.

RELAZIONI

STUDIO DELL' ATTIVAZIONE DELL' EMOSTASI CON METODI GLOBALI: LORO APPLICAZIONE IN CLINICA

^ACLAUDIA PAPI, ^{B,C}ILARIA ROMAGNUOLO, ^BELENA STICCHI, ^BSANDRA FEDI, ^BANNA PAOLA CELLAI, ^BDONATELLA LAMI, ^BAGATINA ALESSANDRELLO LIOTTA, ^BANGELA ROGOLINO, ^BGABRIELE CIONI, ^DIVO NOCI, ^BROSANNA ABBATE, ^BCINZIA FATINI

^a*Laboratorio Generale, Ematologia e Coagulazione, Azienda-Ospedaliera-Universitaria-Careggi*

^b*Dipartimento di Area Critica Medico-Chirurgica, Centro Trombosi, Università di Firenze, Azienda Ospedaliera-Careggi*

^c*Fondazione FiorGen, Firenze*

^d*Centro di Fisiopatologia della Riproduzione Umana, Università di Firenze, Azienda-Ospedaliera Careggi*

Numerosi dati della letteratura dimostrano come l' utilizzo di ormoni esogeni possa instaurare uno stato pro trombotico.

L'oggetto di questa studio è stato quello di valutare e monitorare nel tempo, con l' utilizzo di metodi di studio globali, l'attivazione del sistema emostatico nel suo insieme nel corso dell' iperstimolazione ormonale che precede le procedure di procreazione medicalmente assistita (PMA).

Lo studio è stato effettuato su una popolazione di 62 donne sane infertili, previo loro consenso informato, afferite al Centro di Fisiopatologia della Riproduzione Umana dell' Università di Firenze per sottoporsi a PMA. Sono state escluse dallo studio le donne che presentavano uno o più fattori di rischio per trombofilia ereditaria.

I metodi globali utilizzati sono stati: la determinazione del potenziale trombinico endogeno (ETP) per lo studio dell' attivazione della coagulazione, la determinazione del Clot Lysis Time (CLT) per lo studio dell' attivazione del sistema fibrinolitico unitamente alla determinazione del Tissue factor Pathway inhibitor (TFPI) quale inibitore della coagulazione e quella dell' Antigene dell' inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1ag) quale inibitore della fibrinolisi attivabile da trombina.

Per quanto concerne l'andamento del parametro ETP (mA) è stato osservato un suo significativo aumento al tempo T¹ [450,4mA (228,5-523,1); p=0,05] seguito da una riduzione dei valori al tempo T² e da un successivo significativo incremento al tempo T³ [440,1mA (371,9-520,9); p=0,04] rispetto ai valori di base.

Relativamente all'andamento dei valori di TFPI valutato ai diversi tempi di stimolazione (T0-T3), è stata osservata una sua progressiva e significativa riduzione (p=0,003).

La valutazione dell'andamento dei parametri fibrinolitici ha messo in evidenza un significativo aumento del CLT(min) al T¹ [73 (40-150); p=0,03] seguito da una sua riduzione al tempo T² per rimanere stabile fino al termine della procedura T³.

I valori di PAI-1 aumentavano significativamente dal T⁰ [13.0(4.0-100.0)] al T1 [18.7 (9.7-140.7); p=0,01], per poi ridursi ai tempi successivi di stimolazione T² e T³ rimanendo comunque più elevati del livello rilevato a T⁰.

I risultati ottenuti hanno evidenziato una attivazione della coagulazione globalmente considerata accompagnata dal progressivo instaurarsi di uno stato ipofibrinolitico fenomeni che raggiungono la massima evidenza al T¹, in concomitanza con il momento di massimo carico ormonale. Un dato interessante è stato l' aumento dei livelli di TAFI, attivatore della fibrina attivabile dalla trombina al T¹, fase di massima stimolazione in cui si osserva il massimo grado di attivazione della risposta coagulativa ed il minimo grado della risposta fibrinolitica.

RELAZIONI

L'IMPORTANZA DEL CONTROLLO DI QUALITÀ C.Q.I E DELLA PARTECIPAZIONE A PROGRAMMI VEQ PER LA GESTIONE DELLA QUALITÀ ANALITICA

MARIA ROSARIA ANDREOZZI

Azienda Ospedaliera S.Giovanni Addolorata U.O.C Anatomia Patologica

Nella relazione è esplicitata l'importanza del ruolo del Tecnico di Laboratorio nell'effettuare il Controllo di Qualità Interno (C.Q.I) e la Valutazione Esterna di Qualità (V.E.Q.), attività fondamentali per assicurare la qualità e l'accuratezza dei risultati forniti dal Laboratorio di Patologia Clinica. Per C.Q.I s'intende un insieme di tecniche e attività operative utilizzate per soddisfare i requisiti di qualità di un prodotto/ servizio. Esse ci permettono di mettere in atto una serie di azioni ex – post, che ci consente di intervenire sul processo produttivo per modificarlo, eliminando le cause di prestazioni inadeguate. Il controllo di qualità serve ad assicurare la validità clinica del dato di laboratorio per un corretto utilizzo nella pratica clinica, con una valenza etica, scientifica ed anche economica. La gestione del controllo dei dati è fondamentale nel lavoro all'interno del laboratorio clinico e, pertanto, la formazione del personale tecnico deve seguire le evoluzioni e le novità che in questo campo si propongono.

Il laboratorio deve svolgere programmi di Controllo Interno di Qualità e partecipare a programmi di Valutazione Esterna di Qualità promossi dalle Regioni, o in assenza di questi, a programmi validati a livello nazionale o internazionale. Lo scopo del C.Q.I. è di garantire, attraverso il controllo dell'imprecisione e in accuratezza, che l'errore analitico sia contenuto entro livelli predeterminanti, che assicurano la significatività del risultato ai fini dell'utilizzo clinico.

È chiarito quale sia l'obiettivo del C.Q.I una volta definiti i limiti di accettabilità per ogni test, mantenere sotto controllo la precisione del metodo quotidianamente attivando interventi correttivi, per le sedute ritenute fuori controllo.

La V.E.Q è una valutazione e non un controllo perché la determinazione è periodica e retrospettiva.

È un procedimento che fornisce una valutazione a posteriori dell'attendibilità analitica utilizzando i risultati di analisi eseguite in diversi laboratori che analizzano gli stessi campioni. La V.E.Q. è un confronto, gestito da un ente organizzatore esterno fra risultati di vari laboratori ottenuti su campioni uguali. Il confronto interlaboratorio verifica la performance del laboratorio in modo retrospettivo, dando indicazioni su: qualità analitica del partecipante, variabilità interlaboratorio sul dato (comparazione tra laboratori), errore sistematico per ciascun partecipante.

Uno schema di V.E.Q consente la valutazione dello standard generale delle prestazioni di laboratorio perché fornisce informazioni di sicura significatività statistica, misurando le prestazioni rispetto a norme ben definite.

RELAZIONI

TECNICHE DI ISTOCOMPATIBILITA' NEL TRAPIANTO DI ORGANO

CLAUDIA CECCARELLI, ELEONORA MATTEUCCI, TERESA MORGANI, SILVIA COLLIPA, CRISTINA FERRARI, ANNA LAURA PUTIGNANO, MONICA DE DONNO, MAURIZIO GENUARDI, GIOVANNI ROMBOLA

Laboratorio di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze

Introduzione

Il sistema HLA è il principale componente dell'MHC e viene studiato per verificare e garantire la compatibilità tra donatore e ricevente in ambito trapiantologico. Lo studio dell'istocompatibilità si basa quindi sul match HLA tra donatore e ricevente e sulla verifica di pregressa immunizzazione tramite la ricerca anticorpale.

Scopo

Lo scopo di questa ricerca è stato valutare sensibilità e specificità della tecnologia Luminex nell'ambito dello studio dell'istocompatibilità, con riferimento allo studio sierologico e alla tipizzazione HLA.

Materiali e metodi

Per questo studio ci siamo avvalsi della tecnologia Luminex con la quale abbiamo studiato un gruppo omogeneo di pazienti con alle spalle un evento immunologico ben testimoniato, come un trapianto, utilizzando i kit LABScreen Mix, ID1, ID2 ed i kit LABType per i loci A, B, C, DRB1 e DQ per l'introduzione della tipizzazione HLA.

Discussione

Per valutare la sensibilità di questa tecnologia abbiamo testato la sua capacità di intercettare un evento immunologico ben testimoniato, come un precedente trapianto. A questo scopo sono stati analizzati i sieri dei 128 pazienti che sono rientrati nella lista toscana trapianto rene da cadavere. Sono stati analizzati con il kit LABScreen Mix ed è emerso che ben l'89% di questi ha prodotto anticorpi di classe IgG. La tecnologia Luminex risulta quindi adeguata nell'intercettare le conseguenze di un evento immunologico, indipendentemente dal tempo trascorso dallo stesso.

Successivamente è stata valutata la sua specificità andando ad indagare, con i kit LABScreen ID1 ed ID2, se gli anticorpi prodotti da questi pazienti fossero riferibili chiaramente al precedente trapianto. Il 93,8% di loro risulta aver prodotto DSA, anticorpi specifici rivolti contro antigeni HLA del precedente donatore. Questa tecnologia rivela quindi un'altissima capacità di individuare DSA.

Infine si è voluto valutare la capacità di questa tecnologia di individuare anticorpi anti-HLA clinicamente significativi. A questo scopo, i 113 pazienti risultati positivi al test qualitativo sono stati suddivisi in pazienti con diagnosi istologica di rigetto (81) e pazienti con diversa causa di cessata funzione d'organo (32). Degli 81 pazienti con diagnosi di rigetto, ben 80 (98,7%) presentano DSA. Quindi questa tecnologia si rivela estremamente sensibile, specifica e capace di rivelare anticorpi clinicamente significativi.

È stato deciso di introdurre questa tecnologia anche nella tipizzazione HLA. A questo scopo questa tecnica è stata sottoposta a validazione interna (side-by-side con la tecnologia in uso e validata) ed esterna, partecipando retrospettivamente e prospettivamente a controlli di qualità ISS.

RELAZIONI

LA GESTIONE REMOTA DEL POCT: OPPORTUNITA' PRESENTI E FUTURE

MARIA ROSARIA ANDREOZZI

Azienda Ospedaliera S. Giovanni Addolorata U.O.C Anatomia Patologica

La Sanità oggi ci pone davanti a tre quesiti molto importanti: quello della novità in campo scientifico e tecnologico, la diminuzione delle risorse, e la crescente domanda di salute. La scelta strategica è nell'esigenza di adottare un sistema di gestione per la qualità o meglio garantire prestazioni efficaci ed efficienti, ottenere un miglioramento continuo dei processi, e raggiungere il più alto grado di soddisfazione del cliente – utente.

Per definizione il Laboratorio Analisi è un sistema di alta complessità organizzativa, produttività e della gestione, in un ambiente ad alta tecnologia e alta professionalità. La diagnostica in vitro è sempre l'espressione di una delle più riuscite applicazioni d'integrazione della scienza e della tecnologia.

Lo scenario evolutivo sono i laboratori d'emergenza i Point of Care Testing (POCT) con questo termine si definisce il modo con il quale si possono eseguire i test analitici al di fuori delle strutture del Laboratorio clinico di riferimento che non chiede spazi strutturati permanenti ma kit e strumentazioni trasportabili manualmente in prossimità del paziente per l'esecuzione immediata dei test analitici.

Il POCT si è andato sviluppando alla costante e crescente pressione di ridurre il tempo di risposta (turnaround time – TAT) nelle realtà cliniche nelle quali è indispensabile assumere decisioni in tempi rapidi (Pronto Soccorso e Reparti d'Emergenza, Terapie intensive, Chirurgie, etc.). In una situazione nella quale la velocità di risposta diviene l'elemento cruciale per attivare le analisi decentrate, diviene essenziale considerare la realtà organizzativa dell'intera struttura nella quale opera il Servizio di Laboratorio. Infatti il tempo di risposta analitico è una variabile poco influente nel determinare il tempo di risposta complessivo e certamente non rappresenta l'elemento differenziale fra il Laboratorio centralizzato e punto di cura.

Non vi è dubbio che in realtà complesse, con strutture multiple e distanze efficaci fra Reparti e Laboratorio, l'attivazione di analisi decentrate rappresenti una necessità più che una possibilità.

Le analisi decentrate rappresentano, un'incredibile opportunità per la medicina di laboratorio di legare l'attività analitica complessiva agli esiti clinici.

RELAZIONI

L'OUTSOURCING (ESTERNALIZZAZIONE)

FRANCESCO LUCA

Coordinatore Nazionale FASSID

Il termine outsourcing deriva dall'inglese: Outside Resourcing e significa procurarsi all'esterno. Sinonimi sono esternalizzazione e terziarizzazione. Consiste nell'affidare le attività necessarie per il funzionamento di un'azienda sanitaria, tradizionalmente interne ad essa, alla gestione di organizzazioni esterne specializzate. Tali attività esternalizzate non devono costituire il "core business" dell'azienda sanitaria. Il "core business" di un'azienda sanitaria è assistere e curare i pazienti. In altre parole, ove la legge lo consenta, l'utente (AZIENDA-CLIENTE o *Outsourcer*) può trasferire mediante il contratto di outsourcing ad un'azienda esterna (FORNITORE ESTERNO o *Outsourcer*) l'effettuazione di quelle attività "strategiche", ma non di fondamentale importanza, e di quelle "non strategiche" quando queste risultano troppo onerose per essere gestite proficuamente all'interno dell'azienda sanitaria stessa. Questa opportunità consente ad un'azienda sanitaria di valorizzare le proprie competenze al suo interno e di concentrarsi sulle proprie attività a maggiore valore aggiunto, contenendo i costi e in modo da avere i mezzi necessari al proprio sviluppo.

Nei rapporti di outsourcing si distinguono tre soggetti:

- 1) Azienda che assegna il servizio: Cliente o committente o *outsourcer*;
- 2) Azienda che riceve l'incarico di eseguire il servizio: fornitore, vendor, partner o *outsourcer*.
- 3) Cliente finale: può essere l'utente interno che usufruisce del processo assegnato in outsourcing. Tipi di outsourcing

Full outsourcing

Ceduta all'*outsourcer* la gestione di un'intera funzione (es. gestione personale, evoluzione degli applicativi ecc.), ma secondo criteri e finalità comuni tra cliente e fornitore esterno, mediante una condivisione dell'aspetto organizzativo e degli obiettivi.

Outsourcing di base

Il committente affida all'*outsourcer* la totale o parziale gestione di un settore (gestione operativa), conservando al proprio interno il controllo delle operazioni.

Outsourcing funzionale

Affidamento di singole funzioni o parti di esse (es. sistemi informativi, ufficio legale, risorse umane, telecomunicazioni, amministrazione, formazione ecc.).

Joint-venture outsourcing

Il fornitore e il cliente condividono rischi e remunerazioni.

Vantaggi

accrescere l'efficienza e ridurre i costi; fare ricorso a tecnologie più avanzate; concentrarsi sulle attività strategiche; rendere disponibili risorse da indirizzare ad altri fini; concentrare l'attenzione su altri aspetti quali la verifica qualità dei servizi e su livello di soddisfazione dell'utenza; soddisfare più rapidamente le richieste dei clienti.

Svantaggi

aumenta la probabilità della corruzione per il maggiore ricorso ad affidamenti anche tramite gare;
 è contrario all'etica del servizio pubblico, per sua natura no-profit, nell'ipotesi in cui il privato che acquisisce il contratto si pone comunque l'obiettivo del profitto;
 accresce il rischio di dipendenza;
 genera perplessità sull'affidamento delle responsabilità;
 impone ulteriori obblighi di controllo del cliente sul corretto esercizio delle attività affi-

RELAZIONI

date all'esterno e lo espone, conseguentemente, a forme di responsabilità (civili o penali) per *culpa in eligendo* o *in vigilando*.

L'outsourcing nel settore sanitario

I settori in cui viene utilizzato l'outsourcing per le apparecchiature comprendono: servizi sanitari/amministrativi; area medicina generale e specialistica; area chirurgia generale e specialistica; area emergenze; area diagnostica per immagini; area socio-assistenziale; servizi veterinari.

I servizi che sono affidati a organizzazioni esterne possono essere:

- consulenze professionali
- pulizia, disinfezione e sanificazione
- lavanderia
- security
- sterilizzazione dispositivi medico/chirurgici
- ristorazione/catering
- manutenzione e controlli di qualità apparecchiature.

I prerequisiti per la scelta del partner comprendono:

- Responsabilità
- Affidabilità
- Competenze
- Capacità a mettersi in relazione con le esigenze della struttura sanitaria.

Da entrambe le parti (Cliente-Fornitore) deve esserci l'impegno a realizzare un tavolo permanente che possa monitorare la totalità dei servizi esistenti e che valuti le finalità che si intendono perseguire nell'ambito della esternalizzazione di servizi, al fine di conseguire equi rapporti con il mercato, tutela dei lavoratori e sostenibilità del sistema, nonché per assicurare comunque i più alti livelli possibili di qualità e sicurezza.

La formazione del personale della Ditta appaltatrice deve essere svolta e certificata in conformità sulla base di quanto disposto dal D.Lgs. 81/08 (recante il Testo Unico della salute e sicurezza sul lavoro) e s.m.i.

La responsabilità dei livelli di qualità attesi resta in capo all'Azienda sanitaria appaltatrice che deve mettere in essere un'idonea metodologia e struttura per un costante controllo del servizio erogato.

Responsabilità

L'idea che esternalizzando si "delega la responsabilità" non corrisponde al vero, dovendo la ditta appaltatrice rispondere, in caso di mancanza o non conformità, di "inadempimento contrattuale" e non di "interruzione di pubblico servizio". Sono anche per tale motivo da privilegiare i servizi non "strategici" preferendo una logica di partnerariato ("partnership"). Ma, soprattutto, a fronte dell'eventuale responsabilità per colpa professionale dell'outsourcer potrà essere chiamato a rispondere, sia in sede civile che penale, anche l'outsourcee cui potrebbe imputarsi, verosimilmente, una culpa in eligendo o in vigilando.

Dal punto di vista penale l'imputazione dell'evento sarebbe fondata non su di una colpa professionale in senso stretto – evidentemente non personalmente riferibile all'outsourcee – ma sull'inadempimento di un obbligo in vigilando o in eligendo che risulti connesso all'esercizio dell'attività professionale affidata.

Sul versante civilistico la questione fondamentale sembra essere se l'outsourcee possa rispondere ai sensi degli artt. 2049 o 2050 c.c. e, quindi, secondo uno schema di responsabilità molto esteso, ovvero ai sensi della fattispecie generale di illecito civile ai sensi dell'art. 2043 c.c. Ove la risposta fosse nel primo senso, la conseguenza sarebbe che l'esternalizzazione non produrrebbe alcun effetto di esonero o di limitazione della responsabilità per il committente, non produzione alcuna modificazione del perimetro delle responsabilità di quest'ultimo, rispetto alle attività non esternalizzate.

Un'attività di tale tipo per essere di buona qualità deve generare una soddisfazione del cliente/paziente e del cliente intermedio (coloro che operano all'interno delle Aziende stesse); entrambi infatti usufruiscono in modo diretto ed indiretto dei servizi in gestione esterna.

RELAZIONI**IPERPRODUZIONE E IPERCONSUMO**

ANNARITA MARTINI

Responsabile UOSD ASL RM G Tivoli e Tesoriere Nazionale FASSID

La situazione di progressiva carenza di medici dell'area dei "servizi" indicata dai dati FNOMCeO 2012, in rapporto con la crescente richiesta di prestazioni specialistiche (sia in ambito ospedaliero che territoriale) ha generato livelli di attività ormai insostenibili per i singoli professionisti e ritardi e disagi per gli assistiti. In modo analogo l'incentivazione della distribuzione diretta dei farmaci da parte delle Aziende Sanitarie ha determinato, insieme ad una drastica diminuzione della spesa per l'assistenza farmaceutica, un maggiore impegno per i farmacisti dipendenti del SSN.

"Il processo di tariffazione regionale ha portato ad una forte differenziazione dei livelli di remunerazione delle prestazioni specialistiche, apprezzabile andando ad analizzare le singole tariffe che mostrano differenze fino a 80 volte tra una Regione e l'altra". (Rapporto Sanità 2009, CEIS Sanità, Facoltà di Economia, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"). I singoli provvedimenti regionali di compartecipazione alla spesa alla luce delle recenti normative hanno ulteriormente aggravato la disomogeneità dei SSR: "Al 27% degli italiani è capitato di constatare che il ticket per una prestazione sanitaria era superiore al costo da sostenere nel privato, pagando tutto di tasca propria (il dato sale al 37% nelle Regioni con Piani di rientro) ... tagli e spending review per il 61% degli italiani hanno prodotto l'effetto di ridurre i servizi pubblici e abbassarne la qualità, piuttosto che eliminare gli sprechi e razionalizzare le spese (RBM Salute-Censis «Scenari evolutivi per il welfare integrativo»-maggio 2013).

Alla luce di una crisi economica europea i cui effetti devastanti sui SSN dei vari paesi comincia a manifestarsi in particolare nella salute mentale (depressione, suicidi) e nella tendenza a non "curarsi" per risparmiare, si evidenzia la necessità di un intervento forte del Ministero della Salute per evitare gli sprechi e le disparità, utilizzando gli strumenti dell'appropriatezza e dell'HTA.

RELAZIONI

TUMOR IMMUNOLOGY

FRANCESCO DIELI^{1,2} AND ADRIAN HAYDAY^{3,4}

¹*Biomedical Research Centre and*

²*Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche e Forensi, Università di Palermo;*

³*Biomedical Research Centre, Guy's and St Thomas' Hospitals and King's College London and* ⁴*London Research Institute, CRUK, UK*

The most common contemporary depiction of the immune response is an early innate response, mounted by myeloid cells, followed by a delayed adaptive lymphoid responses mounted by lymphocytes. This depiction is based on myriad compelling data sets and has made powerful predictions with biological and clinical relevance. Nonetheless, it seems incomplete. Thus, there are lymphocytes that respond very rapidly, commonly to self-encoded molecules over-expressed by dysregulated and/or transformed tissues and cells. The evidence for such “lymphoid stress-surveillance” by $\gamma\delta$ T cells has been provided by animal models, and supports ongoing clinical investigations of the potential host-protective role of $\gamma\delta$ T cells in cancer. $\gamma\delta$ T cells recognize non peptidic phosphoantigens that are produced through the isoprenoid biosynthesis pathways. Phosphoantigens are not stimulatory at physiologic levels, but transformed and infected cells, produce increased levels of metabolic intermediates that are able to activate $\gamma\delta$ T cells. Accordingly, $\gamma\delta$ T cells can also be activated, through an indirect mechanism, by aminobisphosphonates, a class of drugs used to treat certain bone diseases, that inhibit farnesyl pyrophosphate synthase, and cause accumulation of endogenous upstream metabolites such as isopentenylpyrophosphate. $\gamma\delta$ T cells may indirectly contribute to the immune defense against cancer cells, by producing cytokines or cross-talking with dendritic cells, macrophages and B cells. Additionally, $\gamma\delta$ T cells perform direct potent cytotoxic activity toward cancer cells, which is mediated in much the same manner as for CD8 T cells and NK cells, through perforin/granzyme, Fas/FasL, TNF/TNF-R and TRAIL-TRAIL-R pathways.

In recent years we have been aimed to determine whether aminobisphosphonate treatments with and without cytokines activate $\gamma\delta$ T cells in patients, to determine whether any such activation is safe and/or efficacious, and to find out biomarkers of such protective responses.

The phenotype and functional potentials of $\gamma\delta$ T cells have been monitored in a spectrum of patients receiving zoledronate (zometa), while the activation of $\gamma\delta$ T cells *in situ* was attempted in a small two arm trial carcinoma patients, using zoledronate with and without interleukin-2.

The most consistent response appears to be an upregulation of an activating receptor, NKG2D, which can mediate the functional response to transformed cells. In the small two arm trial in prostate and breast cancer, there were good indicators of safety and functional activation, including the consistent upregulation of the cytolytic mediator TRAIL and interferon- γ . However, cell exhaustion proved to be a concern. This provoked the idea of coupling $\gamma\delta$ T cell activation *in vivo* with adoptive cell transfer, studies of which are now ongoing, and will be presented.

The lymphoid stress-surveillance responsiveness of $\gamma\delta$ T cells has many biological characteristics desired of cancer immunotherapy. Ongoing experiments in several countries collectively show good safety and promising results. Moreover, there is the potential for such treatment to strongly synergise with chemotherapy.

RELAZIONI**INTEGRAZIONE FRA SIEROLOGIA E BIOLOGIA MOLECOLARE NELLA DIAGNOSI DELLE INFEZIONI DA CYTOMEGALOVIRUS E TOXOPLASMA GONDII IN GRAVIDANZA**

ALESSANDRA SENSINI, ROBERTO CASTRONARI, MICHELA SCARPELLONI, NICOLETTA ZEPPARELLI, ELEONORA PISTONI, FRANCESCO BISTONI

Sezione Microbiologia, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università degli Studi di Perugia, S.C. Microbiologia, Ospedale "S. Maria della Misericordia", Perugia

Le infezioni da cytomegalovirus e *Toxoplasma gondii* costituiscono la più frequente sfida diagnostica, relativamente alle infezioni contratte in gravidanza, che il Laboratorio di Microbiologia si trova ad affrontare. Nonostante siano causate da microrganismi totalmente diversi, un virus e un protozoo, queste due infezioni hanno in comune la frequente asintomaticità o paucisintomaticità e, di conseguenza, solo raramente si riesce a formulare una diagnosi di infezione acuta. Nella diagnosi di un'infezione che può essere trasmessa al prodotto del concepimento, occorre rispondere a 3 precisi quesiti: 1. l'infezione è stata contratta durante la gravidanza? Bisogna dimostrare o escludere l'infezione materna. 2. L'infezione è stata trasmessa al feto? Bisogna dimostrare o escludere l'infezione fetale. 3. Il neonato è infetto? Bisogna dimostrare o escludere l'infezione neonatale. Per rispondere in modo esauriente a questi quesiti il Laboratorio di Microbiologia deve saper integrare in modo ottimale le tradizionali e recenti tecniche sierologiche con le indagini molecolari per la ricerca del DNA dei microrganismi in causa. In ambedue le infezioni, il primo approccio diagnostico è sierologico, si basa cioè sulla ricerca nel siero della donna in gravidanza di anticorpi di classe G (IgG) e M (IgM). Nella maggior parte delle volte questa doppia determinazione è sufficiente per definire in modo chiaro se la donna ha contratto l'infezione o è a rischio di contrarla. La positività per IgM è l'incubo dei laboratoristi, in quanto rappresenta un campanello d'allarme, ma non basta da sola a diagnosticare un'infezione acuta o recente. Il test di avidità di IgG si è dimostrato molto utile nel chiarire alcuni quadri sierologici, pur presentando anch'esso alcuni limiti. La diagnostica molecolare non è utile nella definizione dell'infezione acuta da *Toxoplasma gondii*, poiché il protozoo è già rinchiuso all'interno delle cisti tissutali al momento della comparsa degli anticorpi. Al contrario, la ricerca del DNA nel sangue viene consigliata in caso di sospetta infezione primaria da cytomegalovirus. Purtroppo, come spesso accade in Microbiologia, la positività conferma l'infezione primaria e la negatività non la esclude. Il passo successivo consiste nella dimostrazione dell'infezione fetale. In questo la ricerca di DNA nel liquido amniotico ha decisamente sostituito la diagnosi sierologica, che si basava sulla ricerca di IgM fetali nel sangue funicolare. La specificità e la sensibilità dei test molecolari sono elevate, ma per un risultato affidabile devono essere rispettati alcuni criteri, come ad esempio l'epoca gestazionale al momento del prelievo e l'intervallo di tempo dal presunto inizio dell'infezione. Relativamente all'infezione da *Toxoplasma gondii*, l'amniocentesi è consigliata intorno alla 18° settimana di gravidanza, mentre bisogna attendere la 21° per l'infezione da citomegalovirus per la maturazione dell'apparato urinario fetale, poiché si cerca il virus eliminato con le urine. L'intervallo di tempo tra il presunto inizio dell'infezione e il prelievo di liquido amniotico è giustificato dal fatto che esiste un periodo di latenza fetale, quello, cioè, che intercorre tra l'infezione materna e l'infezione fetale, la cui durata non è ben conosciuta, ma che può essere anche lungo. Pertanto, si consiglia di aspettare 4-6 settimane (6-8 secondo alcuni autori) prima dell'amniocentesi. Quanto detto vale sia per *Toxoplasma gondii* che per cytomegalovirus. Il DNA di *Toxoplasma gondii* può anche essere ricercato nella placenta, ma una eventuale positività non rappresenta prova di infezione fetale, perché il protozoo può rimanere localizzato nella placenta e non essere trasmesso al feto, e una negatività non esclude l'infezione fetale. La diagnosi neonatale dell'infezione

RELAZIONI

da *Toxoplasma gondii* si basa ancora oggi sulla sierologia, e più precisamente sul monitoraggio sierologico del neonato, poiché il particolare ciclo di vita del protozoo ne impedisce l'eliminazione da parte degli ospiti intermedi. Si può cercare il DNA nel sangue, per dimostrare una parassitemia asintomatica. La ricerca in altri campioni biologici, quali le urine e il liquido cefalo-rachidiano, viene consigliata solo in caso di toxoplasmosi congenita clinicamente manifesta. Il neonato con infezione congenita da cytomegalovirus elimina virus in tutti i liquidi biologici ed è, quindi, estremamente facile dimostrarla. Le urine rappresentano il campione di scelta, purché raccolte entro le prime 2 settimane di vita, altrimenti diventa difficile la distinzione fra infezione congenita e infezione perinatale. Il gold standard viene ancora considerata la coltura virale, ma è ormai stata sostituita nella pratica diagnostica dall'amplificazione genica. In caso di risultato negativo, data l'elevata sensibilità della metodica, il neonato viene considerato non infetto e non si procede oltre. In caso di positività, si può eseguire la ricerca di DNA nella saliva e nel sangue per completare il quadro clinico.

In conclusione, compito del Laboratorio è quello di saper integrare i diversi sistemi diagnostici, vecchi e nuovi, per giungere ad una diagnosi la più completa e affidabile possibile.

RELAZIONI**LE RESISTENZE BATTERICHE IN OSPEDALE: “HOT POINTS” D’ATTUALITÀ**

GERARDINO AMATO

*Responsabile U.O.S. di Microbiologia Clinica
Direttore Laboratorio di Patologia Clinica
A.O.R.N. Cardarelli - Napoli*

Il problema delle resistenze agli antibiotici nei batteri rappresenta una delle maggiori sfide della sanità al giorno d’oggi. L’entità di tale fenomeno condiziona, da un lato un notevole incremento della spesa sanitaria e dall’altro un aumento di morbilità e di mortalità nei pazienti ricoverati con le logiche conseguenze che tutti conoscono.

L’ambiente ospedaliero, con l’uso delle diverse molecole antimicrobiche, seleziona le specie batteriche maggiormente attrezzate a sviluppare resistenze ed a divenire gli agenti eziologici delle patologie nosocomiali contro le quali quotidianamente si confrontano i Microbiologi Clinici.

Le resistenze agli antibiotici sono presenti anche tra gli agenti delle infezioni comunitarie, ma l’entità e la gravità del fenomeno sono inferiori a quelle reperibili in ambiente ospedaliero.

Verrà focalizzata l’attenzione sulle problematiche delle resistenze relative alle infezioni da *Staphylococcus aureus* e saranno citati alcuni aspetti relativi alle infezioni da Gram negativi non fermentanti quali *Pseudomonas aeruginosa* ed *Acinetobacter baumannii*.

I ceppi di *Staphylococcus aureus* che circolano in ospedale sono produttori di beta-lattamasi (Penicillinasi) in oltre il 90% dei ceppi ed esprimono spesso anche il carattere di resistenza alla Meticillina (Met-R), che com’è noto determina resistenza a tutte le Penicilline (anche con inibitore suicida), Cefalosporine (compresi Carbapenemici), spesso associata a resistenza verso altre classi di farmaci: Macrolidi, Lincosammidi, Tetracicline, Chinolonici, Aminoglicosidi, Rifampicina.

I Glicopeptidi (Vancomicina e Teicoplanina) sono stati a lungo tra i farmaci più efficaci nelle infezioni gravi da Stafilococchi, fino alla segnalazione in Giappone di ceppi di *Stafilococco VISA* (intermedi secondo NCCLS a Vancomicina) o *GISA* (intermedi a Glicopeptidi) che poi si sono diffusi in tutto il mondo.

Stafilococchi pienamente resistenti a questi farmaci (acquisizione del gene VAN-A) sono ora segnalati e devono essere ricercati ed individuati nei laboratori di Microbiologia, anche se rappresentano una consistente minoranza (poche decine di stipiti nel mondo). Molta più importanza sta assumendo l’incremento della MIC verso Vancomicina che rappresenta uno dei punti più caldi della terapia anti stafilococcica.

Per i germi Gram negativi le forme di resistenza sono diversificate nelle diverse specie microbiche: in *Pseudomonas aeruginosa* vediamo spesso resistenza multipla con attività conservata solo per Colistina, mentre in *Acinetobacter baumannii* assistiamo ad inefficacia dei Carbapenemici, causata nei nostri isolati dalla produzione di Carbapenemasi Oxa 58. Anche contro questa specie la Colistina rimane efficace. Tra gli enterobatteri grande importanza clinica riveste lo svelare oltre alla presenza di ESBL che conducono a resistenza a gran parte delle betalattamine, anche l’individuazione delle cefalosporinasi quale le AmpC e soprattutto le Carbapenemasi sia con metallo (MBL), che con serina (KPC) e le Oxacillinasi.

Indubbiamente la rilevazione delle Carbapenemasi negli Enterobatteri e l’aumento delle MIC di Vancomicina in *Staphylococcus aureus* rappresentano i due momenti dell’attualità ospedaliera delle resistenze in tutto il territorio nazionale.

Da quanto finora riferito appare chiaro come il Microbiologo debba tendere più a svelare le resistenze piuttosto che ricercare le sensibilità, in quanto la correttezza dei referti (con o

RELAZIONI

senza automazione e sistemi esperti) deve essere valutata, trasmessa al curante e vagliata dall'esperienza e dalla conoscenza dei meccanismi biologici di resistenza.

Verranno riportati i dati epidemiologici riscontrati nel nostro Ospedale, relativamente alle specie batteriche sopra citate, mostrando le metodologie atte a svelare le varie forme di resistenza nell'ottica di individuarne le ricadute cliniche, per giungere ad una terapia antimicrobica che sia il più efficace possibile alla luce delle conoscenze a nostra disposizione.

RELAZIONI

TECNICHE DI T DEPLEZIONE NEL TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE

FRANCO AVERSA

*Sezione di Ematologia e Centro Trapianti Midollo Osseo
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Parma*

L'eliminazione ex vivo dei T-linfociti del donatore dall'inoculo (T-deplezione) rappresenta, nonostante il vasto armamentario di immunosoppressori disponibili in commercio, la migliore profilassi della graft-vs-host disease (GvHD) dopo trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (CSE). Indipendentemente dalle diverse tecniche adottate negli anni, è utile sottolineare che la T-deplezione ha messo in evidenza il ruolo fondamentale del regime di condizionamento nel controllo del rigetto e della recidiva della emopatia di base. In effetti, una volta eliminati i T linfociti dall'inoculo, si crea una condizione di svantaggio tra donatore e ricevente a causa della persistenza, nel ricevente, di un sistema immunologico ancora in grado di rigettare le CSE del donatore. Condizionamenti convenzionali, quali Total body irradiation+Ciclofosfamide (TBI/CY) o Busulfano+Ciclofosfamide (BU/CY), non garantiscono una eradicazione del sistema immune del ricevente né della malattia leucemica residua. In effetti, l'adozione di regimi di condizionamento compensati sul versante immunomielo-ablativo hanno consentito di superare il problema del rigetto dopo T deplezione.

La T deplezione è stata inizialmente (anni 80 del secolo scorso) effettuata con metodologia immuno-fisica basata sull'agglutinazione T linfocitaria selettiva della lectina soybean agglutinin (SBA) seguita da E-rosettazione con emazie di montone. In virtù della capacità di ottenere una deplezione di almeno 3-4 log di T linfociti da midolli ossei di donatori HLA-identici, la quota di T linfociti mediamente infusi è di circa $3 \times 10^4/\text{kg}$ e con questo livello la GvHD acuta e cronica è prevenuta nella quasi totalità dei casi con indubbio vantaggio sulla qualità di vita dei pazienti lungo sopravvivenza.

Negli anni successivi, la T-deplezione basata su metodiche immunofisiche è progressivamente uscita di scena da un lato per la laboriosità della procedura e dall'altro per la comparsa sul mercato di separatori cellulari in grado di selezionare le cellule CD34+ nel sangue periferico e di infondere inoculi ricchi in cellule CD34+ e al contempo depletati di 4-5 log di T linfociti. Nel corso degli anni, l'approccio al trapianto T-depletato da donatore familiare incompatibile è stato tecnicamente perfezionato passando dalla selezione negativa con SBA ed E-rosette a quella positiva delle cellule CD34+ usando inizialmente il separatore CellPro e poi, a partire dal 1999, il CliniMacs. La selezione positiva delle CD34+ ha consentito di infondere mediamente $3 \times 10^4/\text{kg}$ CD3+ e oltre $10 \times 10^6/\text{kg}$ CD34+. Anche queste nuove metodiche di T deplezione hanno garantito attecchimento e prevenzione della GvHD.

Con l'evolversi delle conoscenze biologiche, anche queste tecniche sono state via via modificate e attualmente si possono considerare le seguenti metodiche di T deplezione per pazienti candidati a ricevere un trapianto da donatore incompatibile:

Selezione positiva di cellule CD34+ periferiche infuse in combinazione a cellule Tregs dello stesso donatore;

Selezione negativa delle cellule ematopoietiche periferiche con anticorpi anti CD3/CD19;

Selezione negativa con eliminazione selettiva delle catene alfa/beta del TCR T linfocitario con mantenimento di tutte le altre categorie cellulari (T linfociti gamma/delta, cellule NK, monociti, etc).

Tutte queste modifiche hanno l'obiettivo di mantenere un elevato indice di attecchimento e la costante prevenzione della GVHD senza altri farmaci immunosoppressori post-trapianto e di indurre una rapida ed efficace ricostituzione del sistema immunitario e di conseguenza la riduzione delle complicanze infettive che sono state responsabili della maggiore mortalità trapianto correlata nelle prime esperienze di trapianto aploidentico.

Il trapianto allogenico T depletato è un modello di ricerca traslazionale ma anche una consolidata realtà clinica per pazienti di età anche avanzata e per quanti non dispongano di un donatore compatibile prontamente disponibile.

RELAZIONI

MECCANISMI MOLECOLARI, DIAGNOSTICA ED EPIDEMIOLOGIA DELLE INFEZIONI OCCULTE DA HBV (OBI)

ALESSANDRO VUJOVIC

Già Responsabile Validazione Infettivologica Servizio Trasfusionale - Azienda Ospedaliera di Perugia

Si è sospettata l'esistenza delle OBI fin dall'inizio degli anni 1980. Negli ultimi 15 anni, con l'impiego delle tecniche molecolari, sono stati definiti gli aspetti virologici, epidemiologici e la sua possibile implicazione in vari contesti clinici. Nel 2008, le OBI sono state definite dalla Consensus Conference di Taormina come la presenza di HBV DNA nel fegato di individui con il test HBsAg negativo, con o senza DNA evidenziabile nel siero e se presente, a concentrazione molto bassa <200 UI/ml. I casi nei quali i livelli sierici di HBV DNA sono paragonabili a quelli dell'infezione manifesta da HBV (>200 IU/mL) sono dovuti a mutanti del gene di superficie e devono essere etichettati come "false OBI" (1). La base molecolare delle OBI è intrinsecamente correlata al ciclo virale caratterizzato da DNA circolare covalentemente chiuso (cccDNA) capace di persistere nei nuclei delle cellule come cromatina episomica e come riserva per la trascrizione del virus. I livelli di HBV DNA riflettono la replica del virus mentre i livelli di HBsAg riflettono la trascrizione del cccDNA intraepatico. L'infezione prosegue per tutta la vita per la grande stabilità delle molecole cccDNA virali congiuntamente alla lunga emivita degli epatociti. Distinguiamo OBI sieropositive o sieronegative per la presenza o assenza di anti HBc e/o anti HBs. OBI primaria (viremia < 200 IU/mL), con/senza mutanti S (infezione acuta HBsAg negativo, ev.anti-HBc,anti-HBs negativi; il follow-up permette di differenziarla(2). OBI secondaria (viremia <200 UI/mL) con o senza mutanti S (infezione acuta HBsAg+ con guarigione clinica, anti-HBs e replica virale ricorrente fluttuante oppure infezione cronica con progressiva perdita di marcatori, anti-HBc isolato nell'80%, con inibizione della replica e dell'espressione (3). Le OBI sembrano essere per lo più a causa di una forte soppressione della replicazione virale e dell'espressione genica che agisce sul virus la cui variabilità genetica è paragonabile a quello di ceppi di HBV in pz. con palese infezione HBV cronica. Conferma indiretta è fornita dall'osservazione che pz. con OBI possono trasmettere HBV (in via sperimentale negli scimpanzé o nell'uomo con trasfusioni o trapianti di organi) inducendo nei destinatari la classica epatite B acuta. Inoltre le OBI possono mostrare una riattivazione acuta dell'infezione con la ricomparsa del tipico profilo sierologico dell'epatite B. Molti meccanismi responsabili della OBI rimangono attualmente oscuri, i dati disponibili suggeriscono che possono svolgere un ruolo importante nell'indurre lo stato occulto: a) *integrazione* del DNA virale nel genoma dell'ospite; b) *mutazione del determinante "a"*; c) *mutazioni associate al trattamento* (lamivudina e/o HBIG o vaccinazione); d) *mutazione e delezioni delle regioni pre S1 pre S2*; e) *splicing dell'RNA* (4); f) da meccanismo enzimatico di "*Deaminazione-Dipendente*"; g) *inibizione della replica da «Deaminazione indipendente»*; h) *metilazione del DNA* i) *acetilazione degli istoni H3/ H4 legati al ccc-DNA*; l) *Coinfezione HBV-HCV, HBV-HIV, HBV- Schistosoma mansoni*; m) presenza di *complessi immuni* HBsAg-antiHBs; n) *risposta immune dell'ospite* (12); o) modulazione dell'espressione dell'HBV attraverso Cellular Transcription Factors relazionati alle *principali vie metaboliche del fegato* (glucosio, grassi, acidi biliari)(13). La *diagnostica degli OBI* è fondamentale per i Servizi Trasfusionali e Centri Trapianto in quanto potenzialmente i donatori possono trasmettere l'e.v nei riceventi di emocomponenti e/o organi. L'infettività delle OBI è bassa se riferita alle infezioni acute in pazienti immunocompetenti (19% OBI vs 81% WP) ma diversa negli immunodepressi (5). Il *gold standard test* per le OBI è l'analisi del DNA estratto dal fegato così come da campioni di sangue, eseguita con "PCR nested", detection limit 10 copie e l'uso di primer specifici per almeno tre diverse regioni genomiche; se l'HBV DNA viene rilevato utilizzando almeno due diversi set di primer può essere considerato positivo per l'infezione criptica. Attualmente i Servizi Trasfusionali ricercano il DNA mediante NAT con due metodiche a)[PCR

RELAZIONI

Roche S 201 (test singolo) sensibilità circa 3,8 (3,3-4,4 UI/mL) (circa 28,5 geq/mL e 21,3 cps/mL) mentre lo screening in pool da 6 la sensibilità è circa 20 UI/mL]. b) TMA Novartis Ultrio (test di screening in singolo) sensibilità circa 7,45 (6,43-8,97) IU/mL (circa 55,8 geq/mL e 41,7 cps/mL) mentre il nuovo test Novartis Ultrio Plus la sensibilità è 2,1 (1,7-3,0) IU/mL (circa 15,7 geq/mL e 11,8 cps/mL) (6). I due test non hanno differenze nella diagnostica della fase acuta mentre si potrebbero averle nella rilevazione degli OBI in presenza di basse viremie. Una viremia ridotta può derivare anche da replicazioni extra-epatiche come avviene nelle cellule mononucleari del sangue periferico. Il test HBsAg, nelle OBI sempre negativo, ha raggiunto una sensibilità inferiore a 0,1 ng/mL (circa 0,2 IU/mL). Il miglior test HBsAg, oltre per la sensibilità, è quello capace di evidenziare il maggior numero di mutanti. Anche quando il test è negativo il paziente può infettare in quanto la CID50 è circa 10 geq quindi sotto la sensibilità dell'HBsAg possiamo avere 10-20 CID 50 (7). In merito alla *diffusione delle OBI* abbiamo una significativa prevalenza nelle coinfezioni HBV/HCV, nei tossicodipendenti, negli emofilici, nei pazienti in emodialisi e nei sieropositivi. Nella popolazione di individui apparentemente sani, l'OBI è stata studiata nei donatori di sangue e meno nella popolazione generale. Uno studio fatto nella popolazione generale ha ritrovato la prevalenza delle OBI in una comunità canadese, nel 18% dei soggetti con anti-HBc positivo e nell'8% in individui senza Ab specifici mentre ad Hong Kong le OBI sono il 15,3% dei donatori sani di cellule staminali emopoietiche. In Italia dal 2001 al 2009 sono stati trovati positivi per HBV-DNA (HBsAg negativi) 50,5 x 10⁶ (1/19.800) donatori di sangue dei quali circa 48 x 10⁶ sono OBI e 2,7 x 10⁶ sono donatori infetti in fase acuta. In merito alla rilevanza clinica delle OBI queste infezioni occulte possono: a) essere *fonte di trasmissione* dell' HBV, anche in presenza di anti HBs, nel caso di trasfusione di sangue, trapianti di organi con il conseguente sviluppo nei destinatari di una tipica epatite B, evenienza confermata sperimentalmente negli scimpanzé e nei riceventi umani. Autorevoli pubblicazioni affermano che non c'è garanzia che l'anti-HBs neutralizzi tutte le varianti HBV in un portatore latente (8,9) b) quando il portatore della OBI è immuno compromesso può avere una *riattivazione della replica virale* a causa dell'insufficiente controllo immunologico. In questo contesto pazienti con OBI sottoposti a OLT possono presentare re-infezione del fegato nuovo. L'uso di nuovi potenti farmaci immunosoppressivi, come l'anti-CD20 (Rituximab), anti-CD52 (Alemtuzumab) e gli Ab monoclonali anti-TNF(Infliximab) sembra aver aumentato il rischio di riattivazione del virus HBV in individui con infezione criptica. Diversi autori hanno riportato casi di attiva replica virale nonostante la positività dell'anti-HBs (8,10,12):) in un donatore vaccinato (anti-HBs >1.000 mU/mL), con la positività anti-HBc e basse concentrazioni di HBV DNA(3-21 gEq/mL) oppure la ricomparsa di epatite acuta dopo chemioterapia in un paziente precedentemente guarito da epatite acuta B (anti-HBs > 1.000 mU/mL), oppure della re-sieroconversione HBsAg e HBeAg dopo chemioterapia in un paziente già positivo per anti-HBs (>600 mU/mL). In tutti l'HBV DNA circolava già da anni prima della manifestazione sierologia e clinica dalla riattivazione, ma la replica incrementava solo dopo immunosoppressione a riprova che la guarigione clinica può non essere accompagnata dall'estinzione dell'infezione ma semplicemente consistere nel controllo della replica da parte del sistema immune. La presenza di anti-HBs, in ogni caso, favorisce la selezione di mutanti escape delle proteine dell'envelope, popolazione virale che, in condizioni favorevoli, diventa predominante. Si raccomanda di monitorare tutti i pazienti sottoposti a terapia immunosoppressiva con attenzione alla sierologia e/o viremia e di continuare questo monitoraggio per mesi dopo l'interruzione del trattamento al fine di iniziare un trattamento antivirale precoce. c) Essere la causa di *malattia epatica cronica*. Diversi studi indicano l'OBI associata con la progressione della fibrosi epatica, cirrosi e con lo sviluppo di malattia epatica criptogenetica. Gli individui che hanno contratto una epatite acuta auto-limitata possono ospitare genomi HBV per decenni senza mostrare alcun sintomo clinico o biochimico di danno epatico ma con pattern istologici di una lieve necroinfiammazione del tessuto epatico fino a 30 anni dopo la risoluzione della epatite. Nell' infezione cronica (e anche dopo apparente risoluzione dell'infezione acuta) la persistenza di Ab e CTL anti-HBc indica la continua espressione di HBcAg e la presenza di HBV DNA nelle cellule epa-

RELAZIONI

tiche. Alti titoli di anti-HBc e livelli di attivazione CTL segnalano la probabilità di viremia e non correlano invece con la concentrazione del DNA circolante.

d) *Fattore di rischio per lo sviluppo di HCC*. La persistenza di questi virus vitali e replicanti possono

indurre una lieve necroinfiammazione del fegato che continua per tutta la vita; la cirrosi è il più importante fattore di rischio per lo sviluppo di HCC e l'OBI contribuisce nella malattia epatica cronica alla progressione verso la cirrosi, indicando che l'OBI possa contribuire alla trasformazione epatocellulare attraverso gli stessi meccanismi considerati alla base delle proprietà cancerogeni del virus HBV. L'HBV è stata classificato per l'uomo come cancerogeno di Gruppo 1 e considerato il secondo più importante agente oncogeno dopo il fumo di tabacco.

1) Raimondo G. J. *Hepatol.* 2008; 49: 652-57

2) Yoshikawa A. *Transfusion* 2007; 47: 1162-67

3) Raimondo G. *Pathol.Biol.* 2010; 58: 254-57

4) Van Hemert F.J. *Viol. J.* 2008; 5: 146

5) Candotti D. J *Hepatol.* 2009; 51: 798-809

6) Linauts S. *Transf.* 2008; 48: 1376-81

7) Yoshizawa H. *Transf.* 2008; 48: 286-9

8) Gerlich W.H. J. *Clin. Virol.* 2006; 36: S18-22

9) Ly T.D. J. *Clin. Microbiol.* 2006; 44: 2321-6

10) Westhoff T.H. *Blood* 2003; 102: 1930

11) Awerkiev S. J. *Clin. Virol.* 2007; 38: 83-6

12) Samal J. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012; 25: 142-63

13) Bar-Yishay I. *Liver Int.* 2011; 31: 282-90

COMUNICAZIONE C1

ANAFILASSI ALIMENTARE IN UNA PAZIENTE POLIALLERGICA ALLE MUFFE

VITTORIO SARGENTINI¹, ROSARINA IMPERA¹, ALESSANDRA DI TULLIO¹, SABRINA PETRILLI²

¹U.O.C. Patologia Clinica P.T.P Nuovo Regina Margherita, ASL RM/A – ROMA

²Servizio di Allergologia Territoriale, Poliambulatorio Nomentano, ASL RM/A – ROMA

Scopo

Il lavoro vuole dimostrare che non sempre gli episodi di anafilassi che compaiono in seguito ad ingestione di cibo sono dovuti alla presenza di un' allergia alimentare in senso stretto, ma possono comparire in seguito ad una contaminazione dovuta ad agenti esterni, in pazienti che si sono diversamente sensibilizzati nel corso degli anni.

Materiali e metodi

Viene presentato il caso di una signora di 72 anni che nel corso degli ultimi due anni ha presentato tre episodi di reazione allergica grave in seguito ad ingestione di alimenti. Edema della lingua, del labbro inferiore e della glottide, con eruzione cutanea generalizzata erano comparsi nel dicembre del 2011 in seguito ad assunzione di due noci e di due fette di speck conservato in frigorifero in busta aperta, con ricorso al pronto soccorso in urgenza, somministrazione di adrenalina e corticosteroidi e successiva dimissione con diagnosi di segni e sintomi di anafilassi. Sette mesi più tardi ancora orticaria, edemi periorbitali e labiali, macroglossia ed ipotensione in seguito ad ingestione di parmigiano confezionato e conservato in busta, con nuovo ricorso al pronto soccorso. Più recentemente, nel febbraio 2013, dopo aver ingerito del pecorino confezionato e conservato in busta di plastica, notevole gonfiore della lingua e difficoltà respiratorie, caratterizzate da dispnea seguita da asma e perdita di coscienza. Ricorso in urgenza al pronto soccorso per shock anafilattico e trattamento con adrenalina e cortisone per e.v. La paziente viene dimessa il giorno seguente con diagnosi di anafilassi alimentare e con la raccomandazione di eseguire delle accurate indagini allergologiche. È stata eseguita la determinazione delle IgE specifiche per allergeni e proteine molecolari specifiche con tecnologia ImmunoCAP® (Phadia® 250. Thermo Fischer Scientific, Uppsala, Sweden), valutando inizialmente il profilo di sensibilizzazione verso gli alimenti suggeriti dalla storia clinica e successivamente quello verso i possibili agenti contaminanti.

Risultati

Tab. 1

IgE specifiche per allergeni e componenti molecolari dei principali alimenti									
f2 Latte vaccino	f325 Latte di capra	f300 Latte di capra	f17 Zucchero	f256 Zucchero	f4 Olio	f8 Olio di semi	f45 Uovo	rCor a1 PR-10	rCor a8 nsLTP
0,16 kUa/l	0,17 kUa/l	0,07 kUa/l	0,12 kUa/l	0,11 kUa/l	0,34 kUa/l	0,44 kUa/l	0,39 kUa/l	0,01 kUa/l	0,06 kUa/l

Tab. 2

IgE specifiche per allergeni e componenti molecolari delle muffe									
m1 Penicillium notatum	m3 Aspergillus fumigatus	m5 Candida albicans	m6 Alternaria alternata	rAlt a1 Ascid glycoprotein	rAsp f1 Jallergin family	rAsp f2 Pharmazym	rAsp f3 Fusarium protein	rAsp f4	rAsp f6 Superossido dismutasi
28,5 kUa/l	3,45 kUa/l	5,99 kUa/l	1,07 kUa/l	0,07 kUa/l	0,19 kUa/l	0,06 kUa/l	0,04 kUa/l	0,07 kUa/l	0,06 kUa/l

Discussione e conclusioni

Nel caso presentato, la ricerca delle IgE specifiche eseguita in prima battuta vs gli allergeni alimentari che, sulla base della storia clinica, potevano essere ritenuti responsabili della sintomatologia, non ha fornito alcuna informazione particolare ad eccezione di una sensibiliz-

zazione di grado moderato verso i cereali e verso *saccharomyces cerevisiae*. In particolare, con la diagnostica molecolare, non è stato possibile evidenziare la presenza di anticorpi specifici verso nsLTP (rCor a8) o verso PR-10 (rCor a1), come molecole rappresentative del gruppo della frutta secca. Viceversa, l'indagine sierologica condotta per la ricerca di IgE verso i micofiti ha permesso di riscontrare la presenza di elevati livelli di positività verso gli stessi, in particolare verso il *Penicillium*. La lieve positività riscontrata al lievito può essere dovuta alla cross-reazione per le molecole in comune con la *Candida*, il *Penicillium*, l'*Aspergillus* e l'*Alternaria* tra cui l'enolasi e la superossido dismutasi. È pertanto suggestivo ritenere che la paziente si sia sensibilizzata nel corso degli anni verso diverse sorgenti fungine, molto probabilmente per via inalatoria, senza che questo abbia mai determinato la comparsa di manifestazioni cliniche evidenti, soprattutto di carattere respiratorio e che l'ingestione di alimenti, conservati in maniera inadeguata e contaminati sia stata la causa dei fenomeni di anafilassi. Probabilmente uno studio in doppio cieco con somministrazione di un pasto contaminato da una sospensione di muffa in ambiente protetto, potrebbe costituire la prova causa-effetto, necessaria per una conferma del sospetto diagnostico.

COMUNICAZIONE C2

MONITORAGGIO DELLE IPOSODIEMIE MEDIANTE ALERT NEL REFERTO DI LABORATORIO: NOSTRA ESPERIENZA

OLIMPIA FATTORUSO¹, FRANCESCO SCHIANO¹, VINCENZO BASSI², FRANCA PATRONE¹, ELENA CARAMANNA¹, MARIA ROSARIA RIGHETTI¹, LUCIA ROTONDO¹, ANNA BASILE¹, ANTONIA MONTEFORTE¹, MONICA ROSALIA SANSONE¹, MAURO SANSONE¹ & MARIA TERESA POLISTINA¹

¹U.O.C. Patologia Clinica, ²U.O.C. Medicina Interna P.O. "S. G. Bosco",
ASL NA1 Centro

Introduzione.

Il sodio è il principale elettrolita del liquido extracellulare, dove si mantiene in concentrazione costante (135-145 mEq/l) grazie all'azione della pompa del sodio e dei meccanismi renali e ormonali che ne regolano l'omeostasi. L'iposodiemia, definita come una riduzione dei valori sierici di Na <135 mEq/l, viene classificata in ipo-, eu- o iper-volemica in base alla tonicità plasmatica. Essa può accompagnare patologie dismetaboliche, infettive, neoplastiche, iatrogene e se diagnosticata o trattata tardivamente può portare ad aumento della degenza ospedaliera, peggioramento del quadro clinico ed anche ad esiti infausti.

Scopo.

Al fine di contribuire ad un migliore inquadramento fisiopatologico delle iposodiemie, abbiamo: 1) inserito nel referto una nota di allarme (*alert*), 2) valutato l'adesione dei reparti alle indicazioni contenute nella nota, 3) monitorato la frequenza delle iposodiemie.

Materiali e Metodi.

La nota reca il seguente testo: *N.B. Per valori di sodio ≤ 130 mEq/L si consiglia di eseguire: - osmolarità plasmatica - esame urine per peso specifico - sodio e potassio su urine estemporanee*

- screening per ipotiroidismo e deficit corticosurrenalico. Tale nota viene refertata automaticamente solo per valori di Na <130 mEq/L (iposodiemia medio-grave).

Da gennaio a maggio 2013, per i reparti di chirurgia generale e di urgenza, neurochirurgia, medicina, rianimazione e per l'ambulatorio del nostro P.O., abbiamo valutato il numero di determinazioni di Na effettuate, la frequenza di valori di Na < 130 mEq/L e il relativo numero di referti con l'*alert*, infine la percentuale di richiesta dell'approfondimento diagnostico (r.a.d.) suggerito nella nota.

Risultati. In tabella sono riassunti i risultati dei 5 mesi monitorati.

Reparto	n. Na	n. Na < 130 (%)	n. r.a.d. (%)
Chirurgie	1861	23 (1,24)	-
Neurochirurgia	619	27 (4,4)	6 (22,3)
Medicina	921	36 (3,9)	9 (25)
Rianimazione	1051	60 (5,7)	-
Totale P.O.	4452	146 (3,3)	15 (10,3)
Ambulatorio	384	5 (1,3)	1 (20)
Totale P.O. + Amb.	4836	151 (3,1)	16 (10,6)

Conclusioni.

In letteratura, la frequenza delle forme moderate e severe è piuttosto variabile dall'1% al 7%, a causa della mancanza di studi omogenei e comparabili. Nella nostra casistica l'incidenza dell'iposodiemia (<130mEq/L) è del 3,3% per i pazienti ospedalizzati vs 1,3% per i pa-

zienti ambulatoriali. Per quanto riguarda gli effetti dell'*alert*, solo nel 10,3% dei casi ospedalizzati sono stati richiesti al laboratorio gli esami indicati nella nota, vs 20% degli ambulatoriali, confermando che l'iposodiemia, benché sia un indice prognostico negativo della malattia sottostante, può essere sottovalutata o non diagnosticata in modo appropriato.

COMUNICAZIONE C3**HUMAN ATHEROSCLEROTIC PLAQUES WITH HISTOMORPHOLOGICAL FEATURES OF VULNERABILITY CONTAIN b-GAMMA-GLUTAMYLTRANSFERASE ENZYME ACTIVITY**

MARIA FRANZINI[†], ANGELA PUCCI^{*}, MARCO MATTEUCCI[†], SABRINA CERAGIOLI[#], MAURO FERRARI[#], LAURA CAPONI[#], MICHELE EMDIN[§], ALDO PAOLICCHI[#]

**Histopathology Department, University Hospital, Pisa; [†]Institute of Life Sciences, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa; [§]Fondazione G. Monasterio CNR-Regione Toscana, Pisa; [#]Translational Research Department, University of Pisa, Italy*

Background - Atherosclerotic plaques vulnerable to rupture and to superimposed thrombosis are characterized by a thin-cap fibroatheroma (with or without ulceration and thrombosis), a necrotic core, and inflammatory infiltrates (mostly macrophages). Clinical and population studies have revealed that serum gamma-glutamyltransferase (GGT) activity is an independent predictor of cardiovascular events. Molecular-size exclusion chromatography allows the detection of four GGT fractions of different molecular weight in human plasma (b-GGT, m-GGT, s-GGT, f-GGT); while in liver disease s-GGT shows the largest increase, the values of b-GGT are associated with cardiovascular risk factors, including the components of the metabolic syndrome. So far, GGT activity has been described within coronary and carotid plaques, but the precise relationship existing between plaque histomorphology and GGT content has never been investigated.

Methods and results - GGT activity was investigated in atherosclerotic plaques obtained from 65 patients undergoing carotid endarterectomy. Plaques were histologically characterized and immunostained for GGT. Plasma and intra-plaque total and fractional GGT activity was determined by molecular size exclusion chromatography and was compared with histological markers of plaque vulnerability. Plaque cholesterol content was measured by chromatography. The b-GGT was the only fraction found in atherosclerotic plaques; intra-plaque b-GGT activity showed a positive correlation with plaque cholesterol content ($r = 0.667$, $P < 0.0001$), and with plasma b-GGT and f-GGT fractions ($r = 0.249$; $r = 0.298$, both $P < 0.05$). Higher b-GGT activity ($P < 0.05$) was found in thin-cap fibroatheromas, with larger necrotic areas, greater macrophage infiltration and higher cholesterol content.

Conclusions - b-GGT expression in human carotid atherosclerotic plaques correlates with all histological features of vulnerable plaques. These data support the possible role of b-GGT in atherosclerotic plaque vulnerability.

Franzini M, Bramanti E, Ottaviano V, et al. A high performance gel filtration chromatography method for gamma-glutamyltransferase fraction analysis. Anal Biochem. 2008; 374:1-6.

Franzini M, Fornaciari I, Rong J, et al. Correlates and reference limits of plasma gamma-glutamyltransferase fractions from the Framingham Heart Study. Clin Chim Acta 2013 417:19-25.

COMUNICAZIONE C4

UNEXPECTED PREVALENCE OF HYPERPROLACTINEMIA ASSOCIATED WITH MICROPROLACTINOMA AND EMPTY SELLA IN A COHORT OF ADULT PATIENTS WITH NON-TRANSFUSION-DEPENDENT THALASSAEMIA (NTDT): A PROSPECTIVE STUDY.

PAOLO RICCHI¹, TIZIANA DI MATOLA², MASSIMILIANO AMMIRABILE¹, SILVIA COSTANTINI¹, ANNA SPASIANO¹, PATRIZIA CINQUE¹, ROBERTO VERNA³, ALDO FILOSA¹, AND DOMENICO SERINO⁴

¹*Uosd microcitemia aorn Cardarelli, Napoli*

²*Aorn ospedale dei Colli, Ao Monaldi, laboratorio di biochimica clinica, Napoli*

³*Centro di ricerca per la medicina e il management dello sport, università di Roma, Sapienza*

⁴*Uosd endocrinologia Aorn Cardarelli*

Background: In patients with thalassemia major iron overload may cause altered hypothalamic – pituitary axis and gonatrophin and growth hormone insufficiency. However, very few study have investigated serum prolactin (PRL) level in patients with non transfusion dependent thalassaemia (NTDT).

Materials and methods: From January 2006 to December 2012, we prospectively evaluated the level of prolactin in the cohort of patients with NTDT attending at our center. Prolactin levels were tested at least three times during the observation period. Patients with persistently and particularly increased level of prolactin (over 100ng/ml) underwent Magnetic Resonance Imaging of the pituitary region.

Results: a total of 98 patients with NTDT never (35, 36%) or occasionally (63, 64%) transfused were studied. 13 (14 %) patients (9 women) with hyperprolactinemia with a median age of 41 years (range 15-75) were found; one (8%) and 12 (92%) of them were never and occasionally transfused, respectively. 10 (78%) patients were splenectomised, seven were under chelation therapy, height (61%) had variable degrees of osteoporosis, six (55%) had paraspinal extramedullary haematopoietic (EMH) tissue and five (38 %) were under thyroid hormone supplementation for hypothyroidism. The heighty-five patients without hyperprolactinemia in comparison with those with hyperprolactinemia had a less severe form of NTDT: 34 (44%) and 51 (56%) were never or occasionally transfused, respectively ($p<0.05$); they were less splenectomised (58 %, $p<0.05$), less under chelation treatment (46%), less affected by osteoporosis and EMH (49% and 30%, respectively) and less under thyroid hormone supplementation for hypothyroidism (13%, $p<0.05$). Out of the seven patients which underwent MRI, three women had symptoms linked to hyperprolactinemia (galactorrhoea and impaired gonadal function) two women showed magnetic resonance imaging (MRI) scans suggestive for so-called partial empty sella (PES), three women for pituitary microadenoma and one male for the presence of intracranial sphenoidal EMH; among these group of seven patients only one (16%) was affected by hypothyroidism under thyroid hormone supplementation. In the other six patients the prolactin level were moderately (<100 ng/ml) or transiently (only one or two determination upper than 27 ng/ml) increased and no symptoms were observed. In the subgroup of six patients three (50%, $p<0.05$ vs patients without hyperprolactinemia) were under hormone replacement for primary hypothyroidism. Finally, a GH secreting pituitary adenoma was found in one patient with acromegaly.

Discussion: hyperprolactinemia was not such a rare event in our NTDT patients and was occasionally responsible for gonadal dysfunction; hypothyroidism, despite proper treatment, was statistically significant associated with cases of moderately or transiently increased prolactin level. Although few data are available about the prevalence of PES, which may be a relatively common incidental finding, and pituitary adenoma in general population, our data suggested an increased prevalence of these morbidities in our patients particularly in those with more severe form of NTDT. Further studies are needed to clarify if erythron expansion at sellar level is pathogenetically involved in the mechanism for both PES and microadenoma occurrence.

COMUNICAZIONE C5**IL SEGNALE DELLE CITOCINE NELL'ARTRITE REUMATOIDE: UNA POSSIBILE CHIAVE DI LETTURA?**

MILVIA LOTZNIKER, SERGIO FINAZZI, NEVIE COVINI, GIANPIETRO RE, LAURA RUSSO, PAOLA FAGGIOLI*

*Laboratorio Analisi e *Medicina Interna, A.O. Ospedale Civile di Legnano (MI)*

Introduzione

Nel trattamento dell'artrite reumatoide (AR) sono attualmente in uso molteplici farmaci biologici da affiancare ai tradizionali DMARDs (Disease Modifying Anti-Reumatic Drugs) con l'obiettivo di controllare l'attivazione/sregolazione del network infiammatorio citochinico.

Nel presente studio, pazienti con AR pluritrattati sono stati studiati prima dell'inizio di un nuovo approccio terapeutico allo scopo di valutare la presenza di differenti subset di risposta infiammatoria.

Materiali e metodi

Nel siero di 23 pazienti con AR pluritrattati e con malattia attiva è stato determinato prima dell'inizio di un nuovo trattamento farmacologico un ampio pannello di citochine e chemochine (IL1_α, IL1_β, IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, VEGF, IFN_γ, TNF_α, MCP1, EGF). I dosaggi sono stati eseguiti mediante biochip array su strumentazione Randox Evidence (High Sensitivity Cytochine Array, Medical Systems). L'efficacia della terapia è stata valutata a 6-12 mesi mediante DAS28 (28-joint Disease Activity Score). In alcuni pazienti il campionamento è stato ripetuto durante il trattamento.

Risultati

Per i parametri esaminati è stata calcolata la mediana dei valori ottenuti, allo scopo di individuare nel singolo paziente la prevalente espressione di singole citochine o di cluster di attivazione citochinica. I risultati sono stati valutati come ratio rispetto alla mediana con i seguenti riscontri: prevalente espressione di IL6 in 8 pazienti, di IL1_α/IL1_β/IL2 in 4, di IFN_γ in 3, di IL10 in 2 e di EGF in 1. In 4 pazienti non è descrivibile una prevalenza e in 1 è presente importante multipla attivazione. La valutazione di attività della malattia a 6-12 mesi suggerisce un'incompleta risposta terapeutica nei pazienti con prevalente espressione di IL6 (in 5 permane attività lieve e in 3 attività moderata) mentre tale condizione non si verifica nei casi con remissione completa.

Nei pazienti trattati con Tocilizumab (anticorpo monoclonale umanizzato contro il recettore di IL6) e monitorati con il pannello citochinico emerge tendenza all'incremento della concentrazione di IL6, da ascrivere a ridotta clearance della molecola piuttosto che ad attività della malattia.

Conclusioni

- I dati ottenuti indicano che ci sono profonde differenze nei profili citochinici basali dei singoli pazienti; questa eterogeneità suggerisce una possibile valutazione "personalizzata", anche a supporto della scelta terapeutica, particolarmente difficile nei soggetti pluritrattati.
- Si conferma nel nostro studio il ruolo chiave della citochina IL6 nell'orchestrare risposta infiammatoria e attività di malattia.
- In corso di trattamento con Tocilizumab il dosaggio di IL6 può risultare confondente, proprio in funzione del meccanismo d'azione del farmaco stesso.

COMUNICAZIONE C6

POLIMORFISMI GENICI DEL RECETTORE DOPAMMINERGICO D2 IN BAMBINI AFFETTI DA ADHD, DISTURBI DELLO SPETTRO AUTISTICO E FENOTIPO COMBINATO

ALESSANDRA VINCENTI¹, ANNA LINDA LAMANNA², FRANCESCO CRAIG², AMALIA CASSANO¹,
RUGGIERO FUMARULO¹, LUCIA MARGARI², MARIA A. MARIGGIÒ¹

¹Dip. Di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana, Sezione di Patologia Generale, Sperimentale e Clinica e ²Dip. di Scienze Mediche di base, Neuroscienze ed Organi di Senso, Sezione di Neuropsichiatria Infantile, Università degli Studi di Bari

Introduzione: il Disturbo da Deficit d'Attenzione con Iperattività (ADHD) e i Disturbi dello Spettro Autistico (DSA) sono disturbi dello sviluppo di probabile origine poligenica associati a fattori di rischio ambientali. Alcuni studi hanno rilevato un'associazione tra questi disturbi e polimorfismi di geni coinvolti nella funzione dei neurotrasmettitori, in particolare di quella dopaminergica. Recentemente si è sviluppato un interesse crescente riguardo ai sintomi di sovrapposizione tra l'ADHD e i DSA.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di individuare possibili biomarcatori specifici per il fenotipo ADHD, DSA e fenotipo combinato (DSA + ADHD) per formulare un profilo genomico che possa confermare la diagnosi clinica e possa avere valore prognostico.

Materiali e Metodi: sono stati arruolati 200 bambini affetti da fenotipo ADHD e DSA puro o combinato (ADHD + DSA). Tutti i pazienti sono stati sottoposti a screening per 2 SNPs (polimorfismi a singolo nucleotide) del gene del recettore DRD2, rs67800399 (A/G) e rs11608185 (C/T), entrambi localizzati in regioni introniche. Il DNA estratto dai linfomonociti del sangue periferico è stato amplificato con PCR (Polymerase Chain Reaction) ed analizzato mediante RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Gli effetti della digestione enzimatica sono stati visualizzati dopo elettroforesi su gel di agarosio al 3% contenente bromuro di etidio. È stato utilizzato il test del Chi-Quadrato (χ^2) per confrontare la distribuzione dei genotipi dei due SNPs tra i tre gruppi clinici (ADHD, DSA e DSA+ADHD) fra di loro e con un gruppo di controllo costituito da bambini in buona salute.

Risultati: Per entrambi i polimorfismi studiati sono state trovate differenze statisticamente significative nella distribuzione dei genotipi tra i tre campioni clinici e il campione di controllo e tra il campione combinato (DSA+ADHD) e i campioni ADHD e DSA puri. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata trovata tra il campione ADHD e il campione DSA.

Conclusioni: è possibile ipotizzare l'esistenza di un profilo genomico specifico per il fenotipo combinato (DSA+ ADHD). Ulteriori studi sono necessari per confermare questa ipotesi.

COMUNICAZIONE C7

TSH NEL PRIMO TRIMESTRE DI GRAVIDANZA ED OUTCOME GRAVIDICO

GIULIO OZZOLA¹, CARLO MONTAINI², ANGELA SILVANO¹

¹U.O. Laboratorio Analisi-Zona Casentino-USL8 Arezzo

²Direttore Zona Distretto-Zona Casentino-USL8 Arezzo

Scopo del lavoro

La gravidanza comporta nelle donne molte variazioni dell'assetto ormonale e la tiroide materna rappresenta, dopo il pancreas, una delle ghiandole endocrine maggiormente influenzate dallo stato gravidico. L'ipotiroidismo in gravidanza è un evento relativamente frequente (2.5%) che può comportare complicanze, anche gravi, sia nel decorso della gravidanza che per il feto. Con questo lavoro si vuole vedere quali valori mediani di TSH hanno delle donne residenti in una valle appenninica Toscana (Casentino, AR) a media/lieve carenza iodica al primo trimestre di gravidanza e se esistono correlazioni tra valori di TSH ed outcome gravidico.

Casistica, Materiale e metodi

Sono state arruolate 579 donne del Casentino che si sono presentate ad effettuare i controlli ematologici previsti dalla Regione Toscana nel primo trimestre di gravidanza. A tutte è stato eseguito il dosaggio del TSH (Elecys system-Cobas e-601 Roche) nel primo trimestre. Al termine della gravidanza sono state ricercate le eventuali complicanze riferibili ad ipotiroidismo (aborto, minaccia di aborto, minaccia di parto prematuro, ipertensione, diabete gestazionale, poli/oligodramnios, gravidanza protratta, CTG di allarme, IUGR/SGA). Al momento dell'arruolamento è stato chiesto se fosse presente ipotiroidismo noto ed in terapia sostitutiva.

Risultati

Le donne avevano una età media di 31,4 +/- 5. Delle 579 donne 106 (18%) erano ipotiroidiche note ed in terapia sostitutiva. Le complicanze riferibili ad ipotiroidismo si sono presentate in 55 casi (9,5%). Le complicanze che si sono presentate sono: 16 alterazioni BCF, 8 diabete gestazionale, 13 ipertensione, 3 IUGR/SGA, 5 oligo/polidramnios, 7 minaccia di aborto e 3 di parto prematuro. Queste complicanze si sono riscontrate nel 11% delle donne in terapia ormonale e nel 9% di quelle non ipotiroidiche e non soggette a terapia. I valori di TSH rilevati sono illustrati nella tabella. Da segnalare che 23 donne sono risultate avere valori di TSH maggiori di 5 m/L e che di queste ben 20 erano ipotiroidiche note ed in terapia. Di queste 23 donne, 5 (21.7%) hanno avuto complicanze.

Conclusioni

Il valore della mediana del TSH riscontrato è confrontabile a quelli in letteratura anche se frutto di modalità di selezione differenti. Va inoltre tenuto presente che per il primo trimestre sarebbe opportuno suddividere la casistica in base alla settimana di gravidanza in quanto in tale trimestre, a causa dell'effetto tireotropo delle HCG, le variazioni del TSH sono elevate. Un dato di notevole interesse e che meriterà adeguate conferme ed approfondimenti è che il 18% delle donne erano ipotiroidiche note già all'arruolamento. Questa percentuale è certamente superiore a quella riscontrabile in letteratura in donne adulte. La percentuale di complicanze in donne ipotiroidiche in terapia e donne non ipotiroidiche è confrontabile. Il TSH delle donne ipotiroidiche in terapia è decisamente più elevato rispetto al resto della casistica e ciò è sicuramente dovuto al mancato aumento posologico.

	N°	Mediana(m/L)	IC(2.5-97.5)
Donne arruolate	579	1,28	0,45-5,55
Gravidanze complicate	55	1,52	1,44-6,00
Gravidanze non compl.	524	1,14	1,01-4,73
Ipotiroidiche in terapia	106	2,96	1,96-4,10

COMUNICAZIONE C8

UN SEVERO CASO DI MEN DA ABO

SAVARESE EMILIA*, PALOMBA ANIELLO*, SABIA CHIARA**, ROSSI EMMA*, RAFFAELE ADRIANA*, PELUSO MARIA*, PEDUTO LUISA*, ROMANO MARIA LIDIA*, SESSA FRANCESCO*

* S.I.M.T. OO.RR. Area Stabiese, ASL NA3SUD

** U.O.C. di Immunoematologia, Medicina Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti
A. O. U. Seconda Università degli Studi di Napoli

La MEN da ABO è la forma oggi di più frequente riscontro e destinata a rimanere tale, non essendo prevedibile una qualsiasi forma di profilassi, come per la MEN Rh. Interviene di solito nella combinazione madre o e figlio A; rare sono le MEN da incompatibilità B e rarissime quelle con madre A o e figlio B o A o AB. Si pensa che ciò sia dovuto al fatto che le madri di gruppo 0 producono con maggiore frequenza IgG anti-A e/o anti-B in grado di superare la barriera placentare. Non si assiste ad un progressivo aggravamento delle forme cliniche di MEN con il ripetersi di gravidanze incompatibili, come avviene nelle MEN Rh. Gli studi di biologia molecolare hanno dimostrato che la maggiore o minore gravità della MEN è correlata alla maturità e alla quantità dei siti antigenici sugli eritrociti neonatali. Dal punto di vista laboratoristico, la positività, il più delle volte debole, al test diretto dell'antiglobulina si riscontra con notevole frequenza, ma la presenza di uno stato clinico grave rappresentato sempre da un'ittero del neonato (mai da idrope feto-placentare) è piuttosto raro e non è necessario quasi mai ricorrere alla ET, ma è sufficiente la fototerapia per ottenere la regressione dell'ittero.

Materiali e metodi - Nel luglio del 2012 è giunto presso il nostro laboratorio di Immunoematologia il campione di un neonato di due giorni affetto da ittero e trasferito presso la U.O.C. di Neonatologia del nostro P.O. da altro ospedale. Lo screening eseguito sulla madre e sul neonato ha dato i seguenti risultati: Madre gruppo O+, T.C.I negativo, ricerca anticorpi immuni anti-A e anti-B presenza di anti-A al titolo di 1/512. Neonato gruppo A+, T.C.D. positivo (+1), test di eluizione acida presenza di anti-A al titolo di 1/4. Le indagini sono state eseguite con tecniche gel test della Ditta Biorad. La ricerca degli anticorpi anti-A e Anti-B con tecniche che impiegano enzimi proteolitici estratti dalle membrane mucose gastriche suine o equine. Poiché il neonato presentava un severo ittero (BT 18,2 Ht 32%) è stato sottoposto a fototerapia intensiva, ma sulla scorta dell'incremento della BT (20,2), del costante abbassamento dell'Ht (28%), della positività del TCD e del test di eluizione si è deciso di procedere ad exanguino-trasfusione eseguita con emazie di gruppo O+ ricostituite con plasma AB+ congelato.

Conclusioni - Anche se la MEN da ABO non può giovare di una immunoprofilassi e di controlli seriati come invece avviene per quella da Rh, dalla nostra ampia casistica, ogni anno arrivano alla nostra osservazione circa 5000 coppie madri-neonati, è dimostrato che una gestante con presenza di anticorpi anti-A o anti-B immuni partorisce un nato con sintomi modesti o più o meno gravi di MEN da ABO, da nessuna gestante risultata negativa si sono avuti nati con ittero riferito alla MEN. Queste considerazioni, a nostro avviso, rendono auspicabile l'impiego della ricerca degli anti-A e anti-B immuni (almeno nelle mamme di gruppo O) nella routine di laboratorio come test fondamentale di screening per la MEN da ABO in modo da essere preparati all'eventualità di una ET, sebbene evento raro.

POSTER P1**UNA NUOVA MUTAZIONE DEL GENE PALB2 IN UNA FAMIGLIA CON UN CASO DI CARCINOMA DELLA MAMMELLA NEL MASCHIO**

VIETRI MARIA TERESA, CALIENDO GEMMA, D'ELIA GIOVANNA, GAMBARDELLA ANNA LAURA, CERVONE NANDO, GUASTAFIERRO MARTINA, CIOFFI M

*Cattedra di Patologia clinica, Dipartimento di Biochimica, Biofisica e Patologia generale
Scuola di Medicina della Seconda Università degli studi Napoli*

Il carcinoma della mammella nel maschio è una rara patologia, che rappresenta l'1% dei tumori maschili. Come il carcinoma della mammella femminile presenta fattori genetici predisponenti, tra questi mutazioni nei geni BRCA1/2, CHEK2 e PALB2.

Nel 20-25% delle famiglie con carcinoma della mammella e dell'ovaio ereditari sono state ritrovate mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2, mentre in percentuali più basse mutazioni di geni che partecipano allo stesso pathway di riparazione del danno al DNA. Tra questi PALB2 conferisce moderato rischio di sviluppare carcinoma della mammella e dell'ovaio ereditari, esso risulta mutato dall'1 al 4% dei casi.

Mutazioni di *PALB2* predispongono anche ad altre neoplasie, quali carcinoma dell'ovaio, del pancreas e della prostata, inoltre sono state ritrovate alcune famiglie che presentano casi di carcinoma della mammella nel maschio con mutazioni del gene *PALB2*.

Obiettivo

Lo scopo del nostro studio è stato valutare la presenza di mutazioni germinali del gene *PALB2* in famiglie con carcinoma della mammella e/o ovaio ereditari, con almeno un caso di carcinoma della mammella maschile.

Materiali e metodi

Abbiamo selezionato 4 pazienti maschi con carcinoma della mammella e 3 pazienti affette da carcinoma della mammella con un caso di carcinoma della mammella nel maschio in famiglia.

I pazienti sono stati selezionati in base ai criteri di selezione per il carcinoma della mammella e dell'ovaio ereditari.

L'analisi mutazionale è stata condotta amplificando e sequenziando i 13 esoni e le adiacenti regioni introniche del gene *PALB2*.

Risultati

In uno dei sette pazienti l'analisi di sequenza ha mostrato la presenza della mutazione c.1285-1286delAinsTC (p.I429SfsX12) del gene *PALB2*. Essa è una mutazione frameshift, dovuta alla delezione di una A e all'inserzione di due basi, TC, nell'esone 4 del gene, in posizione nucleotidica 1285-1286. Ciò determina lo scivolamento della cornice di lettura dal codone 429 e porta alla formazione di un codone di stop prematuro al residuo aminoacidico 441. Questa mutazione non descritta precedentemente è stata riscontrata in una paziente di 29 anni affetta da carcinoma della mammella con altri casi della stessa patologia in famiglia. Il padre e la zia paterna hanno sviluppato carcinoma della mammella all'età di 60 e 40 anni rispettivamente, mentre le due sorelle della probanda hanno manifestato carcinoma della mammella ereditario all'età di 31 e 35 anni.

Conclusione

La mutazione c.1285-1286delAinsTC cade nell'esone 4 del gene *PALB2*, regione implicata nell'interazione con *BRCA1*. Pertanto, essa riduce la capacità di legame con *BRCA1*, compromettendo l'interazione *BRCA1-PALB2* richiesta nel meccanismo di riparazione del DNA. Nel nostro studio abbiamo identificato una nuova mutazione del gene *PALB2* in una famiglia con un caso di carcinoma della mammella maschile, suggerendo che anche mutazioni in *PALB2*, come in *BRCA2* conferiscono il rischio di sviluppare carcinoma della mammella nei maschi.

POSTER P2

ALERT ORGANISM: 2011-2013 DUE ANNI DI INDAGINE

PAOLO DE CRISTOFANO,* RITA IRACE,* VITTORIO CORTESE,* LUISA DE CRISTOFANO,*
ANTONIA MONTEFORTE,* MAURO SANSONE,* MARIA ROSARIA RIGHETTI,* LORITA BUONO,*
ROBERTA MICELI,** AND MARIA TERESA POLISTINA*

U.O.C. di Patologia Clinica P.O. San Giovanni Bosco A.S.L. Napoli 1 /Centro*

Introduzione

I germi sentinella o Alert organism sono microrganismi che, con meccanismi diversi, sviluppano resistenze multiple a intere classi di antibiotici. Sono, perciò, caratterizzati da una o più delle seguenti proprietà: elevata diffusibilità, elevata patogenicità, resistenza alla terapia antibiotica di prima scelta e antibiotico resistenza multipla.

Scopo

Questo studio è stato condotto al fine di verificare l'esposizione dei pazienti e degli operatori sanitari ai germi sentinella, orientare la terapia empirica ragionata, sorvegliare l'andamento della antibiotico resistenza e soprattutto fornire al C.I.O. i dati per poter attuare interventi mirati di disinfezione, sanificazione degli ambienti e, dove possibile, adottare di isolamento.

Materiali e metodi

I materiali biologici, prelevati in condizioni di asepsi e conservati in adeguati contenitori dedicati, giunti in laboratorio di Microbiologia e Virologia sono stati seminati su terreni di coltura selettivi, secondo i diversi protocolli. Dopo incubazione over night, i campioni positivi sono stati analizzati con strumentazione automatizzata per fornire la loro identificazione e l'antibiogramma interpretato secondo le ultime linee EUCAST (01.01.2012).

Risultati

Nel periodo compreso da Gennaio 2011 a Gennaio 2013, nel laboratorio di Microbiologia e Virologia del P.O. San Giovanni Bosco, ASL NA 1/Centro sono stati esaminati 8390 campioni, costituiti principalmente da urine, emocolture, tamponi cutanei, tamponi nasali, faringei e bronco-aspirati provenienti sia dai reparti dell'ospedale che dai presidi ospedalieri afferenti. Di questi 4786 sono risultati positivi e 671 sono risultate essere infezioni sostenute da germi MDR (Alert Organism); 359 sono stati i germi isolati dai materiali provenienti da pazienti ricoverati in Unità di Terapia Intensiva.

Conclusioni

I risultati confermano l'esistenza di focolai endemici e/o epidemici che rispettano sempre lo stesso postulato: stessi microrganismi - stesse antibiotico resistenze. Inoltre osservando che il trasferimento dei pazienti da un reparto all'altro si accompagna alla migrazione dei "loro" germi, si intuisce quanto è importante la comunicazione tempestiva dei dati del laboratorio di Microbiologia e Virologia per consentire

1. al clinico lo switch terapeutico più rapido ed efficace nella gestione dell'infezione
2. al CIO le modalità per stabilire le adeguate misure di buona pratica assistenziali.

Tutto questo per arginare se non eradicare un fenomeno, che costituisce un problema di sanità pubblica che sta assumendo caratteri sempre più onerosi.

POSTER P3**APPROPRIATEZZA PRESCRITTIVA NELLA DIAGNOSI DELLO SCOMPENSO CARDIACO**

MARINA VITILLO, PAOLA SALERA, SEBASTIANO LA ROCCA

U.O.C. Patologia Clinica, A.C.O. San Filippo Neri, Roma

Introduzione

Diversi studi hanno dimostrato l'importanza del dosaggio del BNP nella diagnosi differenziale delle dispnee acute nel Dipartimento di Emergenza. Il suo utilizzo è aumentato progressivamente portando ad un aumento della spesa tanto da incidere in modo cospicuo sul budget del laboratorio.

Scopo del lavoro

Per contenere tale spesa abbiamo voluto sperimentare un protocollo formulato considerando le linee guida a disposizione per l'uso del BNP nella diagnosi dello scompenso cardiaco nel nostro ospedale ed in particolare in Pronto Soccorso, che è il reparto con il maggior numero di richieste. Ne abbiamo successivamente valutato a distanza di 9 mesi l'impatto economico.

Materiali e metodi

È stato concordato e scritto dalla Patologia Clinica e da rappresentanti del Dipartimento di Emergenza e di Cardiologia un protocollo per la richiesta di BNP, applicando i criteri proposti dalle Linee Guida (1, 2).

Nel protocollo, pertanto, si consigliava di richiedere il dosaggio del BNP:

- Per confermare la diagnosi di insufficienza cardiaca in pazienti con quadro clinico non chiaro;
- Nella diagnosi differenziale della dispnea.

Nello stesso protocollo si sconsigliava, inoltre, la richiesta del dosaggio del BNP nei pazienti che si presentano in Pronto Soccorso con evidente diagnosi clinica di scompenso cardiaco, in quelli con fibrillazione atriale o con sindrome coronarica acuta.

Abbiamo verificato l'adesione dei reparti a distanza di 9 mesi dall'introduzione del protocollo e, quindi, valutato l'impatto economico, proiettandolo ad un anno.

Il dosaggio del BNP dal 2004 viene eseguito nel nostro laboratorio nelle 24 ore con metodo in chemiluminescenza, ALERE (già BIOSITE), su strumento ACCESS2 BECKMAN COULTER.

Risultati

Nel periodo febbraio-novembre 2011 le richieste di BNP per tutto l'ospedale sono state 7487, mentre nello stesso periodo del 2012 sono state 4648 (-38%). Tale riduzione si è verificata prevalentemente a carico del PS (-49.4%). La valutazione economica ha mostrato una riduzione nella spesa dei diagnostici nel periodo di sperimentazione di Euro 41.165,50, che proiettati ad un anno diventano Euro 55.697,41.

Conclusioni

Il nostro lavoro ha dimostrato che la stesura di protocolli interni, nel rispetto delle linee guida, condivisi con i reparti, ne rende efficace e rapida l'applicazione. Inoltre, un solo intervento ha prodotto un notevole risparmio di risorse da reinvestire, senza modificare l'efficacia diagnostica.

Bibliografia

1. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory. Medicine Practice Guidelines: Clinical Utilization of Cardiac Biomarker Testing in Heart Failure, Robert H. Christenson (Editor), 2007, The American Association for Clinical Chemistry.
2. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008. European Journal of Heart Failure 2008, 1 – 55.

POSTER P4

RILEVANZA DEI GERMI GRAM NEGATIVI MULTIRESISTENTI NELLE INFEZIONI CORRELATE ALL'ASSISTENZA SANITARIA: STUDIO EPIDEMIOLOGICO IN UN OSPEDALE SALENTINO

VITTORIO TASSI, MARIA ROSARIA MANCARELLA, GIUSEPPE DE MICHELI,
BRUNO AMANTONICO, FRANCESCO

*Merico, Antonio Gelsomino, Cinzia D'Amico e Aniello Carbone
ASL Lecce, U.O.C di Patologia Clinica, Ospedale Francesco Ferrari, Casarano (LE)*

Scopo del lavoro è la determinazione della rilevanza delle infezioni da germi Gram negativi multiresistenti (MDR), attraverso uno studio epidemiologico sulle infezioni correlate all'assistenza sanitaria, effettuato nel maggior ospedale pubblico del Sud Salento (270 posti letto).

Metodi. Le infezioni registrate nel corso dell'anno 2012, provenienti dai reparti dell'ospedale Francesco Ferrari di Casarano (LE), sono state studiate. I germi isolati sono stati identificati e le relative antibiotico- sensibilità determinate mediante sistema Vitek2 (bioMérieux). La caratterizzazione fenotipica delle carbapenemasi è stata eseguita con test di sinergia mediante disco diffusione.

Risultati. Nel corso del presente studio sono stati identificati 1026 isolati consecutivi non replicati, di cui 682 (66%) erano rappresentati da germi Gram negativi. Complessivamente sono stati identificati 246 isolati Gram negativi multiresistenti (MDR), con un dato di prevalenza (isolati MDR/esami richiesti) di 5,58% che sottolinea la grande rilevanza della presenza di tali germi.

Di questi 246 isolati MDR, 97 erano rappresentati da *Klebsiella pneumoniae*, provenienti in 50 casi da urina, in 32 casi da campioni respiratori ed in 5 casi da sangue. Più dell'80% delle *K. pneumoniae* MDR mostravano resistenza ai carbapenemi. 31 di queste sono state sottoposte a test di sinergia che ha suggerito in 27 casi (87%) la presenza di una carbapenemasi di tipo KPC. Va rilevato che la maggior parte delle infezioni respiratorie da *K. pneumoniae* MDR proveniva dall'area critica, mentre la grande maggioranza di quelle urinarie proveniva dall'area medica. *Acinetobacter baumannii* è stato isolato in 38 casi, nella maggior parte (28/38) da area critica e per lo più (29/38) da infezioni respiratorie. In un caso si è registrata una sepsi da *Acinetobacter*, rivelatasi purtroppo fatale. Tutti gli isolati di *Acinetobacter* erano multiresistenti e sensibili alla sola colistina. Rilevanti si sono rivelate anche le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* MDR: 49 isolati in totale, nella quasi totalità con fenotipo di resistenza anche ai carbapenemi. In circa la metà dei casi da *Pseudomonas* MDR si trattava di infezioni respiratorie registrate in area critica. Infezioni da *Proteus* MDR sono state osservate in 21 casi. Le infezioni da *Escherichia coli*, per quanto più assai rilevanti numericamente nella nostra popolazione ospedaliera (246 isolati), hanno mostrato solo in 37 casi un fenotipo multi resistente, di tipo ESBL.

Conclusioni. Il presente studio dimostra come anche in realtà geograficamente più isolate come la nostra, l'impatto dei Gram-negativi multiresistenti rappresenti una reale emergenza sanitaria, e sottolinea la necessità di implementare efficienti programmi di prevenzione e controllo delle infezioni.

POSTER P5**VALUTAZIONE DELLA PRODUZIONE DI SPECIE REATTIVE DELL'OSSIGENO A LIVELLO DEL TESSUTO ADIPOSO EPICARDICO E SOTTOCUTANEO MEDIANTE RISONANZA PARAMAGNETICA ELETTRONICA (EPR) IN SOGGETTI CON PATOLOGIA CORONARICA**

ELENA DOZIO¹, ELENA VIANELLO¹, LUCIA SALCITO¹, MONICA GIOIA MARAZZI¹, M. M. CORSI ROMANELLI^{1,2}

¹*Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia;* ²*Servizio di Medicina di Laboratorio1-Patologia Clinica, Dipartimento dei Servizi Sanitari di Diagnosi e Cura - Medicina di Laboratorio - IRCCS Policlinico San Donato, San Donato Milanese, Milano, Italia*

L'accumulo di grasso a livello dell'epicardio (EAT) rappresenta una forma di deposito adiposo viscerale potenzialmente implicato nello sviluppo dell'aterosclerosi coronarica. EAT è un tessuto metabolicamente attivo in grado, non solo di regolare l'afflusso di lipidi a livello del miocardio, ma anche di produrre chemochine, adipochine, citochine e fattori vasoattivi che possono modulare localmente il tessuto cardiaco e vascolare. Poiché l'aumentata deposizione di grasso a livello viscerale, noto fattore di rischio per patologie cardiovascolari, si accompagna ad un aumento dello spessore di EAT, recentemente è stato suggerito che il livello di EAT possa essere un buon marcatore di adiposità viscerale e, in particolare, un potenziale marcatore di rischio cardiovascolare. È risaputo che l'aumentato sviluppo della massa di tessuto adiposo porta ad una situazione di ipossia locale associata ad una aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che condizionano lo sviluppo di stress ossidativo e contribuiscono ad aumentare la situazione infiammatoria.

Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare la produzione di ROS a livello di due tipologie di tessuto adiposo, epicardico e sottocutaneo, e di confrontare tra loro soggetti con o senza patologia coronarica omogenei per età e indice di massa corporea ($BMI \geq 25$). A tal fine, campioni di EAT e SAT sono stati prelevati da pazienti con patologia coronarica sottoposti a intervento di bypass e da pazienti privi di segni di patologia coronarica sottoposti a intervento di sostituzione di valvole cardiache (gruppo controllo) e si è proceduto alla quantificazione della produzione dei ROS utilizzando la tecnica EPR e la sonda CMH. Il confronto EAT – SAT ha evidenziato una maggior produzione di ROS a livello del SAT ($p < 0.001$). Suddividendo la casistica in funzione del tipo di patologia, in entrambi i gruppi di pazienti la produzione di ROS a livello del SAT è risultata maggiore rispetto a EAT ($p < 0.01$). Si è inoltre osservata una aumentata sintesi di ROS a livello di EAT nei pazienti con patologia coronarica rispetto al gruppo controllo ($p < 0.01$). Nessuna differenza sussiste invece tra i due gruppi a livello del SAT.

Questi dati sembrano suggerire che in pazienti con patologia coronarica l'aumentata produzione di ROS a livello di EAT possa rappresentare un meccanismo che contribuisce allo stato infiammatorio locale e al peggioramento della patologia. L'aumentata capacità del SAT di produrre ROS potrebbe riflettere una differente composizione dei due tessuti ma necessita ulteriori approfondimenti.

POSTER P6**POTENZIALE RUOLO DI GDF-15, ST-2 E GALECTINA-3 COME MARCATORI DI RIMODELLAMENTO CARDIACO IN PAZIENTI AFFETTI DA CORONAROPATIA E DISFUNZIONI VALVOLARI**

ELENA VIANELLO¹, ELENA DOZIO¹, LUCIA SALCITO¹, MONICA GIOIA MARAZZI¹, M. M. CORSI ROMANELLI^{1,2}

¹*Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia;* ²*Servizio di Medicina di Laboratorio1-Patologia Clinica, Dipartimento dei Servizi Sanitari di Diagnosi e Cura - Medicina di Laboratorio - IRCCS Policlinico San Donato, San Donato Milanese, Milano, Italia*

L'insufficienza cardiaca (IC) è una condizione correlata all'incapacità del cuore di pompare quantità di sangue sufficienti per far fronte alle necessità dell'organismo. Si sviluppa in genere in seguito a una lesione cardiaca, ad esempio in conseguenza di un infarto del miocardio, a un'eccessiva sollecitazione cardiaca dovuta a un'ipertensione non trattata per diversi anni o in conseguenza di una disfunzione valvolare. La principale risposta morfo-strutturale osservabile è il "rimodellamento", un processo in cui diversi fattori meccanici, neuro-ormonali e genetici determinano modificazioni delle dimensioni, della forma e delle funzioni contrattili cardiache. Una delle attuali priorità nella gestione dei pazienti affetti da IC è poter disporre di guide per il monitoraggio dello stato di scompenso e la gestione del trattamento farmacologico. I recenti progressi nella comprensione dei meccanismi fisiopatologici hanno messo a disposizione fra gli strumenti innovativi un numero crescente di marcatori bioumorali utilizzati per definire la gravità funzionale del danno cardiaco, per la stratificazione prognostica nell'intero spettro dell'evoluzione della malattia, per valutare l'efficacia del trattamento e per guidare la terapia. Ad esempio, le troponine sono utilizzate come indice di necrosi cellulare e i peptidi natriuretici come marcatori dello stiramento della parete ventricolare. Tuttavia, poiché il processo di rimodellamento cardiaco è dovuto non solo all'ipertrofia dei cardiomiociti ma anche a cambiamenti a più lungo termine della matrice extracellulare, con aumentata sintesi di collagene e sviluppo di fibrosi, studi recenti hanno evidenziato l'importanza di individuare nuovi marcatori che tengano in considerazione i diversi aspetti della patologia. Per questo motivo nell'ambito del nostro studio abbiamo preso in considerazione le molecole GDF-15, ST-2 e Galectina-3, tre emergenti marcatori con un potenziale coinvolgimento nell'infiammazione e nel rimodellamento cardiaco, e abbiamo confrontato i loro livelli circolanti in pazienti affetti da coronaropatia (n = 20), in pazienti con disfunzioni valvolari (n = 20) e in un gruppo controllo (n = 20). I livelli delle tre molecole sono stati valutati su campioni di plasma raccolti al mattino a digiuno mediante dosaggio immuno-enzimatico (ELISA). I risultati ottenuti hanno evidenziato un aumento statisticamente significativo ($p < 0.05$) dei livelli plasmatici di GDF-15, ST-2 e Galectina-3 in entrambi i gruppi di pazienti rispetto al gruppo controllo. Non si è invece osservata alcuna differenza nei livelli delle tre molecole tra i pazienti con coronaropatia e quelli con disfunzione valvolare.

In conclusione, il monitoraggio di nuovi biomarcatori di rimodellamento e infiammazione cardiaca potrebbe fornire informazioni prognostiche aggiuntive. Da valutare se l'utilizzo integrato con marcatori di mio-necrosi e stiramento permetta una maggiore stratificazione del rischio.

POSTER P7**MONITORAGGIO DELL'ATTIVITA' ENDOTOSSINICA IN SOGGETTI A RISCHIO DI SEPSI**

ALESSANDRA VINCENTI¹, ROSA LOZITO², MICHELE LOSPALLUTI², RUGGIERO FUMARULO¹, MARIA ADDOLORATA MARIGGIÒ¹

¹Dip. di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Sezione di Patologia Generale, Sperimentale e Clinica e ²Dip. di Emergenza e Trapianto di Organi, Sezione di Chirurgia d'Urgenza, Università degli Studi di Bari

L'endotossina è una componente di natura lipolisaccaridica (LPS) della parete dei batteri Gram negativi, in grado di indurre una potente risposta infiammatoria. Elevati livelli di endotossinemia possono provocare sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS) e shock settico.

Alcuni autori hanno dimostrato che l'aumento di LPS in circolo è più frequente nei pazienti sottoposti ad intervento chirurgico per patologie addominali complicate da focolai infettivi.

In questa ricerca abbiamo valutato un kit diagnostico disegnato per determinare l'attività endotossinica ed individuare, quindi, i soggetti a rischio di shock settico.

Materiali e Metodi: sono stati arruolati 25 pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia del grosso intestino e altrettanti soggetti di controllo sottoposti a tiroidectomia e mastectomia. Su ciascun paziente del gruppo di studio sono stati eseguiti un prelievo di sangue intero in EDTA 24 ore prima dell'intervento e prelievi successivi a distanza di 24 ore l'uno dall'altro, mentre i pazienti del gruppo di controllo sono stati sottoposti ad un prelievo 24 ore prima e subito dopo l'intervento. La determinazione dell'attività endotossinica è stata eseguita utilizzando il kit Endotossin Activity Assay (EAATM). Il test sfrutta la presenza di una immunoglobulina (IgM) diretta contro l'LPS ed il legame del complesso così ottenuto ai recettori CR1 dei PMNs. Questo legame determina il rilascio di radicali liberi misurabili attraverso l'interazione con un substrato chemiluminescente. I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica utilizzando il test t di Student per il confronto tra le medie. In tutti i pazienti sono stati contemporaneamente effettuati i dosaggi di PCR, procalcitonina, d-dimeri, fibrinogeno ed esame emocromocitometrico.

Risultati: i dosaggi dell'attività endotossinica non mostrano differenze significative tra i valori misurati nei pazienti del gruppo di studio verso i pazienti del gruppo di controllo. Inoltre, la metodica utilizzata evidenzia innalzamenti dell'attività endotossinica nel follow up dei singoli pazienti non confortati dalla variazione degli indici di flogosi.

Conclusioni: il dosaggio indiretto dell'LPS attraverso la quantità di ROS liberati dai neutrofili si è rivelata una tecnica poco specifica, poco sensibile e con un CV estremamente elevato. Questa metodica non sembra particolarmente utile nell'individuazione dei soggetti a rischio di sepsi.

POSTER P8

LA IODURIA IN UNA VALLE APPENNINICA TOSCANA

GIULIO OZZOLA¹, CARLO MONTAINI², ANGELA SILVANO¹

¹U.O. Laboratorio Analisi - Zona Casentino-USL8 Arezzo

²Direttore Zona Distretto - Zona Casentino-USL8 Arezzo

Scopo del lavoro

In Italia si stima che più del 10% della popolazione sia affetta da gozzo nonostante la legge 55 del 2005 che dà disposizioni in materia di iodoprofilassi e sull'obbligo di vendita di sale iodato. Per valutare l'assunzione iodica di una popolazione si esegue la ioduria ed in base a questa la WHO ha elaborato dei criteri che permettono di valutare se l'assunzione iodica è insufficiente, adeguata, eccessiva. In base a tali criteri l'assunzione iodica di una popolazione è considerata adeguata se la ioduria è compresa tra 100 e 199 m/L. Questo esame viene comunemente usato per le indagini epidemiologiche, ma non viene praticamente utilizzato, tranne poche eccezioni, per valutare l'intake iodico nei singoli soggetti. Ciò è dovuto principalmente al rapido turnover ematico dello iodio ed ai limiti della ioduria dovuti alle sue variazioni circadiane e stagionali. Con questo lavoro preliminare si vuole valutare tramite la ioduria quale è l'assunzione iodica in una popolazione residente in una vallata appenninica toscana (Casentino-AR).

Casistica, materiali e metodi

È stata misurata la ioduria in:

- 50 donatori di sangue, verosimilmente sani (G1)
- 80 studenti delle scuole superiori di primo grado (G2)
- 70 donne al primo trimestre di gravidanza (G3)

I gruppi G1 e G2 sono stati esaminati nel 2013 mentre il gruppo G3 era stato sottoposto a controllo nel 2011. Per confronto si è inoltre usata una casistica fatta nel 2003 su 50 donatori di sangue (G4).

La ioduria è stata misurata su singolo spot di urine del mattino utilizzando la metodica di Sandell-Kolthoff previo trattamento delle urine con ammonio persolfato e riscaldamento per 45' a 95°C.

GRUPPO	IODURIA (m/L -MEDIANA)	IODURIA (m/L -RANGE)
G1	137	33-346
G2	178	17-380
G3	64	5,0-188
G4	57	16-256

Risultati

I risultati sono riassunti nella tabella.

Conclusioni

I gruppi G1 e G4, cioè quelli composti da donatori di sangue verosimilmente sani, ma analizzati a 10 anni di distanza mostrano una evidente, ma non statisticamente significativa differenza di ioduria. Se la ioduria del gruppo esaminato nel 2003 indicava una popolazione a moderata carenza iodica, quella del G1, eseguita nel 2013, indica che i casentinesi adulti e sani hanno un adeguato apporto iodico. Anche gli studenti esaminati nel 2013 mostrano avere una alimentazione ottimale per il suo quantitativo in iodio. La netta differenza riscontrata tra G1 e G4 potrebbe essere spiegata con la introduzione dell'uso di sale iodato prevista dalla legge 55/2005. Le donne in gravidanza al primo trimestre mostrano invece che in tale popolazione l'apporto iodico non è sufficiente. Questo dato è facilmente spiegabile col fatto che in gravidanza la ghiandola tiroidea deve provvedere alle necessità metaboliche sia materne che fetali e quindi l'assunzione di iodio con gli alimenti deve essere implementata. Il dato è particolarmente importante soprattutto alla luce del fatto che in gravidanza l'ipotiroidismo può comportare complicanze anche gravi sia per la madre che per il feto. Questo lavoro, anche se effettuato su casistiche poco numerose indica chiaramente che nella popolazione casentinese il livello di assunzione iodica non è adeguato proprio nella gravidanza, e quindi nel periodo più delicato per madre e feto. Ciò comporta che dovranno essere potenziate le misure di educazione alla iodoprofilassi con particolare riguardo ai consultori familiari.

POSTER P9**STUDIO OSSERVAZIONALE DELLA CORRELAZIONE TRA RIDUZIONE DEI LIVELLI DI FERRITINA SIERICA E DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN DONATORI DI SANGUE CON SINDROME METABOLICA**

GILDA DI DOMENICO, GASPARE MICHELE LEONARDI, COSIMO NOCERA

UOC di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, PO "S.G.Bosco", ASL NA1 Centro, Napoli

Introduzione. Per Sindrome Metabolica (SM) (detta anche sindrome X, sindrome da insulino-resistenza, CHAOS o sindrome di Reaven) si intende una situazione clinica ad alto rischio cardiovascolare caratterizzata da insulino-resistenza, stato pre-diabetico e/o diabete tipo II conclamato, obesità, dislipidemia, ipertensione arteriosa. Numerosi studi hanno dimostrato che elevati livelli di ferritina sierica sono connessi ad un aumento della prevalenza della SM dimostrando come elevati depositi di ferro siano in grado di danneggiare l'estrazione di insulina dal pancreas e promuovere così l'insulino-resistenza. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare i livelli di ferritina sierica in una popolazione di donatori abituali con SM e le sue variazioni in base al numero di donazioni di sangue, correlandole alle condizioni cliniche dei donatori.

Materiali e Metodi. Una popolazione selezionata di 30 donatori abituali (20M/10F, range età: 35-65) con accertata SM è stata inclusa nella studio per un arco di tempo di due anni. I criteri di selezione sono stati i seguenti: circonferenza vita superiore a 88 cm nelle donne e 101 negli uomini, pressione arteriosa > 140/90 o presenza di trattamento farmacologico per l'ipertensione, glicemia a digiuno > 100 mg/dl od anche se tenuta sotto controllo con farmaci, colesterolo sierico > 200 mg/dl, HDL < 40mg/dl nei M e < 50 mg/dl nelle F, trigliceridi > 150 mg/dl o comunque la presenza di trattamento farmacologico per dislipidemia. Tutti i donatori venivano screenati per i valori di ferritina sierica ad ogni donazione, correlando tali valori con il numero di donazioni per anno. Inoltre, un attento esame obiettivo generale e per singoli apparati associato ad esami biochimici di routine ed almeno un elettrocardiogramma/anno, venivano eseguiti ad ogni donazione. L'analisi statica dei singoli parametri analizzati è stata eseguita mediante test ANOVA e Student "t" test ($p < 0,01$).

Risultati. I livelli basali medi di ferritina sierica (VN: 30-400 ng/ml) nei donatori all'inizio dello studio erano rispettivamente; 674 ng/ml nei M e 540 ng/ml nelle F. Tali valori si riducevano del 10% nei donatori che effettuavano una sola donazione all'anno (600 ng/ml M; 484 ng/ml F) ($p > 0,01$), del 20% in quelli con due donazioni/anno (538 ng/ml M; 424 ng/ml F) ($p > 0,01$), del 40% in quelli con tre donazioni/anno (400 ng/ml M; 350 ng/ml F) ($p < 0,01$) e del 50% in quelli con quattro donazioni/anno (310 ng/ml M) ($p < 0,0001$). Parallelamente al decremento della ferritina sierica si osservava una progressiva riduzione della pressione arteriosa sia nei M che F, correlata al numero di donazioni eseguite, dei valori di glicemia (< 100 mg/dl sia nei M che F dopo 3/4 donazioni) e dei livelli di colesterolo e trigliceridi (< 200mg/dl e 150 mg/dl sia nei M che F dopo 3/4 donazioni).

Conclusioni. I risultati del nostro lavoro dimostrano che nei donatori con SM i livelli di ferritina sierica si riducono in maniera lineare con il numero di donazioni di sangue, dimezzandosi dopo 4 donazioni/anno. Contemporaneamente, si osserva un progressivo controllo del metabolismo glicidico e lipidico e dell'ipertensione arteriosa, markers di rischio cardiovascolare. Tali dati indicano che la donazione di sangue ha effetti benefici sulla SM nei donatori affetti da tale patologia e ci inducono ad ipotizzare un generale effetto terapeutico del salasso nella SM.

POSTER P10

VALUTAZIONE DEI LIVELLI DI TROPONINA T ULTRASENSIBILE IN CORSO DI PANCREATITE ACUTA

OLIMPIA FATTORUSO¹, NATALE RISITANO¹, SILVIA LEONARDI¹, RAFFAELE DE GAETANO¹, FRANCA PATRONE¹, ELENA CARAMANNA¹, MARIA ROSARIA RIGHETTI¹, ANNA BASILE¹, ANTONIA MONTEFORTE¹, LUISA DE CRISTOFANO¹, MAURO SANSONE¹ & MARIA TERESA POLISTINA¹

¹U.O.C. Patologia Clinica, P.O. "S. G. Bosco", ASL NA1 Centro

Introduzione.

La pancreatite acuta si distingue in due tipi: forma lieve a decorso benigno, e forma severa con insufficienza d'organo, complicanze locali quali necrosi, ascessi o pseudocisti fino alla sindrome da disfunzione multiorgano (MODS). La determinazione degli enzimi pancreatici sierici è utile per la diagnosi di pancreatite acuta, ma non vi è alcuna relazione tra le loro concentrazioni e la gravità della malattia. La ricerca di un singolo *marker* capace di valutare precocemente la gravità della malattia è lo scopo di numerosi studi.

Scopo.

Considerato che la concentrazione delle troponine ad elevata sensibilità può aumentare in varie patologie extracardiache, scopo del nostro studio è stato quello di valutare i livelli di TnThs in pazienti con pancreatite acuta rispetto a un gruppo di controllo.

Materiali e Metodi.

Nel gruppo di studio (GS) sono stati arruolati 27 pazienti (14 maschi, 13 femmine, età media 60 ± 17) con pancreatite acuta, provenienti dal pronto soccorso o dalla chirurgia di urgenza del nostro ospedale. Sono stati esclusi dallo studio 12 pazienti che presentavano: aumento della creatinina (n.5), ricovero in rianimazione (n.4) o UTIC (n.1), pancreatite cronica (n.1) o tumore (n.1). Il gruppo di controllo (GC) è costituito da 25 donatori sani del centro trasfusionale. I dosaggi di amilasi totale (Amy.T), isoamilasi pancreatica (Amy.P), lipasi (Lip), troponina T ad alta sensibilità (TnThs) sono stati eseguiti su analizzatore automatico Cobas 6000 della Roche.

Risultati. In tabella sono riassunti i risultati di pazienti e controlli.

Amy.T (UI/L)	Amy.P (UI/L)	Lip (UI/L)	TnThs (ng/ml)	Amy.T	TnThs
1462.5±1291.7	1086.1±988.3	1388.4±1746.8	0.021±0.019	56.7±16.5	0.005±0.002
Pazienti				Controlli	

Conclusioni.

L'analisi preliminare dei risultati evidenzia che nei pazienti con pancreatite acuta i valori medi di TnThs sono più alti rispetto ai controlli (0.021 vs 0.005 ng/ml). Obiettivo futuro sarà quello di valutare, su una casistica più ampia, se la TnThs può essere un *marker* utile per valutare la gravità e/o il danno miocardico in corso di pancreatite acuta.

POSTER P11

LIVELLI DI CORTISOLO SALIVARE IN PERSONALE SANITARIO OPERANTE NEI SERVIZI OSPEDALIERI DI URGENZA

OLIMPIA FATTORUSO¹, FRANCA PATRONE¹, ELENA CARAMANNA¹, MARIA ROSARIA RIGHETTI¹, LUCIA ROTONDO¹, ANNA BASILE¹, ANTONIA MONTEFORTE¹, LUISA DE CRISTOFANO¹, ROBERTA LUCCHESI¹, MAURO SANSONE¹, MARIA TERESA POLISTINA¹

¹U.O.C. Patologia Clinica, P.O. "S. G. Bosco", ASL NA1 Centro

Introduzione.

Il cortisolo è un ormone regolato dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (IIS), comunemente chiamato "ormone dello stress". Il termine *stress* è attualmente uno dei più abusati e viene messo generalmente in relazione a situazioni negative per il benessere e la salute delle persone. In particolare nei paesi sviluppati, lo *stress* lavoro-correlato è emerso come uno dei fattori psicosociali di maggiore incidenza sulla salute, essendo associato a ipertensione, insulino-resistenza, obesità addominale, disturbi depressivi, disordini del sistema immunitario, malattie muscolo-scheletriche dell'arto superiore e/o del rachide, osteoporosi.

Scopo.

Considerato che lo stress può causare una disregolazione dell'asse IIS con aumento del cortisolo o alterazioni del suo ritmo circadiano, lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare i livelli di cortisolo salivare in personale sanitario operante nei servizi di urgenza dell'ospedale San Giovanni Bosco di Napoli.

Materiali e metodi.

Il gruppo di studio (GS) è costituito da 16 operatori sanitari tra medici e infermieri (8 maschi e 8 femmine, età media $45,9 \pm 8,4$), il gruppo di controllo (GC) da 27 volontari (12 maschi e 15 femmine, età media $32,2 \pm 9,5$). I soggetti del GS hanno raccolto tre campioni di saliva: 1° mattino h 7-8; 2° sera h 23-24 di un giorno lavorativo con turno lungo (diurno di 12 h o notturno); 3° mattino del giorno seguente di riposo. I volontari del GC hanno effettuato presso il proprio domicilio due prelievi: mattino h 7-8 e sera h 23-24. La saliva è stata raccolta in provette *Salivette* (Sarsted, Germania), mediante tampone di cotone sterile, secondo le istruzioni della ditta. Il cortisolo salivare libero è stato dosato mediante tecnica CLIA su analizzatore automatico COBAS 6000 della Roche. Sono stati adottati i valori di riferimento forniti dalla ditta: *mattino* v.n. < 19,1 nmol/L, *sera* v.n. < 11,9 nmol/L.

Risultati.

I valori medi di cortisolo del GS sono più elevati nel turno di lavoro (TL) rispetto a quello di riposo (TR) e al GC, anche se rispettano il ritmo circadiano con la fisiologica diminuzione della sera, come indicato nella tabella. Inoltre nel GS due soggetti (12,5%) presentano aumento del cortisolo al mattino sia nel TL che nel TR.

11,25 ± 5,7	2,37 ± 3,3	9,83 ± 5,7	9,72 ± 4,1	1,54 ± 1,3
C. sal h7 TL	C. sal h23 TL	C. sal h7 TR	C. sal h7	C. sal h23
GS			GC	

Conclusioni.

I nostri risultati confermano che l'escrezione del cortisolo può essere influenzata dalle condizioni lavorative, ma in termini non statisticamente significativi. Sono necessari ulteriori e più ampi studi per chiarire i possibili effetti sulla salute conseguenti all'attivazione dell'asse IIS. Pertanto, l'implementazione di marcatori fisiologici dello stress, come il cortisolo salivare, rappresenta un'importante frontiera per lo sviluppo delle conoscenze e per cercare di dare oggettività ad un argomento controverso come lo stress lavoro-correlato.

POSTER P12

SIERODIAGNOSI DI WIDAL-WRIGHT: SCREENING IN AUTOMAZIONE IN PROVETTA SU FREEDOM EVO CLINICAL 150 TECAN.

MICILLO ALBERTO¹, RUSSO ADOLFO², MICILLO GIUSEPPE³

¹⁻²Laboratorio di Patologia Clinica - AORN "Santobono-Pausilipon" - Napoli

³Facoltà di Farmacia dell'Ateneo Federico II - Napoli

La sierodiagnosi di Widal-Wright ancora oggi viene eseguita manualmente nella maggior parte dei laboratori di patologia clinica con notevole dispendio di tempo ed impiego di personale dedicato.

Si è valutata pertanto la possibilità di trasformare la metodica classica quantitativa, a 7 diluizioni in provetta, eseguita manualmente, in una metodica qualitativa di screening, a 2 diluizioni effettuata in automazione.

Per le prove è stato utilizzato il diluitore automatico a 8 aghi indipendenti FREEDOM EVO CLINICAL 150 della ditta TECAN, su gentile concessione della ditta SIEMENS, che ne consente l'uso presso il nostro Laboratorio di Patologia Clinica dell'Ospedale Santobono di Napoli.

La metodica implementata è riportata nello schema illustrato nella Fig. 1.

Per le prove sono state utilizzate le Sospensioni diagnostiche colorate della ditta SPIN-REACT per gli antigeni O ed H di *S. typhi*, *S. Paratyphi A* e *B*, e per gli antigeni relativi a *Breella* spp.

La valutazione è stata eseguita in sei mesi su 367 campioni di siero provenienti da pazienti pediatrici, pervenuti presso la nostra AORN "Santobono-Pausilipon", con sospetto di febbre tifoide o brucellosi.

Ciascun campione è stato esaminato in doppio, con la metodica "classica manuale" e con la metodica "screening in automazione", per valutarne la concordanza. I risultati ottenuti sono riportati nella Tabella A. Dai dati rilevati si evidenzia che i due metodi sono perfettamente sovrapponibili, mostrando una concordanza del 100%. In più, l'esecuzione della metodica automatizzata, ha il vantaggio di poter essere svolta in breve tempo recuperando il personale di laboratorio dedicato; inoltre, trattandosi di un metodo di screening che impiega solo 2 diluizioni del campione in esame, risulta particolarmente vantaggioso economicamente, assicurando un notevole risparmio di reagenti.

Figa 1			
Sospensioni	Diluizioni finali	Erogazione voli di Siero e Reagenti	
S. Typhi Ag O	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Typhi Ag O	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Typhi Ag H	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Typhi Ag H	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi A Ag O	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi A Ag O	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi A Ag H	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi A Ag H	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi B Ag O	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi B Ag O	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi B Ag H	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
S. Paratyphi B Ag H	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
Breella spp.	1:50	20 _l siero + 480 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	
Breella spp.	1:100	10 _l siero + 490 _l sol.fisiol. + 500 _l sospensione diagnostica	

Tabella A	Metodica Manuale Classica	Metodica Automatizzata Screening	CONCORDANZA RISULTATI (%)
N° Campioni: 367			
Campioni NEGATIVI	363	363	100
Campioni POSITIVI	4	4	100

POSTER P13

L-ARGININE, ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE (ADMA) AND SYMMETRIC DIMETHYLARGININE (SDMA) IN PLASMA AND SYNOVIAL FLUID OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS

VITO DE GENNARO COLONNA¹, WALTER PASCALE², VITO LAVANGA³, VALERIO SANSONE³,
PAOLO FERRARIO¹, VALERIO PASCALE³

¹*Department of Clinical Sciences and Community Health, University of Milano, Milano, Italy.*

²*Knee surgery II, IRCCS Galeazzi Orthopaedics Institute, Milano, Italy.*

³*Clinical Orthopaedics, IRCCS Galeazzi Orthopaedics Institute, Milano, Italy.*

Background: The aim of this study was to investigate the involvement of the nitric oxide (NO) pathway in osteoarthritis (OA).

Materials/Methods: The study groups consisted of 32 patients with knee OA and 31 healthy controls. In peripheral venous blood samples (from the OA patients and the controls) and in synovial fluid samples (from the OA patients), the concentrations of L-arginine (ARN), asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA) were evaluated.

Results: Plasma ARN concentrations were lower in the OA patients than in controls (53.55 ± 16.37 vs 70.20 ± 25.68 $\mu\text{mol/l}$, $P < 0.05$), while plasma ADMA concentrations were similar. Accordingly, the ARN/ADMA ratio was lower in the OA patient than in the control group (80.85 ± 29.58 vs 110.51 ± 30.48 , $P < 0.05$). Plasma SDMA concentrations were higher in the OA patients than in controls (0.69 ± 0.15 vs 0.60 ± 0.10 $\mu\text{mol/l}$, $P < 0.05$). In the OA patients, ADMA concentrations were significantly higher in the synovial fluid than in plasma (0.75 ± 0.09 vs 0.69 ± 0.14 $\mu\text{mol/l}$, $P < 0.05$), as was for ARN concentrations (76.96 ± 16.73 vs 53.55 ± 16.73 $\mu\text{mol/l}$, $P < 0.00001$).

Conclusion: These results indicate a poor availability of NO in the synovial fluid of the OA patients, capable to contribute to the progression of OA. The decrease of the ARN/ADMA ratio and the increase of SDMA in the plasma of the OA patients suggest an impairment of endothelial function in these subjects.

POSTER P14

PARAMETRI BIOCHIMICO-CLINICI COME INDICE DELLO STATO DI SALUTE DI DONATORI DI SANGUE AFFERENTI AL SIT DI AVERSA

¹GABRIELLA MARIA CORVINO, GIOVANNA GIUSEPPA DI LEMMA, GIUSEPPE TATAVITTO, MARIA CARMINA BIANGARDO, NICOLINA CANTELLI, GIUSEPPINA DONCIGLIO, SAVERIO MISSE

¹S.C. Servizio Trasfusionale ASL Caserta, Aversa

Premessa: La donazione di sangue è un gesto di solidarietà ma è anche un modo per preservare la propria salute. Infatti i donatori di sangue beneficiano maggiormente della medicina preventiva perché sottoposti a periodiche indagini di laboratorio che permettono di attuare una diagnosi precoce per la prevenzione di alcune malattie. Lo scopo del nostro studio è valutare lo stato di salute dei donatori afferenti al SIT di Aversa attraverso l'analisi di alcuni parametri biochimico-clinici, per evidenziare eventuali anomalie e relazionare i nostri dati con quelli dello studio PASSI (Progressi delle aziende sanitarie per la salute in Italia) del 2010 della regione Campania.

Metodi: Nell'anno 2012 su un totale di 13.947 donatori è stata presa in esame una popolazione di 1000 (500 maschi e 500 femmine). Sono stati esaminati i seguenti parametri per valutare il quadro clinico dei donatori di sangue afferenti al SIT quali: colesterolo LDL, trigliceridi, sideremia, GOT e GPT. La popolazione di donatori è stata suddivisa in base al sesso, all'età e alle caratteristiche sociali. L'analisi statistica è stata effettuata con il t-student ($p < 0.05$) mettendo a confronto donatori di entrambi i sessi.

Risultati: Vedi tabelle

Età	Colesterolo LDL > 160 mg/dl P value	Trigliceridi > 180 mg/dl	Sideremia > 170 µg/dl	GOT > 45 UI/L	GPT > 45 UI/L
18-35	17 (3,4%) ($p < 0.05$)	15 (3%)	7 (1,5%)	6 (1,3%)	8 (1,6%)
36-50	31 (6,3%)	20 (4,1%)	7 (1,3%)	22 (4,4%)	19 (3,8%)
51-60	12 (2,4%)	12 (2,4%)	6 (1,2%)	8 (1,6%)	7 (1,5%)

Tabella a : parametri clinici relativi ai donatori di sesso maschile

Età	Colesterolo LDL > 160 mg/dl P value	Trigliceridi > 180 mg/dl	Sideremia > 170 µg/dl	GOT > 45 UI/L	GPT > 45 UI/L
18-35	9 (1,7%) ($p < 0.05$)	6 (1,3%)	3 (0,5%)	5 (1%)	3 (0,6%)
36-50	12 (2,4%)	10 (2,1%)	3 (0,6%)	17 (3,4%)	13 (2,6%)
51-60	16 (3,3%)	8 (1,6%)	2 (0,4%)	2 (0,4%)	1 (0,2%)

Tabella b : parametri clinici relativi ai donatori di sesso femminile

Conclusioni: Nella popolazione dei donatori afferenti al nostro SIT si evidenziano alterazioni (in aumento) di alcuni analiti, come colesterolo LDL, prevalentemente in soggetti di una fascia di età compresa tra 35-50 anni e che svolgono lavori sedentari (es impiegati). Nei soggetti maschi i valori fisiologici medi di colesterolo LDL sono pari a 125,9 mg/dl $\pm$ 26,06 mentre in 31 maschi (6,3%) si osservano valori patologici medi di 183,35 mg/dl $\pm$ 22,92. Nelle donne invece i valori fisiologici medi di LDL sono di 113,75 mg/dl $\pm$ 29,02 e in 12 soggetti (2,4%) i valori patologici medi sono di 173,83 mg/dl $\pm$ 17,97. Dal confronto emerge che la differenza tra i valori fisiologici e patologici in entrambi i sessi è statisticamente significativa con p value < 0.05 . Questi dati non sono in accordo con lo studio PASSI del 2010 secondo cui nella sottopopolazione campana di età compresa tra 35-50 anni, il 12% ha valori di colesterolo superiore alla norma, percentuale superiore rispetto a quella dei nostri donatori nella stessa fascia di età (8,7%) indice di una maggiore attenzione del donatore al proprio stato di salute. Inoltre, considerando i valori di GPT e GOT è emerso che le maggiori alterazioni si osservano nella fascia di età compresa tra 36-50 anni probabilmente ricollegabili ad una cattiva alimentazione o all'uso di farmaci o probabilmente ad un'intensa attività fisica.

POSTER P15

QUALITÀ DEL PROCESSO TRASFUSIONALE ATTRAVERSO IL MONITORAGGIO DEL C.Q.I E DELLA V.E.Q

SAGLIANO S.I.CATERINA¹, DANZI MARTINA¹, DI GIROLAMO MARIA GRAZIA¹, D'AMBROSIO ROSA,¹ GLORIA RAFFAELE¹, DI BIASE ANTONIO¹, TATAVITTO GIUSEPPE², MISSO SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale - P.O. Aversa, ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. - Aversa, ASL Caserta

Introduzione: Il D.L. 9 novembre 2007, n. 208 “Attuazione della direttiva 2005/62/CE che applica la direttiva 2002/98/CE per quanto riguarda le norme e le specifiche comunitarie relative ad un sistema di qualità per i servizi trasfusionali” obbliga di osservare importanti norme al fine di garantire la qualità del processo trasfusionale. Ogni donazione è analizzata conformemente alle prescrizioni previste dalla normativa vigente, ai sensi della quale nel controllo del sangue è compresa anche l'esecuzione diretta dei test di laboratorio per la certificazione dei requisiti di qualità e sicurezza del sangue e dei suoi derivati. Devono essere definite procedure in caso di anomalie e discrepanze dei risultati analitici rispetto ai valori di riferimento; inoltre esse devono garantire che il sangue e i suoi componenti, i cui test di screening siano ripetutamente reattivi, debbano essere esclusi dall'uso terapeutico. La qualità delle analisi di laboratorio è verificata regolarmente attraverso la partecipazione ad un sistema ufficiale di proficiency testing, utilizzando un programma di verifica esterna della qualità (V.E.Q), e del Controllo di Qualità Interno (CQI) Scopo del nostro lavoro è stato quindi monitorare il processo trasfusionale attraverso l'analisi dei dati del C.Q.I. e della V.E.Q.

Materiali e metodi: Il CQI, eseguito nel nostro laboratorio utilizzando controlli Virotest (HBV, HCV, HIV TPHA) e IH QC blood group serology control (Gruppo diretto/indiretto fenotipo Rh, Coomb Indiretto) della ditta BioRad, viene effettuato a cadenza giornaliera e consiste nella sistematica ed immediata verifica della congruenza fra i valori ottenuti nella seduta analitica e gli intervalli predefiniti dei sieri di controllo utilizzati. L'informazione che ne scaturisce riguarda ovviamente la riproducibilità del dato, cioè la *precisione*. Con l'adesione al programma VEQ, organizzato dall'Istituto superiore di Sanità (esami virologici) e con il Policlinico S.Orsola- Malpighi di Bologna (Esami Immunoematologici), invece, effettuiamo controlli inter-laboratorio, mettendo in atto un confronto tra i valori ottenuti da diversi laboratori che misurano uno stesso siero di controllo “incognito”. Gli apparecchi, oggetto del lavoro sono stati: Autovue innova, Ortho Clinical Diagnostics (gruppo ABO, Test di coombs, fenotipo Rh); Architect i2000, Abbott (HBV, HCV,TPHA, HIV1/2).

Risultati: Dati riferiti agli anni 2010-2011-2012

Test	Riferimento V.E.Q	Risultato
Virologici	Centro Nazionale sangue I.S.S.	Favorevole
Immunoeamatologici	Policlinico S.Orsola-Malpighi	Favorevole

Discussioni /Conclusioni: Il C.Q.I garantisce il mantenimento costante della precisione e dell'accuratezza di un determinato sistema analitico, affinché l'errore analitico sia contenuto in livelli predeterminati, che assicurano la significatività del risultato per l'utilizzo clinico. La partecipazione a programmi di VEQ costituisce, in altre parole, un valido strumento di valutazione della qualità diagnostica di un laboratorio. Il controllo periodico ottenuto mediante la VEQ permette all'operatore di valutare il proprio sistema analitico confrontando i risultati ottenuti con quelli degli altri partecipanti al programma di verifica esterna di qualità sul territorio nazionale, validando così il medesimo e le procedure.

L'integrazione di CQI e VEQ, dando precise indicazioni su ogni eventuale anomalia, risulta quindi essere un potente strumento per il costante miglioramento della “Qualità Totale”. Come si evince dai dati ottenuti nel nostro studio, i controlli effettuati sono risultati conformi al CQI e alla VEQ. In base a ciò il nostro laboratorio si prefigge come obiettivo quello di lavorare nel miglior modo al rispetto delle regole di qualità così che i referti prodotti siano il più possibile vicini al dato “vero”.

POSTER P16

DONAZIONE E PREVENZIONE: L'ELETTROFORESI DELLE PROTEINE SIERICHE E' UTILE?

DANZI MARTINA¹, SAGLIANO S.I. CATERINA¹, D'AMBROSIO ROSA¹, DI GIROLAMO MARIA GRAZIA¹, GRIFFO ELISABETTA¹, DI BIASE ANTONIO¹, TATAVITTO GIUSEPPE², MISSO SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale - P.O. Aversa, ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. - Aversa, ASL Caserta

Introduzione: La donazione di sangue oltre ad essere un gesto di solidarietà verso gli altri, costituisce anche un modo per seguire comportamenti e stili di vita sani e corretti. Essa è da considerare, un'ottima occasione per tenere sotto controllo sé stessi e per scoprire, ai primissimi sintomi, patologie silenti. Come prevede il D.M del 3/03/2005 presso il nostro SIT, ad ogni donazione di sangue vengono eseguiti: esame emocromocitometrico completo, sierodiagnosi per la lue, HIV 1-2, HCV Ab, HBs Ag, HCV NAT, determinazione gruppo ABO (test diretto e indiretto), determinazione fenotipo Rh completo e ricerca anticorpi irregolari anti-eritrocitari (RAIA). Le gammopatie monoclonali (CM), sono condizioni contraddistinte dalla presenza nel plasma di un' immunoglobulina monoclonale in eccesso (M-componente). Caratteristica patognomonica della gammopatia monoclonale benigna (GMB) è la non evolutività della disproteidemia che riflette l'autonomia limitata, senza carattere di malignità, del clone plasmocitario aberrante responsabile della produzione della M proteina. La prevalenza nella popolazione generale delle gammopatie monoclonali è del 3,2% dopo i 50 anni e raggiunge il 6,6% dopo gli 80 anni. All'esordio, la stragrande maggioranza delle CM non si associa ad alcuna manifestazione clinica e definisce la cosiddetta gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS), per cui molti soggetti vengono a conoscenza di tali alterazioni casualmente attraverso donazioni di sangue e/o analisi cliniche di routine. Scopo del nostro lavoro è stato quello di implementare tra gli esami di routine dei donatori occasionali l'elettroforesi delle proteine sieriche (QPE), metodica che permette la rilevazione di componenti monoclonali, come screening per la prevenzione e la diagnosi precoce di gammopatie monoclonali.

Metodi: Per avere una stima della prevalenza di CM nella nostra popolazione, nel periodo settembre-dicembre 2012 presso il nostro SIT, sono stati screenati 500 donatori di sangue di nazionalità italiana con età compresa 30-55, di cui 300 maschi e 200 femmine. Questi sono stati sottoposti ad elettroforesi delle proteine sieriche per valutare eventuali anomalie. La seduta analitica di tali campioni è stata effettuata utilizzando il sistema automatico Ciampolini Sebia che prevede elettroforesi su gel d'agarosio.

Risultati: I risultati hanno evidenziato alterazioni del QPE in 8 donatori. I soggetti sono stati richiamati a visita per sottoporsi ad ulteriori indagini. Dall'analisi dei dati abbiamo osservato che in 3 soggetti è stata rilevata una ipogammopatia con diagnosi di LLC confermata dall'analisi citofluorimetrica, mentre in 5 soggetti (0.01%) è stata riscontrata una MGUS.

Conclusioni: Nell' iter diagnostico cui sono stati sottoposti alcuni donatori di sangue afferiti al nostro servizio trasfusionale, l'elettroforesi delle proteine sieriche ha svolto un importante ruolo, in quanto non solo ha fornito un quadro dello stato di salute del donatore, ma ha permesso di quantificare con precisione le relative componenti clonali identificate, e confermare o escludere eventuali disordini linfoproliferativi. Alla luce dei dati di prevalenza da noi ottenuti, sarebbe auspicabile fare una rivalutazione dell' opportunità di considerare il QPE come esame di screening dei donatori ,sia per invitarli a divenire periodici sottoponendosi ad un programma di monitoraggio e controllo continuo della propria salute, sia per intervenire tempestivamente in caso di malattia.

POSTER P17

RUOLO DELL'ESAME EMOCROMOCITOMETRICO NELLA DONAZIONE DI SANGUE

D'AMBROSIO ROSA¹, DI GIROLAMO MARIA GRAZIA¹, DANZI MARTINA¹, SAGLIANO S.I. CATERINA¹, CORVINO GABRIELLA MARIA¹, TATAVITTO GIUSEPPE², MISSO SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale G. Lubrano ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. Aversa, ASL Caserta

Introduzione: L'esame emocromocitometrico è un'indagine multiparametrica che ci consente di analizzare: numero totale dei globuli rossi, Hb, Htc, MCV, numero delle piastrine e dei leucociti totali con relativa formula. Alterazioni di tale esame può fornirci indicazioni su condizioni patologiche. Come previsto dal D.M. del 05/03/2005, l'esame emocromocitometrico non è imprescindibile per la validazione biologica degli emocomponenti, ma comunque obbligatorio ad ogni donazione. In considerazione alle numerose e diverse informazioni che questo esame può fornire la sua esecuzione in fase pre-donazione riveste un ruolo fondamentale per la sicurezza sia del donatore che del ricevente. Scopo del nostro lavoro è stato quello di analizzare tutte le alterazioni dell'esame emocromocitometrico dei donatori afferenti al SIT ASL Caserta.

Materiali e metodi: Nell'anno 2012 sono stati analizzati 12.249 emocromi di donatori, eseguiti con lo strumento SISMEX XT1800 (by DASIT). I campioni di sangue venoso sono stati raccolti in provette contenenti EDTA e conservati a temperatura ambiente.

Risultati: vedi tabella.

Hb <12,5 g/dL (F)	Hb <13,5 g/dL (M)	WBC <3.500/ μ L	WBC >12.000/ μ L	Plt 130.000/ μ L	Plt 450.000/ μ L
200 (1,6%)	50 (0,4%)	15 (0,1%)	310 (2,5%)	66 (0,5%)	70 (0,6%)

Discussioni e conclusioni: Dall'analisi dei dati è emerso che gli aspiranti donatori che presentano un valore di Hb più bassi sono le donne (1,6% vs 0,4%), le quali sono state indirizzate alla terapia marziale. I casi di leucocitosi sono, per la maggior parte, dovuti da infezioni virali legati al periodo stagionale. Infine, il parametro piastrinico (piastrinopenie 0,5% e piastrinosi 0,6 %) non è risultato significativo ai fini della donazione. L'esame emocromocitometrico consente non solo, una valutazione più ampia dello stato di salute del donatore, ma una semplice anomalia dei parametri emometrici può fornire un generico e tempestivo inquadramento diagnostico già a livello della selezione del donatore, rappresentando così un importante strumento di prevenzione e/o diagnosi precoce a vantaggio non solo del donatore ma anche del ricevente. Esso da un lato permette di evitare la raccolta di unità che potrebbero risultare non idonee e quindi successivamente invalidate, e dall'altro di consentire il recupero della donazione dopo regressione dell'alterazione che il più delle volte è transitoria. Concludendo, possiamo affermare che, l'emocromo permette di salvaguardare la salute del donatore ma soprattutto di orientare verso la tipologia più efficiente ed efficace di lavorazione delle unità di sangue intero al fine di ottimizzare la qualità degli emocomponenti prodotti.

POSTER P18

MONITORAGGIO DEI CASI “ZONA GRIGIA” DURANTE LO SCREENING SIEROLOGICO

DI GIROLAMO MARIA GRAZIA¹, D'AMBROSIO ROSA¹, DANZI MARTINA¹, SAGLIANO S.I. CATERINA¹, DI BIASE ANTONIO¹, PERILLO MARIA¹, TATAVITTO GIUSEPPE², MISSO SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale - P.O. Aversa, ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. - Aversa, ASL Caserta

Introduzione:

Nonostante la disponibilità di sempre più efficaci tecnologie di screening sierologico e la sempre più attenta valutazione clinica ed anamnestica dei donatori, i dati riportati dalla letteratura scientifica degli ultimi anni indicano che il rischio di trasmissione di malattie ad eziologia virale mediante terapia trasfusionale si sia enormemente ridotto ma non sia del tutto scomparso.

Scopo di questo lavoro è stato di monitorare nel tempo i campioni risultati zona grigia positiva durante lo screening sierologico eseguito, come previsto dal D.L. 25/03/2005, su tutti i donatori di sangue.

Materiali e metodi:

Per lo screening sierologico dell'HCV, HBV e HIV viene utilizzato il sistema Architect i2000 (Abbott) con metodica in chemiluminiscenza. Vengono eseguiti quotidianamente controlli di qualità interni (Virotrol, Biorad) e VeQ. Secondo le indicazioni della ditta Abbott, sono da considerarsi reattivi i campioni con valori S/CO (campione/valore soglia) pari o superiori a 1. Il protocollo del nostro S.I.T. prevede l'introduzione di una zona grigia che comprenda i valori S/CO fra 0.8 e 1. I campioni risultati zona grigia positiva, vengono ripetuti con la stessa metodica per escludere qualsiasi errore legato allo strumento. I campioni zona grigia, dopo doppia ripetizione, sono stati valutati nel tempo, richiedendo al donatore un nuovo prelievo a distanza di 60 e 90 giorni.

Risultati:

La valutazione è stata condotta su 30 campioni zona grigia su un totale di 12.249 esaminati (0.24%), di cui 1 donatore (0.03%) periodici e 29 (0.97 %) occasionali afferiti al nostro S.I.T nell'anno 2012.

	S/CO < 0.8 tempo 0	S/CO <0.8 60 giorni	S/CO <0.8 90 giorni
HCV	11	9	9
HIV	9	9	9
HBV	10	10	10

Discussione e Conclusioni:

Si nota dalla tabella che solo due casi di HCV sono risultati zona grigia durante il monitoraggio a 60 e 90 giorni. I restanti casi sono rimasti zona grigia con S/CO numericamente quasi identico alla prima determinazione. L'obiettivo del protocollo adottato è quello di escludere che un valore S/CO tendenzialmente alto alla prima determinazione possa essere in relazione con un recente contatto del donatore con uno degli agenti infettivi valutati con lo screening sierologico. L'adozione di tale protocollo ci permette, in tal modo, di evitare o quantomeno ridurre eventi avversi (near miss errors), di natura infettivologica.

POSTER P19**SOTTOGRUPPO ERITROCITARIO ABO IN UN DONATORE DI SANGUE:
CASE REPORT**

PALOMBA ANIELLO*, SAVARESE EMILIA*, SABIA CHIARA**, GATTOLA EDUARDO*, PAGANO CINZIA*, AVINO VIRGINIA*, ALESIO ALESSANDRA*, ROMANO MARIA LIDIA*, SESSA FRANCESCO*

* S.I.M.T. OO.RR. Area Stabiese, ASL NA3SUD

**U.O.C. di Immunoematologia, Medicina Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti A.O.U. Seconda Università degli Studi di Napoli

Premessa. La presenza di una variante debole ABO può essere causa di discrepanza nella determinazione di gruppo e condurre ad un risultato falso positivo che porta ad un utilizzo non ottimale del sangue, mentre un risultato falso negativo può determinare la trasfusione di sangue incompatibile con le relative conseguenze nel ricevente. Accanto ai classici test sierologici, è attualmente possibile avere conferma dei test sierologici mediante tipizzazione in biologia molecolare.

Metodi. Abbiamo riscontrato una discrepanza nella determinazione di gruppo sanguigno di un donatore di sangue alla prima donazione afferente al nostro Centro, risultato di gruppo O al test diretto e di gruppo A al test indiretto.

I test sono stati eseguiti utilizzando le metodiche automatiche su micro colonna della ditta J&J – Ortho Clinical Diagnostics e su micro colonna della ditta BioRad. Per caratterizzare il sottogruppo abbiamo impiegato la tecnica di assorbimento/eluizione (AABB Technical Manual 15^a edizione). Per la conferma di sottogruppo debole e definizione del fenotipo ABO il è stata effettuata tipizzazione genomica PCR-SSP.

Risultati. Determinazione gruppo ABO Test Diretto (Emazie): O Rh positivo (Anti-A: neg, Anti-B: neg, Anti AB: neg, Anti-D: 4+, Anti A1: neg, Anti H: 3+)

Determinazione gruppo ABO Test Indiretto (Siero): A

(emazie testo A1: neg, emazie testo A2: neg, emazie testo B: 2+, cellule O: neg)

Il risultato del test indiretto non è variato dopo preincubazione a 4°C.

Test di Coombs Diretto: negativo

La sostanza gruppo specifica A sugli eritrociti è stata evidenziata mediante procedura di adsorbimento con siero anti A e cimentando l'eluato con due campioni di emazie O e due campioni di cellule con l'antigene pertinente; la soluzione finale di lavaggio, testata come controllo per le stesse emazie è risultata negativa.

Nel siero era presente un allo anticorpo eritrocitario di tipo naturale di classe IgM, con specificità anti A1.

La reattività depondeva per un sottogruppo debole di A, tuttavia per avere la conferma definitiva abbiamo inviato un campione ematico ad un laboratorio di riferimento (Sezione di Tipizzazione Tissutale e Biologia Molecolare dell'U.O.C. Immunoematologia e Medicina Trasfusionale del Policlinico di Roma Umberto I) che mediante reazione polimerasica a catena con primer sequenza-specifici (PCR-SSP) ha evidenziato il fenotipo Ael.

Conclusioni. Le attuali metodiche di tipizzazione automatizzate non sono al momento risolutive delle problematiche connesse al riscontro di una discrepanza di gruppo ABO per cui diventa indispensabile, oltre ad una buona conoscenza delle metodiche immunoematologiche classiche, ricorrere a metodiche in biologia molecolare che, nei casi non urgenti, permette una corretta interpretazione dei test sierologici.

POSTER P20

CORRELAZIONE TRA DIABETE MELLITO DI TIPO 1 E SISTEMA GRUPPO EMATICO ABO

DE CAPRIO GIANCARLO¹, DELL'AVERSANA MARIA ROSARIA¹, MUNNO EMILIA¹, TOMEO RITA, TATAVITTO GIUSEPPE², RECCIA PERALTA ROBERTO¹, MISSO SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale - P.O. Aversa, ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. - Aversa, ASL Caserta

Premessa. Il diabete mellito di tipo I è un disordine metabolico causato da una progressiva e selettiva distruzione, su base autoimmune, delle cellule β del pancreas endocrino in soggetti geneticamente predisposti. È stata dimostrata un'associazione globale altamente significativa di tale patologia con i gruppi sanguigni A e AB, particolarmente forte nei maschi rispetto alle donne (Sidhu LS., et al., Anthropol Anz 1988 Sep; 46(3): 269-75). Lo scopo del nostro studio è quello di verificare tale associazione in una coorte di giovani pazienti affetti da diabete mellito di tipo I.

Metodi: Sono stati selezionati 100 pazienti affetti da diabete mellito di tipo I di età compresa tra i 18 e 25 anni. Su campioni di sangue di tali soggetti è stato effettuato il gruppo sanguigno con metodica in micro colonna (Diamed-Bio-rad). Sono stati, inoltre, selezionati, 100 donatori di età compresa tra i 18 e 25 anni usati come controllo.

Risultati: vedi tabella

A	B	AB	Zero
30	24	9	37

Maschi		Femmine
54		46
Gruppi sanguigni	Pazienti	Controlli
A	30	27
B	24	22
AB	9	12
Zero	37	39

Conclusioni: Dai risultati ottenuti si evince che il gruppo sanguigno AB è il minor espresso tra i pazienti considerati, e non vi è una differenza statisticamente significativa tra i gruppi A,B,O. I nostri risultati, sebbene di numero esiguo, non mettono in luce una marcata associazione tra una determinata espressione di gruppo ABO e la patologia considerata. Per quanto riguarda il fattore Rh, invece, si evidenzia una correlazione tra fattore Rh positivo e diabete mellito di tipo I. I dati in letteratura a riguardo sono molto contrasti, infatti uno studio condotto da Rahman et al. su 2312 pazienti non mostra un'associazione tra il sistema ABO e diabete mellito, d'altro canto McConnel et al. dimostrano una correlazione tra la patologia ed il gruppo sanguigno A. A nostro parere riuscire a trovare una correlazione risulta molto difficile visto che la variabilità di gruppo ABO dipende in prima istanza dalle variabili fenotipiche nella popolazione considerata.

POSTER P21

CORRELAZIONE TRA PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI E GRUPPI SANGUIGNI

MUNNO EMILIA¹; DE CAPRIO GIANCARLO¹; TOMEO RITA¹; TATAVITTO GIUSEPPE²;
DELL'AVERSANA MARIA ROSARIA¹; BIANCARDIO MARIA CARMINA¹; VALIANTE ADRIANA¹;
MISSO SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale - P.O. Aversa, ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. - Aversa, ASL Caserta

Premessa: Nei Paesi occidentali, le malattie cardiovascolari sono la 1° causa di morte ed una delle principali cause di invalidità. Tra i principali fattori di rischio, un ruolo di primaria importanza lo giocano l'età, il sesso, il diabete, l'ipertensione arteriosa, l'ipercolesterolemia, il fumo e la predisposizione genetica. (*Heart Disease and Stroke Statistics-2009*) Tali patologie (coronaropatie) sono da associarsi inoltre ad alterazioni dei fattori della coagulazione, fibrinolisi e azione immunologiche di talune cellule ematiche (Chiba et al Mediators Inflamm.1/2013). In tal senso uno studio ha correlato il rischio di cardiopatia ischemica con il sistema gruppo ematico ABO Rh, Lewis e taluni fattori della coagulazione (J Lab Clin Med 1995 Mar;125(3):334-339). Scopo del nostro lavoro è stato valutare tale relazione tra i pazienti afferenti ai presidi ospedalieri dell'ASL Caserta.

Metodi: Sono stati selezionati, come dati preliminari, 100 pazienti (98 M, 2F) affetti da cardiopatia ischemica ai quali è stato eseguito:

- Sistema gruppo ematico ABO, Fattore Rh e fenotipo Lewis;
- Dosaggio Fattore VIII e fattore di Von Willebrand;

I nostri dati sono stati poi confrontati con altri fattori di rischio cardiovascolare.

Risultati: Vedi tabelle

Correlazione gruppo sanguigno, fattori della coagulazione	A (media±ds)		B (media±ds)		AB (media±ds)		O (media±ds)	
	F. VIII	vWF	F. VIII	vWF	F. VIII	vWF	F. VIII	vWF
e fenotipo Lewis								
Le(a-b-)	125.2±10%	160±20%	118.6±15%	132±15%	88±22%	112±10%	72±12%	130±18%
Le(a-b+)	102.2±15%	126±12%	99±10%	126±11%				
Le(a+b+)	85.4±20%	110±18%	101±14%	132±25%			68±8%	125±20%
Le(a+b-)	88.2±20.2%	120±8%			89±18%	115±20%		

Correlazione tra gruppo sanguigno, fattore Rh	A		B		AB		O	
	Rh+	Rh-	Rh+	Rh-	Rh+	Rh-	Rh+	Rh-
e fenotipo Lewis								
Le(a-b-)	24	2	21		1		4	
Le(a-b+)	12		6	3				
Le(a+b+)	6	3	7	1	2		4	1
Le(a+b-)	2							

Conclusioni: Dai nostri dati preliminari è emerso che sempre più gli uomini sono colpiti da patologie cardiovascolari. Il gruppo sanguigno più espresso nei pazienti analizzati è stato A Rh+. Gli uomini con i gruppi sanguigni A e B e fenotipo Le(a-b-), hanno evidenziato livelli significativamente più elevati di fattore VIII e del fattore di von Willebrand rispetto a quelli con altri fenotipi Le(a+b-) o Le(a-b+) e gruppi O e AB ($p<0.05$). I nostri dati rispecchiano quelli riscontrati in letteratura, e suggeriscono quindi che il fenotipo Le(a-b-) correlato ai gruppi sanguigni A e B, potrebbero considerarsi come marcatori di rischio per la malattia aterotrombotica. Sempre più frequentemente negli ultimi anni si associano alcune patologie ai gruppi sanguigni. Sicuramente ulteriori studi sono necessari per valutare quanto i fattori della coagulazione possano influire realmente sulle patologie cardiovascolari.

POSTER P22**CONTROLLI DI STERILITÀ DEGLI EMOCOMPONENTI**

TOMEIO RITA¹, DE CAPRIO GIANCARLO¹, MUNNO EMILIA¹, DELL'AVERSANA MARIA ROSARIA¹,
DI BIASE ANTONIO¹, TATAVITTO GIUSEPPE², RECCIA PERALTA ROBERTO¹, MISSE SAVERIO¹

¹S.C. Servizio Trasfusionale - P.O. Aversa, ASL Caserta

²Direzione Sanitaria P.O. - Aversa, ASL Caserta

Premessa: Il riconoscimento dei rischi immunologici ed infettivi che le trasfusioni di sangue allogenico comportano, ha dato origine in questi anni a numerose ricerche sull'adozione di strategie volte a renderle più sicure. Negli ultimi dieci anni sono stati fatti grandi sforzi al fine di ridurre il rischio di trasmissioni virali introducendo criteri sempre più rigidi di selezione dei candidati donatori di sangue e mettendo a punto test sierologici molto sensibili in grado di evidenziare, nel sangue del donatore, la presenza di agenti virali a distanza di pochi giorni dall'eventuale contagio. Per contro, ancora poco si sta facendo, a nostro avviso, per quanto riguarda la contaminazione batterica, la quale provoca un numero di morti maggiore rispetto alle infezioni da HIV, HBV ed HCV (Contreras, 2003), le reazioni da sepsi batterica sono la terza causa di mortalità da trasfusione secondo i dati FDA 2001-2003. Per la prevenzione di tali contaminazioni devono essere eseguiti dei controlli di qualità, che comprendono controlli random di sterilità. Nel nostro lavoro particolare interesse è stato rivolto proprio a questi ultimi, eseguendo controlli a campione di emazie concentrate e piastrine da pool di buffy coat (B.C.) e confrontando il risultato di campioni per emocolture raccolti sia al primo giorno di conservazione che al giorno di scadenza.

Metodi: Sono state analizzate 48 donazioni nel periodo compreso tra gennaio e dicembre 2012. La procedura di disinfezione cutanea è stata eseguita utilizzando lo iodopovidone e poi le sacche raccolte sono state avviate al frazionamento secondo le procedure standard in uso nel nostro SIT. Sulle unità di emazie concentrate e di piastrine da B.C. prodotte sono stati eseguiti i prelievi per l'emocoltura, utilizzando il sistema BD BACTEC della serie fluorescente per la ricerca di batteri aerobi, anaerobi e per i miceti. I campioni sono stati prelevati in doppio e conservati a 37°C e a temperatura ambiente per 5 giorni nel caso delle piastrine da B.C. e a 37°C e a 4°C per 40 giorni nel caso delle emazie concentrate, in questo modo sono state riprodotte sia le normali modalità di conservazione degli emocomponenti, sia condizioni di crescita a temperatura corporea.

Risultati: Sia le emazie concentrate che le piastrine da B.C. analizzati sono risultati sterili durante tutta la loro fase di conservazione.

Conclusioni: In Italia, il controllo delle contaminazioni microbiche è regolato sin dal 1967 con la Legge n. 592 del 14/7/1967. Successivamente altre leggi sono state emanate circa i controlli di qualità degli emocomponenti e precisamente la Direttiva 2005/62/CE del 30/9/2005 della Commissione Europea ed il D.L. n. 208 del 9/11/2007. Diventa imperativo assegnare gli emocomponenti secondo elevati standard di qualità, di sicurezza e di appropriatezza clinica, basata sull'evidenza scientifica. In linea con quanto decretato, è stato creato un protocollo interno sul controllo di qualità degli emocomponenti, la cui corretta e minuziosa esecuzione, ha permesso di confermare e validare lo stato di sterilità dei nostri prodotti. Una non completa e corretta esecuzione della procedura può compromettere la qualità del sangue raccolto, causando delle contaminazioni batteriche che aumentano il rischio di reazioni avverse nel paziente trasfuso.

POSTER P23

ISOLAMENTO DI CORYNEBACTERIUM UREALYTICUM NELLE INFEZIONI DEL TRATTO URINARIO: L'ESPERIENZA DEL LABORATORIO DELL'OSPEDALE DI CASTIGLIONE DEL LAGOIRENE CARDINALI, GIGLIOLA VENDITTI* E STEFANO ROSSI***Laboratorio Analisi Ospedale 'S.Agostino' Castiglione del Lago, ASL1 Umbria*

Il *Corynebacterium urealyticum* (CU) è un bacillo aerobio Gram positivo, lipofilo, abituale commensale della cute e delle mucose umane ed animali. Studi recenti riportano che è possibile isolare tale microrganismo nel 30% dei pazienti ospedalizzati soggetti a terapie antibatteriche ad ampio spettro; è noto inoltre che il CU può essere l'agente eziologico di diverse infezioni del tratto urinario (cistiti acute, pielonefriti, cistiti crostose e pieliti crostose), conseguenti a cateterizzazione vescicale ed uretrale prolungata. La caratteristica attività ureasica del CU, determina l'alcalinizzazione e ammonizzazione delle urine con conseguente formazione di precipitati di struvite ed apatite nella mucosa vescicale. Terapie immunosoppressive o antibiotiche ad ampio spettro, procedure endoscopiche urologiche, disfunzioni della vescica, rappresenterebbero i fattori predisponenti il transito del CU dalla cute al tratto urinario, lì dove il microrganismo può dare origine a diverse forme di infezione. Un aspetto di notevole interesse è la caratteristica antibiotico resistenza del CU: fin dalla sua definizione è stato possibile verificare una resistenza multipla alle principali classi di antibiotici, sebbene variabile per talune di esse.

Il presente studio ha lo scopo di riportare i dati relativi all'isolamento e all'antibiotico-resistenza del CU in pazienti che si sono rivolti al nostro Laboratorio per accertamenti diagnostici e nei quali è stato possibile individuare lo stesso quale possibile causa di un processo infettivo urinario. Sono stati analizzati i dati relativi ad isolati raccolti nel nostro Laboratorio fra il 1998 ed il 2005, per un totale di 15 campioni urinari. Si trattava di pazienti di età compresa tra i 62 ed i 96 anni, portatori di catetere a permanenza che presentavano forti dolori alla minzione ed ematuria.

L'urinocoltura era preceduta da un esame chimico-fisico e microscopico del sedimento; l'esame colturale veniva effettuato su due piastre, una con un terreno cromogeno ed un'altra di agar sangue (AS) di montone (AS columbia o AS columbia CNA). Le colture venivano incubate a 37°C per 24-48h. L'identificazione di CU veniva effettuata, previa valutazione delle morfologia delle colonie cresciute dopo 48 ore su AS, dalla risposta al test della catalasi (positiva) e dell'ossidasi (negativa), dalla produzione di ureasi e dalla reazione positiva dei nitrati (eseguite con la galleria API 20 E o con la galleria API Coryne - BioMerieux). La determinazione della sensibilità in vitro agli antimicrobici è stata effettuata con il sistema di diffusione in agar, utilizzando Muller-Hinton addizionato al 5% di sangue defibrinato di montone, incubato per 24-48 ore a 37°C. Sono stati testati i seguenti antibiotici: penicilline, cefalosporine, chinoloni, aminoglicosidi, eritromicina, rifampicina, tetraciclina, teicoplanina, nitrofurantoina e clindamicina. L'interpretazione degli aloni di inibizione è stata effettuata sulla base dei criteri di interpretazione dell'NCCLS.

Il riconoscimento dell'importanza del CU quale agente eziologico nelle infezioni del basso e alto tratto urinario è relativamente recente: spesso infatti esso è stato considerato un contaminante, in quanto normale commensale della flora microbica umana; inoltre le procedure routinarie dell'urinocoltura, raramente prevedono tempi di incubazione abbastanza lunghi (48-72 ore) e l'uso di terreni al sangue, così che l'isolamento può risultare difficoltoso. Tuttavia studi recenti e la nostra stessa esperienza dimostrano che in presenza della descritta sintomatologia e dei suddetti fattori di rischio il possibile coinvolgimento del CU deve essere ipotizzato e verificabile mediante le procedure operative adottate. Per quanto concerne la terapia antibiotica, ad oggi i glicopeptidi rappresentano sicuramente l'approccio farmacologico di maggior utilizzo; nei casi in cui sono associate lesioni crostose, il successo nell'eliminazione dell'infezione può anche richiedere l'intervento chirurgico.

1. Coyle M.B., Lipsky B.A. *Coryneformbacteria in infectiuos diseases: clinical and laborator aspects. Clin. Microbial. Rev.* 3, 227-246, 1990.

2. Perciaccante A., Pompeo M.E., Fabi F., Venditti M., *Succesful treatment of Corynebacterium urealyticum encrusted cystitis: a case report and literature review. Le Infezioni in Medicina* 1, 56-58, 2007.

3. Soriano F. and Tauch A. *microbiological and clinical features of Corynebacterium urealyticum: urinary tract stones and genomics as the Rosetta Stone. Clin. Microbiol. Infect* 14, 632-643, 2008.

POSTER P24**FREQUENZA DELLE PRINCIPALI MUTAZIONI DEL GENE HFE IN 100 SOGGETTI NELL'AGRO NOCERINO-SARNESE**

PATRIZIA OLIVIERI, GIOVANNI GRANDE, MADDALENA CALABRESE, CARMELA MASTELLONE, CONCETTA LANGELLA, ADELE TAFURI, ROBERTA TORTORA, GABRIELLA PACIFICO, MARCELLO INGENITO

U.O.C. Patologia Clinica: U.O.S. Lab. Genetica Molecolare e Citogenetica – D.E.A. Nocera-Pagani A.S.L. Salerno

Introduzione:

L'emocromatosi ereditaria è una patologia dovuta all'alterazione di geni che codificano per proteine coinvolte nel metabolismo del ferro, con conseguente suo accumulo nel parenchima di vari organi bersaglio. Il database OMIM classifica l'emocromatosi ereditaria in 4 tipi. Il tipo 1 è la forma più comune, con una prevalenza di 1/200-1/1000 casi nella popolazione caucasica. La malattia è autosomica recessiva, con bassa penetranza ed espressività variabile. Il gene HFE, localizzato in 6p21.3, codifica per una proteina di 348 aminoacidi che interagisce col recettore della transferrina. Le mutazioni missenso più frequenti sono la C282Y, la H63D, più rara la S65C. L'eccesso di ferro viscerale è collegato all'ipoepcidinemia, che determina un aumento della saturazione del ferro sierico e della transferrina attraverso l'assorbimento del ferro intestinale e il suo aumentato rilascio dalla milza. Gli esami di primo livello sono quelli biochimici: saturazione della transferrina, con cut-off 45% sia per i maschi che per le femmine; la ferritina sierica, con valori patologici superiori a 200mcg/L nelle donne e 300mcg/L negli uomini. Il secondo livello di indagine prevede l'analisi molecolare del gene HFE.

Materiali e metodi:

L'indagine molecolare è stata eseguita su 100 soggetti (66 maschi e 34 femmine) indirizzati allo studio presso il laboratorio di genetica dell'ASL SA. I pazienti sono stati suddivisi in base al sesso, all'età di comparsa dei sintomi e alle indicazioni cliniche. Il prelievo di sangue è stato effettuato in EDTA. Il DNA estratto è stato amplificato con primer biotinilati specifici per gli esoni contenenti le mutazioni da ricercare attraverso Multiplex PCR. Gli amplificati sono stati ibridati su striscie di nitrocellulosa su cui sono adesi ASO-probe.

Risultati:

I risultati hanno confermato i dati della letteratura sulla variabilità della frequenza di C282Y in popolazioni di aree geografiche differenti. La frequenza allelica infatti decresce dal nord al sud Europa. La mutazione C282Y, allo stato eterozigote, è stata riscontrata in un solo soggetto di sesso maschile dell'età di 64 anni inviato allo studio molecolare per iperferritinemia. Non sono stati individuati omozigoti per la stessa mutazione. Gli eterozigoti H63D hanno presentato una frequenza doppia rispetto agli omozigoti per la medesima mutazione. L'indicazione biochimica al test molecolare di questi soggetti è stata l'iperferritinemia, accompagnata in alcuni casi da epatopatia, quale cirrosi e/o epatite C. La mutazione allo stato eterozigote S65C si è riscontrata in un solo soggetto di sesso maschile di 55 anni, con quadro biochimico indicativo di sovraccarico di ferro. Lo screening genetico esteso ai consanguinei dei soggetti con mutazioni ha permesso la diagnosi precoce presintomatica di emocromatosi ereditaria in alcuni di essi.

Conclusioni:

La diagnosi precoce di emocromatosi ereditaria permette di ridurre i danni da sovraccarico di ferro quali cirrosi, carcinoma epatico, diabete, cardiomiopatie. Inoltre gli individui con emocromatosi e cirrosi possono essere indirizzati a screening preventivi di carcinoma epatocellulare. L'indagine molecolare nei consanguinei di primo grado dei soggetti con mutazioni di HFE, permette la diagnosi nella fase presintomatica della malattia.

POSTER P25**ANALISI GENETICA DI 104 COPPIE DESTINATE A PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA**

ROBERTA TORTORA, GIOVANNI GRANDE, GABRIELLA PACIFICO, PATRIZIA OLIVIERI, MADDALENA CALABRESE, CARMELA MASTELLONE, ADELE TAFURI, GIOVANNI PELLEGRINO, MARCELLO INGENITO

U.O.C. Patologia Clinica: U.O.S. Genetica Molecolare e Citogenetica – D.E.A. Nocera-Pagani A.S.L. Salerno

Introduzione

Si ritiene che l'infertilità, intesa sia come subfertilità sia come sterilità, riguardi circa il 15% delle coppie in età riproduttiva. Per questo, si ricorre sempre più alla fecondazione assistita (PMA). L'iter diagnostico, finalizzato allo studio delle cause dell'infertilità o alla preparazione per PMA, esige l'esecuzione di alcuni test genetici di coppia e di genere. Il cariotipo è un esame consigliato a entrambi i membri della coppia perché, talvolta, l'infertilità è causata da anomalie cromosomiche strutturali, asintomatiche nel genitore, ma capaci di creare sbilanciamenti nel genotipo del feto, tali da renderlo incompatibile con la vita. L'infertilità maschile è spesso indagata attraverso il test delle microdelezioni del cromosoma Y, dove è localizzata una regione che controlla la spermatogenesi, e la ricerca di mutazioni del gene CFTR, visto che i maschi portatori di Fibrosi Cistica possono essere infertili a causa di alcune varianti del gene (R117H, N1303K, G551D e il polimorfismo 5T), che provocano un blocco nel trasporto di spermatozoi dai testicoli o dalle strutture epididimali, con conseguente ostruzione dei deferenti per agenesia bilaterale congenita (CBAVD). Per l'infertilità femminile, in caso di anamnesi familiare positiva o episodi di MTEV, si consiglia l'esame genetico per trombofilia: le donne suscettibili sono a rischio di aborto per il possibile instaurarsi di trombosi placentari, causate da uno sbilanciamento dell'equilibrio emostatico dovuto a varianti polimorfiche dei geni FV, FII e MTHFR. Il Fattore V e la Protrombina codificano per fattori della coagulazione che, se colpiti da alcune mutazioni, diventano più "attivi" e possono aumentare significativamente il rischio trombotico. Metilene-tetraidrofollato-reduttasi è un enzima che serve allo smaltimento dell'omocisteina che, se accumulata sui letti vasali, può innescare meccanismi di coagulazione patologici.

Materiali e Metodi

Presentiamo la nostra casistica dal 2010 a oggi. Abbiamo analizzato 104 coppie per screening preconcezionale di fecondazione assistita (208 soggetti) ed effettuato a entrambi i membri della coppia l'analisi del cariotipo da linfociti periferici, con bandeggio G. Tramite tecniche di biologia molecolare, siamo andati a isolare il DNA dei pazienti da sangue periferico e l'abbiamo analizzato a seconda delle varie richieste specialistiche pervenute: mutazioni del gene CFTR, microdelezioni del chr Y e polimorfismi predisponenti a trombofilia. Le tecniche utilizzate sono state la Real-Time PCR con sonde FRET, Reverse Dot Blot e elettroforesi su gel di agarosio.

Risultati e Conclusioni

L'analisi genetica delle coppie ha mostrato che il 5% dei probandi presenta anomalie del cariotipo; il 6% è portatore di una mutazione della fibrosi cistica; l'8% presentava il polimorfismo 5T del gene CFTR; l'1% ha una microdelezione del chr Y; il 18% ha un polimorfismo dei fattori della coagulazione e il 78% ha polimorfismo dell'MTHFR. Si può notare come le analisi effettuate abbiano evidenziato almeno un'anomalia in ciascuna coppia esaminata che o potrebbe spiegare l'infertilità e aiutare lo specialista a orientarsi sulla cura da prescrivere, oppure suggerire l'opportunità di effettuare un controllo prenatale, per la possibilità di essere trasmessa alla prole. Il test delle microdelezioni del chr Y, data la bassa percentuale di anomalie riscontrate, richiederebbe criteri più severi di ammissione. Tuttavia, questo studio avvalorava, sostanzialmente, l'adeguatezza dei controlli genetici prescritti dai medici preposti e la validità dei risultati ottenuti nel controllo preconcezionale.

POSTER P26

CROMOSOMOPATIE IN ETÀ PEDIATRICA: RISULTATI DELL'ANALISI CONDOTTA SU 300 SOGGETTI NELL'ASL SA

MADDALENA CALABRESE, GIOVANNI GRANDE, PATRIZIA OLIVIERI, CARMELA MASTELLONE,
CONCETTA LANGELLA, ADELE TAFURI, ROBERTA TORTORA, GABRIELLA PACIFICO,
MARCELLO INGENITO

*U.O.C. Patologia Clinica: U.O.S. Lab. Genetica Molecolare e Citogenetica – D.E.A.
Nocera-Pagani A.S.L. Salerno*

Introduzione

Le cromosomopatie sono alterazioni del numero o della struttura dei cromosomi, spesso associate a malformazioni più o meno gravi, a ritardo mentale e ritardo di crescita. La loro frequenza è di circa 1/100 nati vivi. Le anomalie di numero correlano con l'età materna e possono riguardare sia gli autosomi sia i cromosomi sessuali. In quest'ultimo caso, le conseguenze sullo sviluppo mentale e sulle malformazioni viscerali sono meno importanti. I riarrangiamenti strutturali, se sbilanciati, possono comportare perdita o acquisizione di materiale cromosomico ed essere responsabili di patologie. La gravità del quadro clinico associato ad una cromosomopatia è determinata dalla quantità di geni modificati.

Riportiamo i risultati dello studio citogenetico su 300 pazienti in età pediatrica svolto presso il Laboratorio di Citogenetica e Genetica Molecolare dell'ASL SA. Le motivazioni più frequenti di invio all'analisi del cariotipo, sono state rappresentate da dismorfismi facciali associati a ritardo mentale, presenza di genitali ambigui, ritardo di crescita.

Materiali e metodi

Il cariotipo è stato ottenuto da sangue periferico eparinato e incubato per 72 ore a 37°C in un terreno di crescita specifico per i linfociti T. Abbiamo ottenuto l'isolamento dei cromosomi a partire da colture cellulari, processate secondo metodiche standard, con successivo bandeggio GTG, indispensabile per l'individuazione delle bande cromosomiche al microscopio ottico. Nei casi di difficile risoluzione, attraverso la citogenetica convenzionale, è stata impiegata l'ibridazione in situ fluorescente (FISH).

Risultati

Tra i cariotipi aneuploidi da noi studiati, è prevalsa la trisomia libera del cromosoma 21, seguita dalle aneuploidie dei cromosomi sessuali e dai cromosomi marker sovranumerari. Le aberrazioni strutturali riscontrate con maggiore frequenza sono state le traslocazioni sbilanciate associate a quadri clinici importanti. I casi da inversioni o delezioni cromosomiche, correlate a quadri sindromici gravi, si sono presentati con frequenza minore.

Conclusioni

I nostri risultati sono sovrapponibili a quelli della letteratura, che individuano nelle cromosomopatie l'origine del 30-40% delle sindromi malformative. Si è confermato che la presenza del ritardo mentale isolato non giustifica anomalie cromosomiche se non sono associati altri segni clinici e che la gravità di un quadro sindromico dipende dall'entità dell'aberrazione cromosomica e dalla sua presenza in tutte le cellule di un organismo o solo in alcuni tessuti. L'individuazione dell'origine familiare di alcuni sbilanciamenti cromosomici ha permesso di valutare, nell'ambito della consulenza genetica, il rischio di ricorrenza.

POSTER P27**VARIANTE EMOGLOBINICA D OULED RABAH: CONSIDERAZIONI SULLA SUA IDENTIFICAZIONE**

¹MARTINETTO PAOLO, ²CAMUSSO ELISA, ³ROETTO ANTONELLA, ⁴ROGGERO SIMONA,
¹VIBERTI GIUSEPPINA

¹S.C.D.O. Patologia Clinica, ²Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica,
³S.C.D.U. Medicina Interna 2, ⁴S.C.D.U. Microcitemie e Pediatria, Azienda
Ospedaliera Universitaria San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)

Nei cinque anni di attività svolta in collaborazione con il Centro Regionale di Riferimento per le Microcitemie abbiamo osservato diversi difetti dell'emoglobina (varianti Hb e talassemie) di nuovo riscontro nella nostra popolazione. Ciò è sicuramente dovuto agli importanti flussi migratori da Europa dell'Est, Africa e Medio Oriente che negli ultimi 30 anni hanno interessato il nostro paese; tra queste una variante emoglobinica relativamente rara è risultata essere l'Hb D Ouled Rabah. Essa è stata descritta per la prima volta nel 1971 nella popolazione algerina proveniente dal massiccio montuoso dell'Aurès (parte orientale dell'Atlante Presahariano). Successivamente è stata riscontrata come molto frequente nella tribù nomade dei Kell Kummer Tuareg del Mali ed è stata utilizzata in studi genetici anche come markers antropologico di quella popolazione. L'Hb D Ouled Rabah è determinata da una mutazione C->A al nucleotide 110 (corrispondente alla sostituzione Asn -> Lys) del codone 19 del gene Beta e si presenta come una variante emoglobinica D con normale stabilità e clinicamente asintomatica in eterozigosi. Assume invece valenza clinica in omozigosi o in associazione ad HbS. Non vi sono anomalie significative all'esame emocromocitometrico né all'esame clinico dei soggetti eterozigoti.

Abbiamo valutato il comportamento di questa emoglobina sullo strumento HPLC da noi utilizzato (TOSOH G7) confrontandolo con quanto riportato in letteratura per le altre metodiche di laboratorio di primo livello delle varianti emoglobiniche correntemente utilizzate.

In particolare:

- in Elettroforesi a pH alcalino (8.4-8.6) in acetato di cellulosa la mobilità è simile all'Hb S.
- in Elettroforesi a pH acido (6.0-6.2) su gel di agarosio migra nella zona della Hb A0
- in Isoelettrofocusing migra nella zona della Hb S.
- in Elettroforesi Capillare si situa nella zona delle emoglobine D.
- in HPLC sullo strumento Biorad Variant e Variant II migra insieme alla Hb A2 (a 3.62-3.64); per la separazione tra le due emoglobine è necessario eseguire l'Elettroforesi a pH alcalino.

Sullo strumento HPLC TOSOH l'Hb D Ouled Rabah migra a 5.10 – 5.16 separata dalla Hb A2 (che migra intorno a 4.20) con percentuali che variano nei soggetti eterozigoti da 36 a 40% e con una morfologia di picco abbastanza caratteristica e differente rispetto a quella delle varianti di più frequente riscontro in quella zona del tracciato.

Dal 2009 abbiamo identificato 8 pazienti che presentavano un emocromo di norma ed un tracciato suggestivo per la variante Hb D Ouled Rabah, poi confermata dalla tipizzazione in biologia molecolare. Tutti i casi erano provenienti dal Marocco.

POSTER P28

REVISIONE DELLA CASISTICA DEGLI ESAMI EMOCITOMETRICI ESEGUITI NEL BIENNIO 2011-2012

ANGELA PELLICCETTI, VITTORIA PIACENTE, PAOLA DULACCHI, LUCA CERULLO,
ALESSANDRA DI TULLIO

U.O.C. Patologia Clinica P.T.P. Nuovo Regina Margherita, ASL RMA – Roma

Scopo del lavoro: l'intento è stato quello di stabilire, su una casistica quotidiana di circa 500 emocromi al giorno (oltre 220.000 in due anni), quante ripetizioni sono state necessarie per conferma strumentale, e quante revisioni microscopiche indispensabili per una prima diagnosi o per controlli di follow up in pazienti oncoematologici, con importanti deviazioni dai risultati di precedenti esami. Questo per valutare le performances della tecnologia di diagnostica ematologica da noi attualmente utilizzata, DXH 800 Beckman Coulter.

Materiali e metodi: con il supporto dei nostri sistemi informatici, abbiamo valutato quanti campioni siano stati validati direttamente e quanti con “nota” o “commento”; si è calcolata la percentuale di revisioni microscopiche decise in base ad una griglia da noi stabilita, e quante di queste revisioni microscopiche abbiano realmente contribuito al processo diagnostico.

Risultati: la nostra routine è formata, per una parte, di campioni ematologici di pazienti “interni”, dai DH od ambulatori specialistici, preospedalizzazioni chirurgiche, di pazienti in RSA o in Hospice, e dializzati, e per il resto da campioni provenienti dall'ampio territorio della ASL RMA, che conta 16 centri prelievo e l'Ospedale specialistico George Eastman. Per la complessità della casistica, è fondamentale una corretta interpretazione dei dati e degli allarmi strumentali degli strumenti ematologici, una contestualizzazione del dato ematologico rispetto allo storico dei pazienti ed ai risultati di altre analisi ematochimiche, immunologiche e virologiche. Questo ci ha consentito la revisione microscopica di campioni con una reale significatività diagnostica (leucosi acute, croniche, malattie linfoproliferative e mielodisplasie, e rari casi di parassitosi ematologiche).

Conclusioni: con una organizzazione ed un metodo di lavoro ben strutturati, ed un faticoso lavoro d'équipe, è possibile revisionare al meglio i risultati di emocromi patologici, potendo così fornire in tempo reale al medico curante informazioni per un immediato utilizzo clinico-terapeutico.

POSTER P29**HLA, TYPE 1 DIABETES AND CELIAC DISEASE**

PATRIZIA IARDINO, ANGELA PELLICANO, AND VINCENZO FORMICOLA*

*UOC Clinical and Molecular Pathology, Second University of Naples
Eurospital Trieste, Diagnostics Division

Type 1 diabetes (T1D, IDDM) and celiac disease (CD) are both immunologic disorders where specific HLA alleles are associated with disease risk. The mechanism of association of these two diseases involves a shared genetic background. The class II haplotypes: DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01 and DRB1*04:01-DQA1*03-DQB1*03:02 are strongly associated with type 1 diabetes, and the homozygosity of DRB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01 with celiac disease.

Objective of this study is to examine the use of HLA typing for evaluating the association between type 1 diabetes and celiac disease.

Method: we analyzed 67 pediatric subjects (21 with diagnosis of celiac disease, 24 with diagnosis of type 1 diabetes and 22 healthy control children). All were screened by PCR and PCR-RT for specific HLA typing (Eu-Gen Risk for celiac disease and DiabeGen for type 1 diabetes, Eurospital, I).

Preliminary results: HLA DR4 and DR3 are strongly associated with type 1 diabetes while about

90% (22/24) of individuals with type 1 diabetes have either DQ2 or DQ8, compared to 37% of the healthy controls. Finally, 40% of patients (9/22) are heterozygote DR3-DQ2/DR4-DQ8. These results well correlate with data reported in Literature. In addition, the presence of the dominant protection from T1D (haplotype DQA1*01-DQB1*06:02) was observed only in two celiac patients.

Discussion: the HLA-DQ (particularly DQ 2 and DQ8) locus has been found to be the most important determinant of type 1 diabetes susceptibility. Celiac Disease occurs in patients with the prevalence of about 10% versus 1% of the general population. The classical severe presentation of coeliac disease rarely occurs in T1D patients, many patients are asymptomatic for celiac disease. The DR3-DQ2/DR4-DQ8 heterozygote genotype confers the highest diabetes risk, followed by DR4 and DR3 homozygosity, respectively, while homozygosity DR3-DQ2 confers the highest risk of celiac disease. In conclusion, HLA genotyping could help the clinicians in the evaluations of risk of both the autoimmune diseases investigated.

INDICE ALFABETICO DEGLI AUTORI

	Pag.		Pag.
ALESIO A.....P19	59	DE CAPRIO G P20	60
AMANTONICO B.....P4	44	P21	61
AMMIRABILE M.....C4	36	P22	62
AVINO V.....P19	59	DE CRISTOFANO L P2	42
BASILE A C2	34	P10	50
P10	50	P11	51
P11	51	DE CRISTOFANO P P2	42
BASSI V.....C2	34	DE GAETANO R P10	50
BIANGARDO MC P14	54	DE GENNARO C. V.....P13	53
P21	61	DE MICHELI G P4	44
BUONO L P2	42	DELL' AVERSANA MR P20	60
CALABRESE M.....P24	64	P21	61
P25	65	P22	62
P26	66	DI BIASE A.....P15	55
CALIENDO G.....P1	41	P16	56
CAMUSSO E.....P27	67	P18	58
CANTELLI N.....P14	54	P22	62
CAPONI L.....C3	35	DI DOMENICO G.....P9	49
CARAMANNA E.....C2	34	DI GIROLAMO MG.....P15	55
P10	50	P16	56
P11	51	P17	57
CARBONE A P4	44	P18	58
CARDINALI I P23	63	DI LEMMA GG P14	54
CASSANO A C6	38	DI MATOLA T.....C4	36
CERAGIOLI S.....C3	35	DI TULLIO A C1	33
CERULLO L P28	68	P28	68
CERVONE N P1	41	DONCIGLIO G.....P14	54
CINQUE P C4	36	DOZIO E P5	45
CIOFFI M P1	41	P6	46
CORSI ROMANELLI MM P5	45	DULACCHI P P28	68
P6	46	EMDIN M.....C3	35
CORTESE V.....P2	42	FAGGIOLI P C5	37
CORVINO GM P14	54	FATTORUSO O C2	34
P17	57	P10	50
COSTANTINI S C4	36	P11	51
COVINI N.....C5	37	FERRARI M.....C3	35
CRAIG F C6	38	FERRARIO P P13	53
D'AMBROSIO R.....P15	55	FILOSA A.....C4	36
P16	56	FINAZZI S C5	37
P17	57	FORMICOLA V.....P29	69
P18	58	FRANZINI M C3	35
D'AMICO C.....P4	44	FUMARULO R C6	38
D'ELIA G P1	41	P7	47
DANZI M P15	55	GAMBARDELLA AL.....P1	41
P16	56	GATTOLA E P19	59
P17	57	GELSOMINO A.....P4	44
P18	58	GLORIA R P15	55

INDICE ALFABETICO DEGLI AUTORI

	Pag.		Pag.
GRANDE G	P24 64	MONTEFORTE A	C2 34
	P25 65		P2 42
	P26 66		P10 50
GRIFFO E	P16 56		P11 51
GUASTAFIERRO M	P1 41	MUNNO E.....	P20 60
IARDINO P.....	P29 69		P21 61
IMPERA R	C1 33		P22 62
INGENITO M.....	P24 64	NOCERA C.....	P9 49
	P25 65	OLIVIERI P	P24 64
	P26 66		P25 65
IRACE R	P2 42		P26 66
LA ROCCA S	P3 43	OZZOLA G	C7 39
LAMANNA AL.....	C6 38		P8 48
LANGELLA C.....	P24 64	PACIFICO G	P24 64
	P26 66		P25 65
LAVANGA V	P13 53		P26 66
LEONARDI GM	P9 49	PAGANO C.....	P19 59
LEONARDI S.....	P10 50	PALOMBA A.....	C8 39
LOSPALLUTI M.....	P7 47		P19 59
LOTZNIKER M.....	C5 37	PAOLICCHI A	C3 35
LOZITO R	P7 47	PASCALE V.....	P13 53
LUCCHESI R	P11 51	PASCALE W.....	P13 53
MANCARELLA MR.....	P4 44	PATRONE F.....	C2 34
MARAZZI MG	P5 45		P10 50
.....	P6 46		P11 51
MARGARI L	C6 38	PEDUTO L.....	C8 40
MARIGGIO' MA	C6 38	PELLEGRINO G.....	P25 65
.....	P7 47	PELLICANO A.....	P29 69
MARTINETTO P.....	P27 67	PELLICCETTI A	P28 68
MASTELLONE C	P24 64	PELUSO M.....	C8 40
.....	P25 65	PERILLO M	P18 58
.....	P26 66	PETRILLI S	C1 33
MATTEUCCI M.....	C3 35	PIACENTE V	P28 68
MERICO F	P4 44	POLISTINA MT.....	C2 34
MICELI R.....	P2 42		P2 42
MICILLO A.....	P12 52		P10 50
MICILLO G	P12 52		P11 51
MISSO S.....	P14 54	PUCCI A	C3 35
.....	P15 55	RAFFAELE A	C8 40
.....	P16 56	RE G	C5 37
.....	P17 57	RECCIA PERALTA R.....	P20 60
.....	P18 58		P22 62
.....	P20 60	RICCHI P.....	C4 36
.....	P21 61	RIGHETTI MR	C2 34
.....	P22 62		P2 42
MONTAINI C.....	C7 39		P10 50
.....	P8 48		P11 51

INDICE ALFABETICO DEGLI AUTORI

	Pag.		Pag.
RISITANO N.....P10	50	P19	59
ROETTO A.....P27	67	SILVANO A.....C7	39
ROGGERO S.....P27	67	P8	48
ROMANO ML.....C8	40	SPASIANO A.....C4	36
.....P19	59	TAFURI A.....P24	64
ROSSI E.....C8	40	P25	65
ROSSI S.....P23	63	P26	66
ROTONDO L.....C2	34	TASSI V.....P4	44
.....P11	51	TATAVITTO G.....P14	54
RUSSO A.....P12	52	P15	55
RUSSO L.....C5	37	P16	56
SABIA C.....C8	40	P17	57
.....P19	59	P18	58
SAGLIANO SIC.....P15	55	P20	60
.....P16	56	P21	61
.....P17	57	P22	62
.....P18	58	TOMEIO R.....P20	60
SALCITO L.....P5	45	P21	61
.....P6	46	P22	62
SALERA P.....P3	43	TORTORA R.....P24	64
SANSONE M.....C2	34	P25	65
.....P2	42	P26	66
.....P10	50	VALIANTE A.....P21	61
.....P11	51	VENDITTI G.....P23	63
SANSONE MR.....C2	34	VERNA R.....C4	36
SANSONE V.....P13	53	VIANELLO E.....P5	45
SARGENTINI V.....C1	33	P6	46
SAVARESE E.....C8	40	VIBERTI G.....P27	67
.....P19	59	VIETRI MT.....P1	41
SCHIANO F.....C2	34	VINCENTI A.....C6	38
SERINO D.....C4	36	P7	47
SESSA F.....C8	40	VITILLO M.....P3	43

QUOTE ASSOCIATIVE AIPACMeM 2013

Soci Ordinari (Medici, Biologi, Chimici e Laureati in Farmacia)

€ 60,00 (di cui 2,50 per spedizione Rivista in abbonamento postale)

Soci Aderenti (Tecnici Sanitari di Laboratorio Biomedico)

€ 30,00 (di cui 2,50 per spedizione Rivista in abbonamento postale)

Soci Specializzandi e Non Strutturati

€ 30,00 (di cui 2,50 per spedizione Rivista in abbonamento postale)

Modalità di pagamento:

- **bollettino di c/c postale intestato ad:**

A.I.Pa.C.Me.M. - Via Luigi Ungarelli 23 - 00162 Roma - c/c n. 78632577

- **bonifico sul c/c intestato ad:**

A.I.Pa.C.Me.M. codice IBAN: IT90Q 05696 03201 000007920X17

