



REGIONE LIGURIA

LABINFORMA

ANNO II
Novembre - Dicembre 2006
n° 8



Periodico di informazione ed aggiornamento su tematiche di diagnostica di laboratorio redatto a cura della:

U.O. Complessa di LABORATORIO di ANALISI

CHIMICO CLINICHE E MICROBIOLOGICHE

Direttore : Dott. Ernesto Marco Scafidi

Azienda Ospedaliera "Santa Corona"
di Pietra Ligure (SV)

In questo ultimo numero del 2006 sono riportate alcune recenti considerazioni su analiti spesso utilizzati che però ritengo abbiano necessità di una maggior conoscenza “pratica” da parte del committente e che spesso possono indurre a devianze diagnostiche se non valutati correttamente.

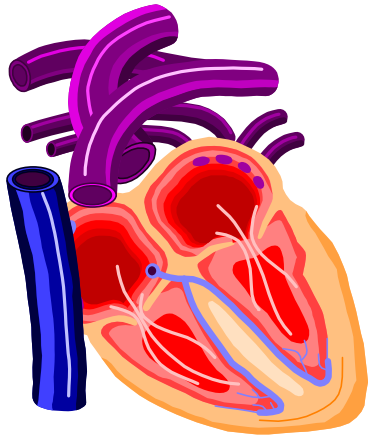
Indubbiamente le culture cliniche e le tendenze diagnostiche differiscono da continente a continente ma spesso la sovrastima o la sottostima di un parametro diagnostico clinico può arrecare più danno che l’omissione.

Molto spesso sentiamo dire che la nostra cultura preventiva di alcune malattie, come ad esempio di quelle cardiocircolatorie, soffre l’influsso anglosassone ed in special modo quello degli states; pur non volendo accettare in pieno questo assioma che verrebbe a sminuire molto quello che è l’apporto culturale italiano alla clinica, debbo riconoscere che spesso, in alcune nicchie della medicina pratica, si insinuano “mode” che, seppur condivise, non sempre sono seriamente conosciute.

A tale scopo presento questi tre elaborati che oltre aver il vantaggio della relativa giovinezza hanno indiscutibilmente il pregio della sintesi e della chiarezza.

Spero con ciò di far cosa gradita ai Colleghi ed a tutti coloro i quali, magari leggendo sulle più disparate riviste (anche quelle più versate al gossip) possono non aver correttamente interpretato alcune informazioni dei media.

Ernesto Marco Scafidi



OMOCISTEINA

EBM (evidence based medicine) sul dosaggio della omocisteina

L'omocisteina è un aminoacido solforato, prodotto intermedio della via metabolica della metionina.

La conversione dell'omocisteina a metionina (rimetilazione) o a cistina (trans-sulfurazione) rappresentano le principali vie metaboliche in grado di mantenere i livelli intracellulari di omocisteina entro uno stretto range.

Gli enzimi coinvolti nella rimetilazione sono la metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) e la metionina sintetasi (MAT).

Nel 1995 è stata identificata una mutazione puntiforme piuttosto frequente (frequenza allelica intorno allo 0.5 nella popolazione italiana) del gene della MTHFR (C677T) che in omozigosi porta alla sintesi di un enzima con attività termolabile e riduzione dell'attività catalitica della proteina base.

Nella maggior parte degli studi la iperomocisteinemia moderata a digiuno è associata ad un aumentato rischio trombotico.

Soggetti con la mutazione della MTHFR presentano un rischio per iperomocisteinemia di circa 7 volte, ma una metanalisi effettuata qualche anno fa (*L. Brattström, circulatio 1997; 96: 3805*) **NON** ha osservato una

associazione statisticamente significativa tra rischio trombofilico e la presenza di MTHFR mutata.

Anche una metanalisi più recente riguardante il rischio relativo per stroke ischemico (*Homocysteine, MTHFR 677C → T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis*. Kelly et al, Neurology 2002; Aug 27;59(4):529-36) conferma tale dato (OR = 1.23 (95% CI, 0.96 to 1.58; p=0.1)).

Le linee guida pubblicate sul British Journal of Haematology (2001. 114, 512-528) riguardanti la diagnosi e la gestione delle trombofilie ereditarie al capitolo della iperomocisteinemia riportano:

“Studi caso-controllo hanno dimostrato un aumentato rischio di trombosi venosa di circa 2-5 volte in soggetti con livelli di omocisteina superiore a 18.5 Umol/L [.....] L’analisi genetica non è raccomandata perché, sebbene la variante termolabile della MTHFR contribuisce alla iperomocisteinemia, essa non è di per sé associata al tromboembolismo venoso. Altre mutazioni sono rare.”

Allo stato attuale non ci sono evidenze certe di una correlazione fra mutazione del gene della MTHFR e rischio tromboembolico e per tali ragioni nel nostro laboratorio abbiamo deciso di dosare solamente la omocisteina e di non introdurre la ricerca delle mutazione MTHFR.

I fattori di rischio convenzionali per le malattie cardiovascolari comprendono fumo, l’ipercolesterolemia, l’ipertensione, il diabete, la familiarità.

Negli ultimi anni, una grande attenzione è stata data al ruolo dell’omocisteina, sia come marker di rischio per la patologia aterosclerotica e trombotica che come fattore patogenetico di danno vascolare

(E. L. Mayer et al. Homocysteine and coronary atherosclerosis J Am Coll Cardiol 1996;27:517-527; I. Graham Heart attacks and homocysteine BMJ, 1996 313: 1419-1420).

Numerosi studi retrospettivi e trasversali hanno individuato nell'iperomocisteinemia un fattore di rischio indipendente per la patologia aterosclerotica e trombotica a livello coronarico, cerebrale e periferico.

Gli studi prospettici sono ancora pochi, ma confermano queste osservazioni.

E' ormai accertato inoltre che il rischio di malattie aterotrombotiche aumenta gradualmente, con l'aumentare della concentrazione plasmatica di omocisteina.

L'omocisteina è un aminoacido solforato che deriva dal metabolismo della metionina, aminoacido essenziale introdotto con la dieta.

L'omocisteina può essere irreversibilmente degradata in cisteina dalla cistationina β -sintasi (che utilizza la vitamina B6 come cofattore) oppure riconvertita a metionina, processo richiedente diversi enzimi, oltre ad un'adeguata disponibilità di vitamina B12 e di acido folico.

L'equilibrio tra queste vie metaboliche mantiene la concentrazione di omocisteina nel plasma nell'ambito di 5-15 μ moli/L.

Diversi fattori, genetici e nutrizionali, possono interferire a vari livelli nel metabolismo della metionina e causare aumenti più o meno marcati dell'omocisteinemia.

Fra i difetti genetici vale la pena di ricordare, per quanto raro, il deficit di cistationina sintetasi che, allo stato omozigote, provoca la cosiddetta omocistinuria (per la presenza di omocisteina nelle urine),

una sindrome caratterizzata da alterazioni scheletriche, oculari, neurologiche ed inoltre da una rapida degenerazione aterosclerotica aggravata da episodi tromboembolici.

Esistono poi una serie di difetti genetici minori, relativamente più frequenti, che provocano solo aumenti moderati di omocisteinemia.

Comunque, la causa più comune di aumenti moderati di omocisteina nel plasma sembra essere una carenza dei nutrienti coinvolti nel metabolismo dell'aminoacido, particolarmente di folati e vitamina B12.

E' stato evidenziato infatti che i livelli plasmatici di folati e vitamina B12 sono correlati inversamente all'omocisteinemia ed inoltre si riscontra un aumento di omocisteina in soggetti con livelli di folati e vitamina B12 ai limiti bassi della norma.

Spesso, inoltre, deficit nutrizionali si associano a difetti genetici minori.

▪ **Meccanismo di danno**

Il meccanismo per cui l'omocisteina può essere aterogena non è ancora perfettamente chiarito.

Al momento ci sono diverse osservazioni sperimentali sulla capacità dell'omocisteina di modificare varie caratteristiche dell'epitelio vascolare, alterando le sue funzioni in senso protrombotico.

Oltre ad un'azione tossica diretta sulle cellule endoteliali, l'omocisteina stimola l'aggregazione piastrinica ed interferisce con il processo di fibrinolisi, riducendo l'attivazione della proteina C.

▪ **Diagnosi di iperomocisteinemia**

La concentrazione plasmatica di omocisteina viene misurata in condizioni basali, dopo un digiuno di 12 ore;

vengono considerati tre livelli di iperomocisteinemia:

- **moderata (16-30 $\mu\text{moli/L}$)**
- **intermedia (31-100 $\mu\text{moli/L}$)**
- **grave ($> 100 \mu\text{moli/L}$).**

Quando l'omocisteinemia raggiunge valori estremamente elevati (200 $\mu\text{moli/L}$) si ha omocistinuria, cioè escrezione di omocisteina nelle urine.

In alcuni soggetti l'omocisteina misurata in condizioni basali può essere normale, pur in presenza di difetti del suo metabolismo.

Queste situazioni possono essere rivelate misurando l'omocisteina dopo un carico orale di metionina (100 mg/kg peso corporeo): i livelli di omocisteina aumentano e vengono misurati dopo 2, 4, 6 o 8 ore dal carico.

Una risposta anomala al carico di metionina sembra indichi in particolare un difetto della via metabolica che coinvolge la vitamina B6.

▪ **Trattamento dell'iperomocisteinemia**

Il trattamento di una condizione di iperomocisteinemia si basa essenzialmente sulla correzione dei deficit nutrizionali.

E' stato osservato che una supplementazione dietetica di acido folico (1 mg/die) riduce i livelli plasmatici di omocisteina di circa il 30% in quasi tutti i soggetti, mentre l'effetto della vitamina B12 è modesto, tranne che nei casi di deficit conclamato.

Il trattamento con vitamina B6 sembra efficace nel normalizzare l'iperomocisteinemia post-carico.

▪ Conclusioni

La facilità di correzione dell'iperomocisteinemia apre un'interessante prospettiva nella prevenzione degli eventi cardiovascolari; diventa quindi necessario poter misurare l'omocisteinemia, particolarmente nei soggetti a rischio.



di prossima introduzione

NUOVO PARAMETRO DI INFEZIONE: PROCALCITONINA

*..... per il follow up
dell'inflammation
settica*

La **procalcitonina** (PCT) è una proteina costituita da 116 aminoacidi. La sequenza aminoacidica della PCT è identica a quella del pro-ormone della calcitonina.

Nell'individuo sano e normale, la calcitonina con attività ormonale è prodotta e secreta dalle cellule C della tiroide dopo specifica proteolisi intracellulare del pro-ormone.

Le concentrazioni plasmatiche del pro-ormone procalcitonina negli individui sani sono molto basse e comunque al di sotto dei limiti di determinazione dei test impiegato per il dosaggio della PCT (< 0.1 ng/ml).

In presenza invece di gravi infezioni batteriche, sono state riscontrate elevate concentrazioni plasmatiche di PCT senza che la concentrazione plasmatica della calcitonina cambiasse in modo significativo.

La PCT è una proteina molto stabile in vivo e in vitro: nel plasma non degrada ad ormone attivo calcitonina.

La sua emivita in vivo è di circa 25-30 ore.

La concentrazione plasmatica della PCT in presenza di gravi infezioni e di sepsi varia da 1 a 1000 ng/ml.

La PCT si pensa abbia origine dalle cellule neuro-endocrine del polmone o dell'intestino e non dalle cellule C della tiroide.

E' un parametro diagnostico per le infezioni batteriche e le endotossine batteriche giocano il ruolo più importante nel meccanismo di rilascio della PCT.

La quantità di PCT rilasciata e quindi l'aumento della concentrazione plasmatici è correlata all'estensione della risposta infiammatoria.

Elevati valori di procalcitonina si hanno nelle sepsi, MODS, ARDS di eziologia batterica, peritonite, meningite batterica e non virale soprattutto nei neonati, decorsi post-operatori, nelle infezioni batteriche e micotiche nei rigetti d'organo in fase acuta. La PCT non è soltanto marker per il monitoraggio delle sepsi ma anche un parametro per la valutazione della prognosi e dell'efficacia dello schema terapeutico attuato.

Le concentrazioni di PCT che si non abbassano rapidamente o che restano a livelli patologici spesso evidenziano la situazione critica del paziente e quindi l'esito fatale della malattia.

Per seguire il decorso di una infiammazione è necessario che la PCT venga misurata almeno una volta al giorno durante tutto il periodo della malattia.

All'aumento dei valori di PCT corrisponde l'aumento dell'attività infiammatoria, mentre alla diminuzione della PCT corrisponde

l'attenuazione della attività infiammatoria e cioè una prognosi favorevole.

La produzione di PCT però non è stimolata dalle infezioni virali, dalle patologie neoplastiche ed autoimmuni.

In questi casi è la proteina C reattiva (CRP) il classico marker dell'infiammazione come proteina che si manifesta nelle fasi acute. I valori aumentati di CRP possono restare elevati per diversi giorni oppure restare ai livelli patologici per più di una settimana dopo la fine dell' infiammazione o dopo il miglioramento della situazione clinica. La PCT invece ha un ampio range dinamico negli stati gravi di sepsi e i valori elevati si riportano rapidamente nel range di normalità dopo eliminazione del focus infettivo.

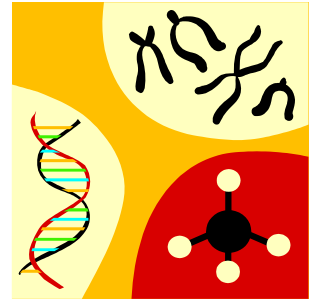
Quindi la PCT è un parametro che può dare una informazione addizionale sulla attività della infiammazione rispetto agli altri parametri classici soprattutto per i pazienti gravemente ammalati.

La procalcitonina è un parametro appropriato per il follow up dell'infiammazione settica e per la valutazione della prognosi e dell'efficacia dello schema terapeutico di ammalati critici. (g.r.)

N.B.

Come si avvertiva nella “testata” questa analisi sarà prossimamente disponibile anche presso il nostro laboratorio e sarà nostra cura darne ampia comunicazione, si può anticipare che sarà disponibile sia per il cliente interno che per quello esterno in regime di urgenza





FOCUS ON.....

GRAVIDANZA:

L'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS

Il Citomegalovirus (CMV) è un virus appartenente alla famiglia delle Herpesviridae, caratterizzato da un lungo ciclo replicativo, uno stretto spettro d'ospite e dalla capacità di indurre una latenza in differenti tipi cellulari (monociti, epitelio dei tubuli renali, epitelio delle ghiandole salivari etc.)

Il CMV è un'importante causa di morbilità e mortalità nei soggetti immunodepressi e causa di patologie fetali anche gravi se trasmesso in utero.

L'infezione congenita avviene per il passaggio del virus dalla madre al feto attraverso la placenta.

L'infezione da CMV è endemica ed ubiquitaria e non risente di variazioni stagionali. Dal 40 all'80% degli individui, nei paesi industrializzati, e la quasi totalità degli individui nei paesi in via di sviluppo, va incontro ad infezione da CMV che, di norma, evolve senza sintomi e si traduce in un'infezione latente.

Si ritiene che gli esseri umani siano l'unico serbatoio per il CMV umano: la trasmissione avviene per contagio diretto e più raramente indiretto.

Le fonti di infezione sono: secrezioni oro-faringee, cervico-vaginali, urina, sperma, latte materno, lacrime, feci e sangue.

A seguito della diffusione del vaccino per la rosolia, e della conseguente riduzione di tale infezione, il CMV è diventato la principale causa d'infezione congenita nei paesi sviluppati con un'incidenza compresa tra lo 0,3 ed il 2% di tutti i nati vivi.

In Italia l'incidenza è pari all'1,1%.

Dei neonati infettati congenitamente solo il 20-30% circa viene alla luce con sintomatologia evidente (tabella).

Il 70-80% invece non presenta sintomi alla nascita, ma il 10-15% di questi presenterà segni tardivi quali ritardo mentale, ipoacusia mono e bilaterale, corioretiniti, microcefalia, ecc.

Un certo numero di neonati variabile dall'1 al 15% acquisisce invece l'infezione durante la nascita o nel primo periodo della vita neonatale (infezione perinatale).

Negli adulti e specialmente fra le donne in età feconda l'infezione si trasmette oltre che per via sessuale anche per il contatto molto stretto e quotidiano con i bambini.

La maggior parte delle infezioni citomegaliche nelle donne gravide è asintomatica; talvolta può comparire febbricola, mialgia, adenomegalia e le analisi di laboratorio possono evidenziare la presenza di linfociti atipici e modesto rialzo delle transaminasi.

L'infezione congenita viene acquisita per via transplacentare (tramite i leucociti materni); il virus infetta la placenta e si replica in essa fino ad arrivare a contatto con il circolo fetale.

Dopo una prima fase viremica fetale il virus può invadere e replicarsi negli organi bersaglio (S.N.C., fegato, orecchio interno, midollo spinale ecc).

Il virus viene eliminato nel liquido amniotico con le urine fetali e quindi può essere nuovamente ingerito dal feto, replicarsi nell'epitelio oro-faringeo e disseminarsi per via ematica in modo ancora più esteso.

La trasmissione materno-fetale di CMV avviene con la stessa frequenza durante tutti e tre i trimestri di gravidanza.

Il rischio di prognosi fetto-natale più grave sembra essere legato ad un'infezione primaria contratta prima della 27a settimana di gravidanza.

Dati recenti suggeriscono che la trasmissione intrauterina del virus avvenga preferenzialmente durante le reinfezioni e non durante la riattivazione dello stipite virale latente.

Il 30% dei neonati infetti presenta sintomi alla nascita, la mortalità perinatale è del 30% e la maggior parte di quanti sopravvivono presenta importanti sequele neurologiche.

Alla nascita il bambino affetto presenta epatiti isolate o sindromi polivisceritiche caratterizzate da ittero severo, porpora trombocitopenica, epatosplenomegalia, polmonite ed encefalite.

Le anomalie strutturali riguardano principalmente il S.N.C. e spesso si accompagnano anche danni visivi ed uditivi.

▪ DIAGNOSI DI LABORATORIO

Data l'assenza o l'aspecificità delle manifestazioni cliniche nella gravida, le tecniche di laboratorio rappresentano un decisivo approccio diagnostico. I problemi diagnostici sono molto diversi a seconda che lo stato sierologico pre-gravidico nei confronti di CMV sia o meno conosciuto.

Nelle donne positive per CMV prima del concepimento il rischio di infezione fetale risulta essere meno dell'1% e, anche quando avvenga la trasmissione, il rischio di danno fetale risulta decisamente più basso rispetto a quello che viene riscontrato nelle donne con infezione primaria.

Frequenza di ritrovamento di segni clinici e di laboratorio in 106 neonati con infezione congenita sintomatica da CMV nella prima settimana di vita

RITROVAMENTI FREQUENZA (%)

TABELLA

a. Prematurità (<38 settimane)	34
b. Ritardo gestazione	50
c. Petecchie	76
d. Ittero	67
e. Epatosplenomegalia	60
f. Porpora	
g. Segni neurologici, uno o ambedue:	68
h. Ventricolomegalia	53
i. Letargia/ipotonia	27
j. Corioretinite	12
k. Transaminasi elevate	83
l. Trombocitopenia	53 – 77
m. Iperbilirubinemia	69
n. Aumentate proteine nel L.C.R.	46

Da Boppana S. et al. Pediatric Infect Dis J 1992; 11: 93 9

Le donne sieronegative prima del concepimento devono quindi essere istruite sul comportamento igienico da tenere come quello di evitare il contatto con qualunque materiale organico, con bambini in età prescolare ecc.

Esse devono inoltre controllare il loro stato sierologico mensilmente fino alla 18a settimana di gestazione.

In caso di sieroconversione viene posta diagnosi di infezione primaria.

Se la madre rimane sieronegativa fino alla 18a settimana è necessario invece un solo ultimo controllo intorno alla 34a-37a settimana.

Diversa è la condizione delle donne che non conoscono il loro stato sierologico pre-gravidico.

La ricerca delle IgM antiCMV si è dimostrata la procedura più appropriata di screenig.

Qualora vengano ritrovate IgM antiCMV nella donna gravida il problema diagnostico è ancora completamente aperto.

Le IgM sono infatti un buon indicatore di infezione in fase acuta o recente, ma non sono correlabili ad un'infezione primaria.

Infatti studi recenti indicano che meno del 10% delle donne IgM positive infetta congenitamente il feto/neonato.

Questo è dovuto al fatto che le IgM nelle gravide sono prodotte nel 100% dei casi di infezione primaria e nel 70% dei casi di riattivazione o reinfezione.

Esse talvolta possono permanere anche per alcuni mesi dopo l'esaurimento della fase acuta ed inoltre sono abbastanza frequenti casi di falsa positività.

Per questi motivi, ritrovare le IgM nel siero di una donna gravida rappresenta il punto di partenza per una valutazione diagnostica di 2° livello.

Il test di avidità delle IgG anti CMV sembra oggi la procedura diagnostica più affidabile per identificare un'infezione primaria nelle donne in gravidanza.

In più del 90% delle infezioni primarie, sia nei soggetti immunocompetenti che immunodepressi, le IgG sono a bassa avidità, mentre presentano avidità più alta nelle fasi più tardive.

Nei soggetti immunocompetenti l'uso dei test di viremia o di antigenemia per CMV non sembra molto soddisfacente a causa della breve fase viremica.

▪ **DIAGNOSI PRENATALE**

La diagnosi prenatale dovrebbe essere consigliata a tutte le donne che hanno contratto un'infezione primaria o indeterminata da CMV nella prima metà della gravidanza e a tutte quelle alle quali è stata accertata una fase viremica nello stesso periodo.

Nel 70% dei casi la diagnosi prenatale permetterà di escludere un'infezione fetale.

Nel restante 30% il risultato sarà positivo, ma solo in un terzo di essi si evidenzierà un alto numero di genomi virali, indice di alto rischio per il feto.

La diagnosi prenatale si propone di rilevare l'infezione in utero mediante il prelievo di liquido amniotico eseguito in 21a-22a settimana di gestazione poiché il feto infetto, dopo una prima fase viremica, elimina il virus con le urine nel liquido amniotico.

La scelta del periodo di gestazione per eseguire l'amniocentesi è condizionata sia dalla consistenza della diuresi fetale, sia dalla lentezza replicativa (6-9 settimane) di CMV, correlata alla maggiore compromissione fetale quando l'infezione materna avviene durante le prime 12-16 settimane di gestazione.

Il liquido amniotico (LA) viene sottoposto a ricerca diretta del virus mediante isolamento colturale e del genoma virale mediante P.C.R.

Recenti dati sull'analisi quantitativa del DNA virale nel LA hanno mostrato come elevati carichi virali possano identificare feti ad alto rischio di sviluppo di severe infezioni.

Essendo in grado di identificare le donne a rischio di trasmissione intrauterina di CMV è oggi proponibile la terapia con farmaci antivirali oltre all'impiego dell'immunoterapia passiva come trattamento alternativo o cumulativo ad essi.

I pochi studi condotti fino ad ora non consentono però ancora di trarre conclusioni definitive circa l'efficacia dell'immunoterapia.