

DOSAGGIO TURBIDIMETRICO DELLA PROCALCITONINA

F. Veneziani¹, F. Petrucci¹, C. Montanelli², P. Casprini²

¹ Laboratorio Analisi Ospedale S. Maria Nuova (SMN) – Firenze;

² Laboratorio Analisi Ospedale San Giovanni di Dio (SGD) - Firenze

SCOPO DELLO STUDIO: La sepsi è una condizione clinica frequente, gravata da elevata mortalità in caso d' insufficienza d'organo e shock settico. La sua incidenza è in aumento, parallelamente all'età media della popolazione e delle malattie croniche e per una maggiore invasività delle moderne procedure diagnostiche e terapeutiche.

Le Linee Guida Internazionali indicano interventi terapeutici da attuare nelle prime 3 e 6 ore dal riconoscimento di sepsi e shock settico. È importante dunque una diagnosi precoce per un inizio tempestivo della terapia antibiotica e fluidica in aderenza a quanto definito dalle Linee Guida della Surviving Sepsis Campaign. Un marcatore ideale di sepsi dovrebbe consentire diagnosi precoce, essere sensibile e specifico nel differenziare forme infettive e non infettive, dare informazioni cliniche su decorso e prognosi della malattia e guidare in modo attendibile la terapia antibiotica.

La Procalcitonina (PCT) è un marcatore diagnostico efficace d'infezione batterica, con livelli strettamente correlati alla gravità della reazione infiammatoria, decresce parallelamente alla risoluzione della malattia ed è utilizzata come biomarcatore di sepsi e shock settico, come guida per la terapia antibiotica ed è utile per porre diagnosi differenziale e nella stratificazione del rischio. PCT è una proteina funzionale formata da 114-116 aminoacidi ed è definito un modulatore immunitario con varie funzioni ed è immunologicamente attiva, inoltre è relativamente stabile nei campioni ematici, può essere determinata insieme ad altri dosaggi ematochimici ed essere trasportata al laboratorio nel modo abituale

Nell'ottica di implementazione del test PCT nei laboratori dell'Azienda Sanitaria Firenze Centro, per ottimizzare l'uso degli analizzatori in dotazione e ridurre i costi di esercizio, abbiamo confrontato la metodica con tecnica immunometrica Diazyme con il dosaggio in chemiluminescenza Brahms, ad oggi il metodo di riferimento.

MATERIALI e METODI: Il reattivo Diazyme® Procalcitonin Assay è un metodo immunoturbidimetrico ottimizzato al lattice, nel quale la PCT presente nella miscela di reazione si lega in modo specifico ad anticorpi monoclonali di ratto anti-PCT umana adesi a particelle di lattice producendo un'agglutinazione. Il reagente è formulato per essere utilizzato in laboratorio su apparecchiature automatizzate in grado di leggere letture ottiche in assorbanza a 600 nm che sono direttamente proporzionali alla concentrazione di PCT presente nel campione.

Sono stati dosati in parallelo 80 campioni di siero con metodo Diazyme PCT Assay applicato su analizzatore AU480, utilizzando il protocollo analitico validato per l'utilizzo sull'analizzatore Beckman Coulter nel laboratorio SMN e con metodo Brahms su analizzatore Elecsys di Roche nel laboratorio SGD.

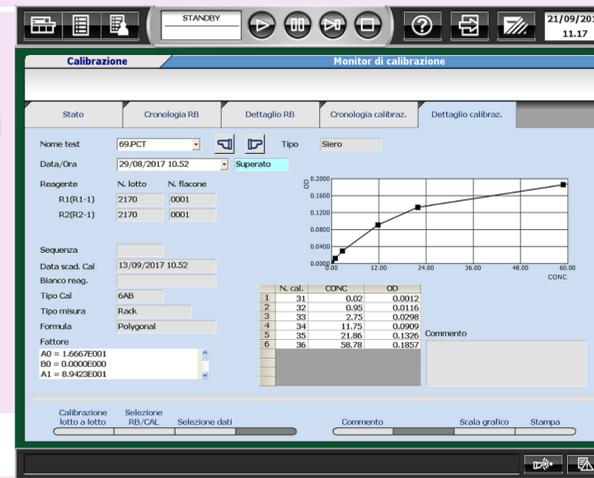


Figura 1 Calibrazione del metodo PCT Diazyme su AU480

RISULTATI: I risultati ottenuti con il metodo Diazyme sono compresi in un range tra 0.01 e 64.52 ng/mL. Il confronto con il metodo di riferimento Brahms mostra una buona correlazione ($R^2 = 0.9838$).

Le prove di precisione sono state eseguite a vari livelli di concentrazione: **Media** = 0.75 ng/mL **CV%** = 5.44; **Media** = 1.20 ng/mL **CV%** = 4.51; **Media** = 2.37 ng/mL **CV%** = 2.03; **Media** = 6.59 ng/mL **CV%** = 2.05; **Media** = 11.32 ng/mL **CV%** = 2.18.

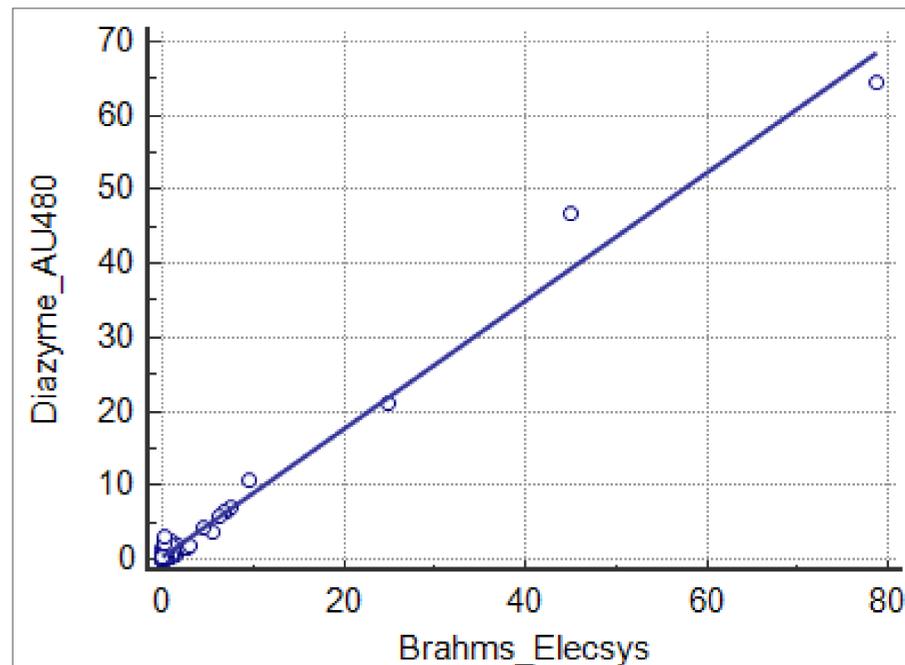
Correlazione tra i due metodi effettuata con MedCalc® versione 17,9,2

Figura 3 e 4
Correlazione tra metodo Brahms su Elecsys e metodo Diazyme su AU480

Figura 2
Dati di precisione metodo Diazyme

Precisione metodo Diazyme su AU480	
Media ng/ml	CV %
0,75	5,44
1,2	4,51
2,37	2,03
6,59	2,05
11,32	2,18

Dependent Y	Diazyme_AU480				
Independent X	Brahms_Elecsys				
Least squares regression					
Sample size	80				
Coefficient of determination R ²	0,9838				
Residual standard deviation	1,1671				
Regression Equation					
y = 0,2825 + 0,8680 x					
Parameter	Coefficient	Std. Error	95% CI	t	P
Intercept	0,2825	0,1353	0,01312 to 0,5518	2,0879	0,0401
Slope	0,8680	0,01261	0,8428 to 0,8931	68,8167	<0,0001
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square		
Regression	1	6450,3688	6450,3688		
Residual	78	106,2407	1,3621		
F-ratio					4735,7431
Significance level					P<0,0001
Residuals					
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	reject Normality (P<0,0001)				



DISCUSSIONE E CONCLUSIONI:

I dati ottenuti dal confronto tra i campioni ci dimostrano una buona correlazione tra i due differenti metodi analitici e ci consentono di implementare il test Diazyme Procalcitonin nei Laboratori Aziendali a Risposta Rapida. L'introduzione di questa metodologia alternativa ci permetterà di velocizzare i tempi di refertazione (il risultato su analizzatore AU480 è disponibile in circa 9 minuti dal carico della provetta sullo strumento), di consolidare il dosaggio sulla stessa provetta con ulteriori richieste di dosaggi di chimica clinica in urgenza, sia in fase diagnostica sia di monitoraggio della terapia antibiotica, e di ridurre i costi.

BIBLIOGRAFIA

1. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohoun C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet 1993;341:515-8
2. Meisner M. Procalcitonin (PCT) – A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects. Thieme; Stuttgart, New York, 2000; ISBN 3-13-1055030
4. Meisner M, Tschakowsky K, Schnabel S, Schimdt J, Katalinic A, Schuttler J. Procalcitonin – influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentration. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997;35/8: 597-601