

Sezione V: Appendice pratica

23. Determinazioni di laboratorio

Bibliografia per intervalli di riferimento

Thomas L. *Clinical laboratory diagnostics*. TH-Books, Frankfurt, 1998.

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Elsevier's Saunders, St Louis, 2006.

<http://www.aruplab.com/> (consultato: 30.06.2010)

Reference Intervals - MGH Clinical Laboratories. <http://mghlabtest.partners.org> (consultato: 30.06.2010)

23a. PTH

Romolo Dorizzi

(per fisiologia cfr cap 4a, per utilizzo clinico cfr cap 15a)

Metodo di determinazione

I metodi di misura del PTH di **prima generazione** erano radioimmunologici (RIA), basati su anticorpi policlonali diretti soprattutto, ma non esclusivamente, contro il frammento C-terminale (come il PTH 53-84) o il frammento medio-molecolare (come il PTH 44-68), prodotti dalle paratiroidi e dal fegato. Tali frammenti sono eliminati dal rene e hanno emivita più lunga del PTH 1-84; si accumulano quindi nei pazienti con insufficienza renale, e soprattutto in quelli in dialisi, anche nei casi in cui il *turn-over* osseo è diminuito. I metodi di prima generazione non sono in pratica più usati, perchè non sono in grado, per la limitata sensibilità, di misurare concentrazioni diminuite di PTH.

Negli anni '80 sono diventati disponibili i metodi di **seconda generazione** immunoradiometrici (IRMA), definiti comunemente "sandwich", basati su due anticorpi, uno di cattura, che riveste una biglia di plastica diretta contro la porzione 39-84 della molecola, ed uno legato al tracciante iodato, diretto soprattutto contro la porzione 13-25. Dato che questa architettura non riconosceva i frammenti C-terminali o medio-molecolari, negli anni successivi sono stati sviluppati molti metodi simili, che impiegavano traccianti radioattivi o enzimatici, con il vantaggio di poter essere usati con gli analizzatori automatici. I metodi di seconda generazione erano considerati in grado di misurare il PTH "intatto", anche se il capostipite, il metodo Allegro™, usava in realtà un anticorpo anti-porzione N-terminale diretto verso il frammento 13-24 e il metodo Elecsys Roche addirittura verso la porzione 26-32. I metodi di seconda generazione sono superiori rispetto a quelli precedenti; tuttavia, è stato dimostrato che presentano una *cross*-reazione tra il 50% ed il 100% con una famiglia di frammenti (il più lungo dei quali parte dalla posizione 4 ed il più corto dalla posizione 15, mentre il più abbondante dalla posizione 7) che in HPLC eluiscono con il frammento 7-84, denominato in letteratura in vari modi (PTH "non 1-84", "N-terminale troncato" o "7-84").

Nel 1999 è stato commercializzato il primo metodo di **terza generazione** per il PTH che usa due anticorpi: un C-terminale simile a quelli di seconda generazione ed un N-terminale diretto contro i primi aminoacidi della molecola (1-4), che non riconosce i frammenti "non 1-84". Tale metodo è disponibile sia in ELISA che implementato su analizzatori automatici. In generale le concentrazioni misurate con questo metodo sono più basse rispetto a quelle misurate con i metodi di seconda generazione, tranne che in un ristretto gruppo di pazienti con carcinoma paratiroideo e grave iperparatiroidismo primitivo (cfr cap 8), dove sono più alte.

La tabella 23a.1 riassume le forme di PTH misurate dai diversi tipi di dosaggio, confermando la necessità della revisione della nomenclatura che oggi è sicuramente confondente. Da notare che la letteratura **non definisce** in modo unanime **se l'iperparatiroidismo sia diagnosticato in modo più efficace dai metodi di seconda o di terza generazione.**

Tabella 23a.1
Principali forme del PTH circolante e tecnologie in grado di misurarle

Generazione		Prima	Seconda	Terza
Metodologia		Competitiva (RIA)	Immunometrica (<i>sandwich</i>)	Immunometrica (<i>sandwich</i>)
Denominazione più comune		PTH C-terminale Mid-PTH	PTH "intatto"	PTH "Intero" PTH Bio-intatto
In grado di riconoscere e dosare	PTH 1-84, PTH intatto, PTH intero	Sì	Sì	Sì
	PTH "non 1-84", PTH 7-84, PTH N-terminale troncato	Sì	Sì (presenza di interferenze)	No
	Frammenti C-terminali (che non comprendono gli aminoacidi 1-34)	Sì	Sì	Sì
	Frammenti N-terminali	Sì	Sì (se l'epitopo dell'anticorpo N-terminale è distale: 26-32) No (se l'epitopo è prossimale: 13-24)	Sì

Tabella 23a.2
PTH

Metodologia adottata	ELISA, ICMA, IRMA
Campione richiesto	Provetta da siero (tappo rosso) senza gel Provetta da plasma (tappo lavanda) con EDTA
Volume minimo	500 µL
Stabilità del campione	Siero e plasma sono stabili a temperatura ambiente per 8 ore dopo centrifugazione, a 2-8°C per 48 ore; a -20°C per 6 mesi. Alcuni produttori raccomandano la conservazione in ghiaccio, di centrifugare il campione a freddo e conservare a -20°C o a -70°C.
Intervallo di riferimento	
ARUP (chemiluminescenza)	15-75 ng/L
Massachusetts General Hospital	10-60 ng/L
Thomas L	Adulti: 15-65 ng/L
Tietz	2-20 anni: 9-52 ng/L Adulti: 10-65 ng/L

Bibliografia

- Souberbielle JC, Friedlander G, Cormier C. Practical considerations in PTH testing. *Clin Chim Acta* 2006, 366: 81-9.
- Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, et al. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney Int* 2006, 70: 345-50.
- Nussbaum S, Zahradnik R, Lavigne J, et al. Highly sensitive two-site immunoradiometric assay of parathyrin, and its clinical utility in evaluating patients with hypercalcemia. *Clin Chem* 1987, 33: 1364-7.
- D'Amour P, Brossard JH, Rakel A, et al. Evidence that the amino-terminal composition of non-(1-84) parathyroid hormone fragments starts before position 19. *Clin Chem* 2005, 51: 169-76.
- Lepage R, Roy L, Brossard JH, Rousseau L, et al. A non (1-84) circulating parathyroid hormone fragment interferes significantly with intact PTH commercial assay measurements in uremic samples. *Clin Chem* 1998, 44: 805-9.
- D'Amour P, Brossard JH, Rousseau L, et al. Structure of non-(1-84) PTH fragments secreted by parathyroid glands in primary and secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2005, 68: 998-1007.

D'Amour P, Brossard JH, Rousseau L, et al. Amino-terminal form of parathyroid hormone (PTH) with immunologic similarities to hPTH (1–84) is overproduced in primary and secondary hyperparathyroidism. Clin Chem 2003, 49: 2037–44.

Boudou P, Ibrahim F, Cormier C, et al. Third- or second-generation PTH assays: a remaining debate in the diagnosis of primary hyperparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab 2005, 90: 6370-2.

23b. Calcemia totale e ionizzata

Piero Cappelletti

(per fisiologia cfr cap 4b, per utilizzo clinico cfr cap 15b)

Determinazione

La **calcemia totale** è misurata, di norma, con metodo colorimetrico (spettrofotometria e coloranti che legano lo ione, quali arsenazo III oppure o-cresoftaleina); meno frequentemente con elettrodi iono-selettivi (ISE), dopo liberazione del calcio dai leganti fisiologici (proteine seriche, anioni complessanti) in ambiente acido, oppure con assorbimento atomico.

L'interpretazione dei valori di calcemia totale dipende non solo dalle caratteristiche del singolo paziente (le concentrazioni plasmatiche del calcio variano con l'età e sono più alte nel periodo neonatale), ma anche da fattori analitici (metodo di dosaggio e strumento su cui è applicato) e pre-analitici: corretta preparazione del paziente e prelievo corretto sono fondamentali per evitare le **interferenze** dovute a iperlipidemia, emoconcentrazione, emolisi, modificazioni posturali ed esercizio fisico prima del prelievo. A titolo esemplificativo, passare alla posizione eretta può aumentare la calcemia fino al 4-7%.

I metodi usati in *routine* non raggiungono gli obiettivi di qualità analitici raccomandati sulla base della variabilità biologica: variabilità analitica (CVa) < 1.0% e *bias* (cioè differenza tra il risultato atteso ed il valore vero della quantità misurata) desiderabile < 0.8%.

In particolare, tali aspetti pongono problemi alla definizione di una ipercalcemia "vera", rispetto a quella "fattizia", determinata da interferenze dovute a fattori biologici, pre-analitici ed analitici. Quanto al primo punto, si suggerisce di correggere il valore della calcemia in riferimento alla concentrazione di albumina sulla base di diverse formule (*cfr cap 25*). Tuttavia, la correzione non è valida a livelli estremi di concentrazione dell'albumina, in caso di analbuminemia e di marcata iperglobulinemia (monoclonalità) e quando la concentrazione albuminica è alterata da fattori pre-analitici, principalmente dalla stasi venosa conseguente alla prolungata applicazione del laccio emostatico.

La determinazione del calcio ionizzato può superare tali limiti. Anche qui si sono proposte formule di calcolo, la più efficiente delle quali sarebbe la seguente:

$$iCa = (0.5 \times tCa) - (0.005 \times \text{Albuminemia}) - (0.002 \times tCO_2) + 0.2934$$

Tuttavia, le incertezze nella misura dei fattori misurati (calcio totale, albumina, CO₂) suggeriscono di utilizzare la misura diretta di iCa.

La **calcemia ionizzata** è, di norma, determinata con metodo ISE nel sangue intero, in campione eparinizzato (anti-coagulante eparina di litio). Può anche essere misurata nel siero, ma le concentrazioni sono ovviamente diverse. L'uso di siringhe contenenti eparina in polvere, "bilanciata" per gli elettroliti, è il modo migliore per minimizzare sia il legame del calcio libero all'eparina sia la perdita di CO₂ che determina un incremento del pH e, conseguentemente, una liberazione del calcio legato alle proteine. In ogni caso, **la determinazione deve essere fatta rapidamente**, oppure il campione deve essere centrifugato entro 1-2 ore e il calcio ionizzato misurato su siero. Le differenze nella preparazione del campione e la selettività degli elettrodi utilizzati sono le cause probabili dei diversi intervalli di riferimento riportati dalla letteratura.

La variabilità analitica ed il *bias* suggeriti quali specifiche di qualità sono 0.9% e 0.7%, rispettivamente. Benché esse siano molto più stringenti di quelle per il calcio totale, i metodi ISE per il calcio ionizzato sono in grado di centrare gli obiettivi analitici proposti.

Tabella 23b.1
Calcemia totale

Metodologia adottata	Spettrometria con <i>dye-binding</i> (arsenazo III, o-cresoftaleina)	
Campione richiesto	Siero/Plasma	
Volume minimo	500 µL	
Stabilità del campione	Dopo centrifugazione, 4 ore a temperatura ambiente; 3 settimane a 2-8 °C; 6 mesi se congelato	
Intervallo di riferimento		
ARUP	adulti	strumento-dipendenti
Massachusetts General Hospital	adulti	8.5-10.5 mg/dL
Thomas L	0-5 giorni	7.9-10.7 mg/dL
	1-3 anni	8.7-9.8 mg/dL
	4-11 anni	8.8-10.1 mg/dL
	12-19 anni	8.9-10.7 mg/dL
	> 19 anni	8.8-10.6 mg/dL
Tietz	Prematuri	6.2-11.0 mg/dL
	0-10 giorni	7.6-10.4 mg/dL
	10 giorni-24 mesi	9.0-11.0 mg/dL
	24 mesi-12 anni	8.8-10.8 mg/dL
	12-18 anni	8.4-10.2 mg/dL
	18-60 anni	8.6-10.0 mg/dL
	60-90 anni	8.8-10.2 mg/dL
	>90 anni	8.2-9.6 mg/dL

Tabella 23b.2
Calcemia ionizzata

Metodologia adottata	ISE (elettrodi iono-selettivi)	
Campione richiesto	Sangue intero eparinizzato (siero)	
Volume minimo	500 µL	
Stabilità del campione	Sangue intero eparinizzato: 10 min a temperatura ambiente; 4 ore refrigerato (in acqua e ghiaccio). Siero separato e conservato nella provetta originaria non aperta: 24 ore a temperatura ambiente; 1 settimana a 4 °C; secondo il Tietz è possibile la conservazione a -20 °C per 6 mesi.	
Intervallo di riferimento		
ARUP	Sangue intero e siero (cfr misure di conservazione)	
	≤ 1 mese	1.10-1.35 mmol/L
	> 1 mese	1.11-1.30 mmol/L
Massachusetts General Hospital	Sangue intero	
	Adulti	1.14-1.30 mmol/L
Thomas L	0-5 giorni	1.22±0.05 mmol/L
	12-19 anni	1.18±0.07 mmol/L
	> 19 anni	1.14-1.35 mmol/L

Tietz	Sangue intero	
	Alla nascita	1.30-1.60 mmol/L
	Neonati	1.20-1.48 mmol/L
	Bambini	1.20-1.38 mmol/L
	18-60 anni	1.15-1.27 mmol/L
	60-90 anni	1.16-1.29 mmol/L
	> 90 anni	1.12-1.32 mmol/L
	Plasma/Siero	
	> 18 anni	1.03-1.23 mmol/L

Bibliografia

Toffaletti JG. *Blood Gases and Electrolytes*, 2nd Ed, AACCC Press, Washington, 2009.

Wu AHB. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th Ed, WB Saunders Company, St. Louis, 2006.

<http://www.westgard.com> (accesso 10.7.2010)

Slomp J, van der Voort PHJ, Gerritsen RT, et al. Albumin-adjusted calcium is not suitable for diagnosis of hyper- and hypocalcemia in the critically ill. *Crit Care Med* 2003, 31: 1389-93.

Landeson JH, Lewis JW, McDonald JM, et al. Relationship of free and total calcium in hypercalcemic conditions. *J Clin Endocrinol Metab* 1978, 48: 393-7.

Pedersen KO. An analysis of measured and calculated calcium quantities in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1978, 38: 659-67.

Clase CM, Norman GL, Beecroft ML, et al. Albumin-corrected calcium and ionized calcium in stable haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15: 1841-6.

Calvi LM, Bushinsky DA. When is it appropriate to order an ionized calcium? *J Am Soc Nephrol* 2008, 19: 1257-60.

Wandrup J. Critical analytical and clinical aspects of ionized calcium in neonates. *Clin Chem* 1989, 35: 2027-33.

23c. Calciuria

Piero Cappelletti

(per fisiologia cfr cap 4b, per utilizzo clinico cfr cap 15c)

Determinazione

La calciuria si determina con i **metodi colorimetrici** utilizzati per la misura della calcemia, in campioni di urine delle 24 ore o su campioni *random*.

Gli obiettivi di qualità analitica suggeriti sulla base della variabilità biologica ($CVa \leq 13.8\%$ e $B \leq 11.5\%$) sono normalmente raggiunti dai metodi in uso.

Gli **inconvenienti** principali della raccolta sulle 24 ore sono la variabilità della dieta (mediamente 800 mg/giorno, ma con ampie variazioni soprattutto in meno) e l'accuratezza della raccolta. Infatti, spesso i pazienti non raccolgono esattamente le urine escrete nelle 24 ore (scartando correttamente quelle dell'ora della prima raccolta e conservando quelle dell'ora di chiusura 24 ore dopo). In ogni caso **il campione va raccolto in ambiente acido** (HCl 6 M). Nel caso della raccolta delle 24 ore, i valori di calciuria sono di solito espressi in mg/giorno; nel caso di raccolte *random* in mg/dL o, meglio, in mg per g di creatinina. L'escrezione di calcio può essere espressa anche come rapporto tra escrezione di calcio ed escrezione di creatinina (*Ca/Cr ratio*), che in soggetti sani con massa muscolare costante è di norma ~ 0.14 , quando i due analiti sono espressi in mg/dL: valori > 0.20 indicano ipercalciuria. Questo esame, più accurato, è suggerito nella condizione patologica in cui la calciuria ha un evidente significato clinico, e cioè l'Ipercalcemia Ipocalciurica Familiare Benigna (FHH).

Tabella 23c.1
Calciuria

Metodologia adottata	Spettrometria con <i>dye-binding</i> (arsenazo III, o-cresoftaleina)			
Campione richiesto	Urine 24 h; urine <i>random</i> , sempre acidificate			
Volume minimo	5 mL			
Stabilità del campione	2 giorni a temperatura ambiente; 4 giorni a 2-8°C; 3 settimane se congelato			
Intervallo di riferimento				
ARUP	mg/die			
	Contenuto dietetico calcio (mg/die)	assente (5-40)	5-40 mg/die	
		povero (< 800)	50-150 mg/die	
		normale (~ 800)	100-250 mg/die	
		ricco (> 800)	> 250 mg/die	
	mg/g creatinina		Maschi	Femmine
	< 11 mesi		30-810	
	12-23 mesi		30-560	
	24-35 mesi		20-500	
	3-4 anni		20-410	
	5-6 anni		10-300	
	7-9 anni		6-431	11-457
	10-12 anni		8-300	12-309
13-15 anni		6-293	8-313	
16-17 anni		10-264	20-271	
>18 anni		20-240	20-300	

Massachusetts General Hospital	Adulti	< 300 mg/die	
Thomas L		Maschi	Femmine
	Adulti	< 4.0 mg/kg/die	
		< 300 mg/d	< 250 mg/d
	Neonati e bambini	< 800 mg/g creatinina	
Tietz	Neonati e bambini	< 6.0 mg/kg/die	
	Dieta	Calciuria 24 h	
	senza calcio (5-40 mg/die)	5-40 mg/die	
	povera di calcio \geq 800 mg/die	50-150 mg/die	
	normale (\sim 800 mg/die)	100-300 mg/die	
	Urine <i>random</i> (mg/dL)	0.9-37.9	0.5-35.7
	Urine <i>random</i> (mg/g creatinina)	12-244	9-328

Bibliografia

Toffaletti JG. *Blood Gases and Electrolytes*, 2nd Ed, AACC Press, Washington, 2009.

<http://www.westgard.com> (accesso 10.7.2010)

Wu AHB. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th Ed, WB Saunders Company, St. Louis, 2006.

Bilezikian JP, Khan AA, Potts JT. *Guidelines for the management of asymptomatic Primary Hyperparathyroidism: summary statement from the Third International Workshop*. *J Clin Endocrinol Metab* 2009, 94: 335-9.

Toke J, Patócs A, Balogh K, et al. *Parathyroid hormone-dependent hypercalcemia*. *Wien Klin Wschr* 2009, 121: 236-45.

23d. Fosfato

Piero Cappelletti

(per fisiologia cfr cap 4c, per utilizzo clinico cfr cap 15d)

Determinazione

La determinazione dei composti del fosforo inorganico nei liquidi biologici si effettua con **metodo colorimetrico**, per misura spettrofotometrica del blu di molibdeno derivato dell'acido fosfomolibdico.

Gli obiettivi di qualità analitica suggeriti (CVa < 4.3% e bias < 3.2% per la fosfatemia; CVa < 13.2% e bias < 9.4% per la fosfaturia) sono normalmente raggiunti dalle applicazioni strumentali del metodo.

Per la **fosfatemia**, le condizioni pre-analitiche del paziente e del prelievo sono importanti. È necessario che il soggetto indagato sia digiuno, perché la concentrazione di fosfato inorganico nel sangue si modifica rapidamente per l'assunzione di carboidrati. Il pasto, l'insulina, l'attività fisica e l'iperventilazione producono uno spostamento del fosforo dal plasma all'interno delle cellule, con diminuzione della concentrazione plasmatica, mentre il riposo o l'immobilizzazione determinano un incremento delle stesse fino a 0.5 mg/dL. Durante il prelievo vanno accuratamente evitate stasi ed emolisi e il siero va separato dagli eritrociti entro 1 ora, pena falsi incrementi delle concentrazioni sieriche.

Per la **fosfaturia**, vi sono i problemi della variabilità dell'escrezione in rapporto alla dieta e dell'inaccuratezza della raccolta delle urine delle 24 ore. Sia per queste che per la raccolta *random*, il campione va raccolto in ambiente acido (HCl 6M). Come per la calciuria, i dati sono validi solo con una *clearance* della creatinina > 40-50 mL/min.

Tabella 23d.1
Fosfatemia

Metodologia adottata	Spettrofotometria (fosfomolibdato)	
Campione richiesto	Siero/Plasma	
Volume minimo	200 µL	
Stabilità del campione	Dopo separazione dagli eritrociti (max 1 ora), 8 ore a temperatura ambiente, 1 settimana a 4 °C e 1 anno congelato	
Intervallo di riferimento		
ARUP	Adulti	strumento-dipendenti
Massachusetts General Hospital	< 9.9 giorni	4.5-9.0 mg/dL
	10 giorni-1.9 anni	4.5-6.7 mg/dL
	2-11.9 anni	4.5-5.5 mg/dL
	12-17.9 anni	3.0-4.5 mg/dL
	Adulti	2.6-4.5 mg/dL
Thomas L	< 30 giorni	3.9-7.7 mg/dL
	1-12 mesi	3.5-6.6 mg/dL
	1-6 anni	3.1-6.0 mg/dL
	7-12 anni	3.0-5.7 mg/dL
	13-18 anni	2.7-5.1 mg/dL
	> 18 anni	2.6-4.5 mg/dL

Tietz		Maschi	Femmine
	< 9 giorni	4.5-9.0 mg/dL	
	10 giorni-2 anni	4.0-6.5 mg/dL	
	3-9 anni	3.2-5.8 mg/dL	
	10-15 anni	3.3-5.4 mg/dL	
	16-59 anni	2.4-4.4 mg/dL	
	60-89 anni	2.3-3.7 mg/dL	2.8-4.0 mg/dL
	> 89 anni	2.2-3.9 mg/dL	2.5-4.2 mg/dL

Tabella 23d.2
Fosfaturia

Metodologia adottata	Spettrofotometria (fosfomolibdato)		
Campione richiesto	Urine 24 ore o urine <i>random</i> (sempre acidificate)		
Volume minimo	5 mL		
Stabilità del campione	8 ore a temperatura ambiente; 2 giorni a 4°C; 6 mesi congelato		
Intervallo di riferimento			
ARUP	Adulti (urine 24 h)	400-1300 mg/die	
	Urine <i>random</i> (mg/g creatinina)	Maschi	Femmine
	7-9 anni	165-1682	153-1443
	10-12 anni	144-1234	142-1321
	13-15 anni	101-1134	81-930
	16-17 anni	68-874	58-846
Massachusetts General Hospital	Non indicato		
Thomas L	Clearance del fosfato	5.4-16.2 mL/min	
	Riassorbimento tubulare del fosfato percentuale (TRP%)	82-90%	
	Riassorbimento tubulare massimo del fosfato (TmP/GFR)	2.5-4.2 mg/dL	
Tietz	Urine 24 h		
	Dieta costante (P 0.9-1.5 g/d e Ca 10 mg/kg)	< 1 g/die	
	Dieta non ristretta	0.4-1.3 g/die	
	Urine <i>random</i>	Maschi	Femmine
	Adulti (mg/dL)	5-189	7-148
	< 40 anni (mg/g creatinina)	36-1770	111-927
	≥ 40 anni (mg/g creatinina)	54-860	105-1081

Bibliografia

Toffaletti JG. *Blood Gases and Electrolytes*, 2nd Ed, AACC Press, Washington, 2009.

Wu AHB. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th Ed, WB Saunders Company, St. Louis, 2006.

<http://www.westgard.com> (accesso 10.7.2010)

Guy JM, Stewart MF, Olukoga A, et al. Hypophosphataemia in general practice patients. *Ann Clin Biochem* 1999, 36: 37-42.

Singh J, Moghal N, Pearce SHS, et al. The investigation of hypocalcaemia and rickets. *Arch Dis Child* 2003, 88: 403-7.

http://members.iinet.net.au/~bill/java/tmp_gfr.html

23e. Vitamina D

Marco Caputo

(per fisiologia cfr cap 3 e 4d, per utilizzo clinico cfr cap 15e)

Determinazione della 25-OH-D

Le metodiche di dosaggio attualmente utilizzate sono:

- **metodo immunometrico:** è il più diffuso, consente la misurazione della 25-OH-vitamina D “totale”, ovvero senza possibilità di discriminare tra le frazioni D₂ e D₃;
- **HPLC** (cromatografia liquida ad alta prestazione): viene ad oggi considerata il *gold standard*, perchè consente la misurazione separata delle frazioni D₂ e D₃ della 25-OH-D.

Nella definizione degli intervalli di riferimento per la 25-OH-D si era soliti fissare un intervallo sulla base della convinzione che lo stato dei depositi di vitamina D negli adulti e nei bambini fosse largamente adeguato nella maggioranza della popolazione. In realtà si è poi visto che i livelli di PTH cominciano a stabilizzarsi solo a concentrazioni di 25-OH-D comprese tra 72-96 nmol/L (30-40 µg/L), mentre fino a quando 25-OH-D oscilla tra 26 e 46 nmol/L (11-19 µg/L) si hanno significative variazioni di PTH. Pertanto, si è deciso di definire biochimicamente uno stato carenziale quando la concentrazione plasmatica di 25-OH-D scende sotto 48 nmol/L (20 µg/L), mentre per massimizzare l'effetto positivo della vitamina sul metabolismo del calcio si raccomanda che la concentrazione di 25-OH-D sia sempre > 72 nmol/L (30 µg/L).

Tabella 23e.1
25-OH-Vitamina D

Metodologia adottata	ICMA (più pratica rispetto alle metodiche di riferimento, LC-MS).	
Campione richiesto	Siero, provetta tappo giallo (siero con separatore); accettabile anche tappo lavanda (EDTA) o rosa (K2 EDTA).	
Volume minimo	1 mL	
Stabilità del campione	Molecola stabile: non si richiedono precauzioni specifiche per la conservazione dei campioni.	
Intervallo di riferimento		
ARUP	0-17 anni	Carenza: < 58.9 nmol/L (20 ng/mL) Livello ottimale: ≥ 58.9 nmol/L (20 ng/mL)
	> 18 anni	Carenza: < 58.9 nmol/L (20 ng/mL) Insufficienza: 58.9-85.4 nmol/L (20-29 ng/mL) Livello ottimale: 88.4-235.7 nmol/L (30-80 ng/mL) Possibile tossicità: > 442 nmol/L (>150 ng/mL)
Massachusetts General Hospital	Desiderabile: > 79.9 nmol/L (32 ng/mL)	
Thomas L	Estate	50-300 nmol/L
	Inverno	25-125 nmol/L
Tietz	35-150 nmol/L (14-60 ng/mL)	

Tabella 23e.2
1,25(OH)₂-Vitamina D

Metodologia adottata	RIA	
Campione richiesto	Siero, provetta tappo giallo (siero con separatore); accettabile anche tappo lavanda (EDTA) o rosa (K2 EDTA).	
Volume minimo	1 mL	
Stabilità del campione	Dopo centrifugazione: stabile a temperatura ambiente per 3 giorni, a 2-8°C per 1 settimana, a -20°C per 6 mesi.	
Intervallo di riferimento		
ARUP	36-180 pmol/L (15-75 pg/mL)	
Massachusetts General Hospital	Non definito	
Thomas L	Adulti	72-168 pmol/L (30-70 pg/mL)
	Bambini	96-240 pmol/L (40-100 pg/mL)
Tietz	16-65 pg/mL	

Bibliografia

Wagner CL, Greer FR, American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 2008, 122: 1142-52.

Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. *Am J Clin Nutr* 2008, 88: S507-10.

Scharlaa S, Schmidt-Gayka H, Reichela H, Mayerb E. A sensitive and simplified radioimmunoassay for 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Clin Chim Acta* 1984, 142: 325-38.

23f. Magnesio

Piero Cappelletti

(per fisiologia cfr cap 4e, per utilizzo clinico cfr cap 15f)

Determinazione

La determinazione del **magnesio totale** nel siero (e nelle urine) è di solito effettuata con metodi colorimetrici, che utilizzano coloranti che complessano il magnesio, quali il *titan yellow*, la calmagite, il blu di metil-timolo e diversi altri, oppure con spettrometria ad assorbimento atomico.

La determinazione del **magnesio ionizzato** (~ 70% del magnesio sierico), seppur non comunemente praticata, può essere ottenuta con elettrodi ionoselettivi (ISE), che sono però sensibili anche al calcio. I dati vanno quindi corretti per la calcemia, con l'introduzione di un ulteriore fattore di incertezza analitica.

Il **magnesio intra-cellulare**, di solito intra-eritrocitario o talvolta in cellule mononucleate del sangue, è misurato accuratamente, previa separazione e lisi delle cellule interessate, con spettrometria ad assorbimento atomico o con spettrometria di massa.

Il prelievo per la misura del magnesio nel siero prevede un paziente digiuno, una corretta procedura flebotomica per evitare stasi venosa ed emolisi, la raccolta in contenitori privi di ioni metallici ed un'immediata separazione dai globuli rossi per impedire lo spostamento intra-cellulare.

Gli obiettivi di qualità analitica basati sulla variabilità biologica prevedono per il magnesio sierico totale un CVa < 1.8% e un *bias* < 1.8%, per il magnesio ionizzato un CVa < 2.8% e un *bias* < 1.4% e per quello intra-eritrocitario un CVa < 1.0% e un *bias* < 1.4%. Solo i metodi ad assorbimento atomico consentono di centrare le specifiche proposte (CV% < 1.5%), al contrario di quelli colorimetrici (CV% 5-10%).

Nell'interpretazione dei risultati devono essere tenute presenti le limitazioni analitiche dei metodi comunemente usati, oltre alle difficoltà biologiche derivanti dal fatto che il magnesio sierico è ~ 0.3% del magnesio totale corporeo (e quindi può non rifletterne adeguatamente la quantità) e, d'altra parte, dal rapido ed intenso scambio intra/extra-cellulare conseguente a cambiamenti del pH. I segni di ipomagnesiemia sono evidenti a valori circa la metà del livello inferiore dell'intervallo di riferimento.

La determinazione del magnesio intra-cellulare (negli eritrociti la concentrazione è normalmente 3.3-5.3 mEq/L) è senz'altro più accurata, sia analiticamente che fisiologicamente (riflette i depositi e l'omeostasi del magnesio corporeo), ma non è praticabile di *routine* per motivi pre-analitici (separazione delle cellule e lisi) ed analitici (tempi di esecuzione e disponibilità strumentale).

Tabella 23f.1
Magnesio

Metodologia adottata	Colorimetrica	
Campione richiesto	Siero/plasma	
Volume minimo	500 µL	
Stabilità del campione	Dopo separazione cellulare, 1 settimana a temperatura ambiente; 1 settimana a 4°C; 1 anno congelato	
Intervallo di riferimento		
ARUP	Adulti	strumento-dipendenti
Massachusetts General Hospital	Adulti	1.4-2.0 mEq/L
Thomas L	Neonati	1.2-2.6 mg/dL
	< 18 anni	1.5-2.3 mg/dL
	> 18 anni	1.8-2.6 mg/dL
Tietz	Adulti	1.26-2.10 mEq/L
	con Spettrometria ad Assorbimento Atomico	
	Neonati	1.5-2.2 mg/dL
	5 mesi-6 anni	1.7-2.3 mg/dL
	6-12 anni	1.7-2.1 mg/dL
	12-20 anni	1.7-2.2 mg/dL
	Adulti	1.6-2.6 mg/dL
	60-90 anni	1.6-2.4 mg/dL
> 90 anni	1.7-2.3 mg/dL	

Bibliografia

- Toffaletti JG. *Blood Gases and Electrolytes*, 2nd Ed, AACC Press, Washington, 2009.
- Wu AHB. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th Ed, WB Saunders Company, St. Louis, 2006.
- Cecco SA, Hristova EN, Rehak NN, Elin RJ. Clinically important intermethod differences for physiologically abnormal ionized magnesium results. *Am J Clin Pathol* 1997, 108: 564-9.
- Wang S, McDonnell EH, Sedor FA, Toffaletti JG. pH effects on measurements of ionized calcium and ionized magnesium in blood. *Arch Pathol Lab Med* 2002, 126: 947-50.
- <http://www.westgard.com> (accesso 10.7.2010)
- Noronha JL, Matushak GM. Magnesium in critical illness: metabolism, assessment, and treatment. *Intens Care Med* 2002, 28: 667-79.
- Ben Rayana M, Burnett RW, Covington RK, et al. IFCC Guideline for sampling, measuring and reporting ionized magnesium in plasma. *Clin Chem Lab Med* 2008, 46: 21-6.

23g. Fosfatasi alcalina e isoenzimi

Romolo Dorizzi

(per fisiologia cfr cap 4f, per utilizzo clinico cfr cap 15g2)

Metodo di determinazione

La determinazione nel siero non è più eseguita con metodi basati sulla stabilità al calore (la frazione ossea, a differenza di quella epatica, è distrutta dal calore), ma con metodi elettroforetici (il più affidabile è con gel di agarosio e acetato di cellulosa, ma non permette l'individuazione di piccole modificazioni degli isoenzimi o una determinazione accurata di un isoenzima in presenza di un significativo incremento dell'altro), metodi basati su precipitazione con lectina del germe di grano (metodo dalla manualità complessa che in mani esperte ha fornito buoni risultati, ma la cui diffusione non è stata ampia anche nella versione automatizzata) e, soprattutto, con metodi immunometrici.

I primi metodi **immunologici** sono stati sviluppati negli anni '80, ma solo con l'adozione di anticorpi monoclonali sono state raggiunte prestazioni soddisfacenti. I metodi immunologici misurano la massa o l'attività della frazione ossea dell'enzima e dimostrano requisiti di riproducibilità, sensibilità e specificità che li rendono clinicamente utili nella valutazione dei pazienti con malattie metaboliche dell'osso. È stato segnalato che la confrontabilità tra le due tecnologie è inferiore nei campioni provenienti da bambini e che i metodi che misurano l'attività richiedono modalità di conservazione più stringenti nel caso di conservazione a lungo termine. Per quanto riguarda la **specificità**, dimostrano una reattività molto simile con ALP epatica (dal 7% al 15% della reattività per ALP ossea), per cui la concentrazione di ALP specifica per l'osso (bALP) può risultare falsamente aumentata nei casi di patologia epatica severa. L'emivita della bALP è di 1-2 giorni, la sensibilità al ritmo circadiano è minore rispetto ad altri marcatori e la variabilità biologica inter-individuale è intorno al 10%.

Tabella 23g.1
Fosfatasi alcalina totale

Metodologia adottata	Chemiluminescenza, immunoenzimatica, RIA		
Campione richiesto	Provetta da siero (tappo rosso) senza gel, 6 mL		
Volume minimo	500 µL		
Stabilità del campione	Il siero è stabile a temperatura ambiente per 4 ore, a 2-8 °C per tre giorni, a -20 °C per un mese		
Intervallo di riferimento	Età	Maschio	Femmina
ARUP (enzimatico)	Non definito		
Massachusetts General Hospital	< 20 anni	15-350 U/L	
	> 20 anni	45-115 U/L	30-100 U/L
Thomas L	4-6 anni	93-309 U/L	96-975 U/L
	7-9 anni	86-309 U/L	96-975 U/L
	10-12 anni	42-315 U/L	69-325 U/L
	13-15 anni	74-390 U/L	50-162 U/L
	16-18 anni	52-171 U/L	47-119 U/L
	≥ 20 anni	70-175 U/L	-
	Pre-menopausa	-	55-147 U/L
	Post-menopausa	-	60-170 U/L

Tietz	4-15 anni	54-369 U/L	
	20-50 anni	53-128 U/L	42-98 U/L
	50-60 anni	56-119 U/L	53-141 U/L
	>60 anni	56-155 U/L	43-160 U/L

Tabella 23g.2
Fosfatasi alcalina ossea

Metodologia adottata	Chemiluminescenza, immunoenzimatica, RIA		
Campione richiesto	Provetta da siero (tappo rosso) senza gel, 6 mL		
Volume minimo	500 µL		
Stabilità del campione	Centrifugare immediatamente; il siero è stabile a temperatura ambiente 2 ore dopo la separazione, a 2-8°C per due giorni, a -20 °C per 1 anno		
Intervallo di riferimento	Età	Maschio	Femmina
ARUP (chemiluminescenza)	7-9 anni	48.6-140.4 µg/L	36.3-159.4 µg/L
	10-12 anni	48.8-155.5 µg/L	44.2-163.3 µg/L
	13-15 anni	27.8-210.9 µg/L	14.8-136.2 µg/L
	16-17 anni	15.3-126.8 µg/L	10.5-44.8 µg/L
	18-24 anni	Non calcolato	Non calcolato
	≥ 25 anni	6.5-20.1 µg/L	-
	Pre-menopausa	-	4.5-16.9 µg/L
	Post-menopausa	-	7.0-22.4 µg/L
Massachusetts General Hospital	Non definito		
Thomas L		3.8-21.3 µg/L	3.4-15 µg/L
Tietz		15-41 U/L	-
	Pre-menopausa		12-30 U/L
	Post-menopausa		14-43 U/L

Bibliografia

- Van Hoof VO, Hoylaerts MF, Geryl H, et al. Age and sex distribution of alkaline phosphatase isoenzymes by agarose electrophoresis. *Clin Chem* 1990, 36: 875-8.
- Broyles DL, Nielsen RG, Bussett EM, et al. Analytical and clinical performance characteristics of Tandem-MP Ostase, a new immunoassay for serum bone alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1998, 44: 2139-47.
- Braga V, Dorizzi R, Brocco G, et al. Clinical utility of a wheat-germ precipitation assay for determination of bone alkaline phosphatase concentrations in patients with different metabolic bone diseases. *Eur J Chem Clin Biochem* 1995, 33: 433-9.
- Price CP, Milligan TP, Dart C. Direct comparison of performance characteristics of two immunoassays for bone isoform of alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem* 1997, 43: 2052-7.
- Kress BC. Bone alkaline phosphatase: methods of quantitation and clinical utility. *J Clin Ligand Assay* 1998, 21: 139-48.
- Withold W, Schulte U, Reinauer H. Method for determination of bone alkaline phosphatase activity: analytical performance and clinical usefulness in patients with metabolic and malignant bone diseases. *Clin Chem* 1996, 42: 210-7.

23h. Osteocalcina

Romolo Dorizzi

(per fisiologia cfr cap 4f, per utilizzo clinico cfr cap 15g2)

Metodo di determinazione

La concentrazione sierica di OC correla bene con la velocità di formazione dell'osso determinata con tecniche istomorfometriche.

Il peptide è soggetto a rapida degradazione, per cui coesistono in circolo peptidi intatti e frammenti di dimensione diversa. Anche in vitro è labile: diminuisce nei campioni lipemici (per il legame con i lipidi) e può essere degradata dagli enzimi proteolitici liberati dagli eritrociti.

Queste caratteristiche ed il fatto che i metodi immunometrici basati su osteocalcina bovina non sono standardizzati e riconoscono frammenti diversi, rendono i **risultati ottenuti con metodi diversi poco comparabili**.

Sono stati introdotti metodi immunoradiometrici a *sandwich*, in grado di rilevare la molecola intatta di OC 1-49. Solo un terzo del totale dell'OC presente nel siero è intatto e a temperatura ambiente dopo un'ora dalla raccolta del campione si registra una rapida perdita di immunoreattività. Si ritiene che questo problema sia oggi superato dai metodi che riconoscono sia la molecola intatta che il suo più grosso prodotto di degradazione, il frammento 1-43 (N-terminale e media-molecola), che può essere prodotto, almeno in parte, dagli osteoblasti attivi.

Tabella 23h.1
Osteocalcina

Metodologia adottata	Chemiluminescenza, immunoenzimatica, RIA		
Campione richiesto	Provetta da siero (tappo rosso) senza gel, 6 mL		
Volume minimo	500 µL		
Stabilità del campione	Il siero è stabile a temperatura ambiente per 1 ora, a -20 °C per 14 mesi		
Intervallo di riferimento	Età	Maschio	Femmina
ARUP (chemiluminescenza)	7-9 anni	66-182 µg/L	73-206 µg/L
	10-12 anni	85-232 µg/L	77-262 µg/L
	13-15 anni	70-336 µg/L	33-222 µg/L
	16-17 anni	43-237 µg/L	24-99 µg/L
	> 18 anni	11-50 µg/L	
Massachusetts General Hospital	Non eseguito		
Thomas L	3-5.4 µg/L		
Tietz	2-17 anni	2.8-40 µg/L	
	Adulto	2.8-13 µg/L	-
	Pre-menopausa	-	0.4-8.2µg/L
	Post-menopausa	-	1.5-11 µg/L

Bibliografia

- Gundberg CM, Markowitz ME, Mizruchi M, Rosen JF. Osteocalcin in human serum: a circadian rhythm. *J Clin Endocrinol Metab* 1985, 60: 736-9.
- Delmas PD, Wilson DM, Mann KG, Riggs BL. Effect of renal function on plasma levels of bone Gla-protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1983, 57: 1028-30.
- Diaz Diego EM, Guerrero R, de la Piedra C. Six osteocalcin assays compared. *Clin Chem* 1994, 40: 2071-7.
- Blumsohn A, Hannon RA, Eastell R. Apparent instability of osteocalcin in serum as measured with different commercially available immunoassays. *Clin Chem* 1995, 41: 318-9.
- Parviainen M, Kuronen I, Kokko H, et al. Two-site enzyme immunoassay for measuring intact human osteocalcin in serum. *J Bone Miner Res* 1994, 9: 347-54.
- Chen JT, Hosoda K, Hasumi K, et al. Serum N-terminal osteocalcin is a good indicator for estimating responders to hormone replacement therapy in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1996, 11: 1784-92.

23i. Altri marcatori del metabolismo osseo

Romolo Dorizzi

(per fisiologia cfr cap 4f, per utilizzo clinico cfr cap 15g)

PEPTIDI C-TERMINALE ED N-TERMINALE DEL PROCOLLAGENE DI TIPO I (PCIP E PNIP)

I due peptidi possono essere misurati con metodi immunometrici.

PCIP. Per esempio, Metra CICIP è un metodo ELISA in micropiastra che utilizza un anticorpo monoclonale anti-CICIP adeso ai pozzetti, un anticorpo anti-CICIP di coniglio, un coniugato di fosfatasi alcalina anti-coniglio ed un substrato pNPP.

PNIP. PNIP intatto può essere misurato con un metodo RIA competitivo, che usa un anticorpo policlonale rivolto contro la variante α_1 dell'omotrimerico del PNIP e riconosce solo il PNIP nella sua forma trimerica. Recentemente è stato commercializzato un metodo totalmente automatico, che impiega due anticorpi monoclonali prodotti contro il PNIP intatto umano purificato, ottenuto da un *pool* di fluido amniotico al secondo trimestre. Il metodo rileva sia le forme dimeriche che quelle trimeriche del PNIP. Un anticorpo biotinilato incubato con 20 mL di siero legato a Rutenio è aggiunto al campione insieme a microparticelle rivestite di streptavidina. Si forma un complesso *sandwich*, che si lega alle microparticelle attraverso l'interazione streptavidina-biotina e le particelle sono catturate magneticamente dalla superficie dell'elettrodo, che ricevendo corrente può dare una emissione chemiluminescente che è rivelata da un foto-moltiplicatore. Il metodo è implementato su strumenti automatici largamente diffusi nei laboratori clinici.

Tabella 23i.1
PCIP

Metodologia adottata	ELISA
Campione richiesto	Provetta da siero (tappo rosso) senza gel
Volume minimo	500 μ L
Stabilità del campione	A 2-8°C per 5 giorni, a -20°C per 3 mesi
Intervallo di riferimento	
ARUP	Non eseguito
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	Non eseguito
Tietz	Non eseguito
Metra	4-18 anni: 110-966 ng/mL Adulto: 69-163 ng/mL

Tabella 23i.2
PNIP

Metodologia adottata	RIA, ECLIA		
Campione richiesto	Provetta da siero (tappo rosso) senza gel		
Volume minimo	500 µL		
Stabilità del campione	A 2-8 °C per 5 giorni, a -20 °C 24 mesi		
Intervallo di riferimento	Età	Maschio	Femmina
ARUP	-	22-105 µg/L	-
	Pre-menopausa	-	20-101 µg/L
	Post-menopausa	-	16-96 µg/L
Massachusetts General Hospital	Non eseguito		
Thomas L	Non indicato		
Tietz	Non indicato		
Roche	Pre-menopausa	-	15-59 µg/L
	Post-menopausa	-	in ter. sostitutiva: 14-59 µg/L senza ter. sostit.: 20-76 µg/L
ECLIA	Pre-menopausa	-	13.8 -60.9 µg/L
		13.9-85.5 µg/L	-

Bibliografia

- Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal Propeptide of Type I Collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 2008, 54: 188-96.
- Orum O, Hansen M, Jensen CH, et al. Procollagen type 1 N-terminal Propeptide (P1NP) as an indicator of type 1 collagen metabolism: ELISA development, reference interval, and hypovitaminosis D induced hyperparathyroidism. *Bone* 1996, 19: 157-63.
- Brandt J, Frederiksen JK, Jensen CH, et al. The N- and C-terminal propeptides of human procollagen type 1 (P1NP and P1CP): molecular heterogeneity and assay technology. In: Eastell R, Baumann M, Hoyle NR, Wiczorek L (Eds). *Bone Markers. Biochemical and Clinical perspectives*. Dunitz, London 2001: pp 73-81.
- Jensen CH, Hansen M, Brandt J, et al. Quantification of the N-terminal propeptide of human procollagen type 1 (P1NP): Comparison of ELISA and RIA with respect to different molecular forms. *Clin Chim Acta* 1998, 269: 31-41.

IDROSSIPROLINA

La determinazione dell'IP è eseguita dopo una fase di idrolisi, che converte tutti i peptidi alla forma libera, che possono essere misurati con metodi colorimetrici o cromatografici (HPLC).

Tabella 23i.3
Idrossiprolinuria

Metodologia adottata	Colorimetria, HPLC
Campione richiesto	Urine delle 24 ore acidificate con HCl, in modo da tenere il pH < 2
Volume minimo	5 mL
Stabilità del campione	Il campione è stabile a 2-8°C per 48 ore, a -20°C per 6 mesi
Intervallo di riferimento	
ARUP	Non indicato
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	5-25 mg/die/m ² di superficie corporea
Tietz	Non indicato

Bibliografia

- Oberländer V, Bottermann P. Significance of hydroxyproline determination in the 24-hour urine. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1974, 80: 1402-4.
- Burkhardt H, Wepler R, Rommel K. Indications for urinary hydroxyproline determination. *Dtsch Med Wschr* 1976, 101: 1394-7.

CROSS-LINKS PIRIDINOLINA (PYD) E DESOSSIPRIDINOLINA (DPD)

Inizialmente PYD e DPD erano misurati in HPLC *reverse phase* a coppia ionica, preceduta da una fase di prefrazionamento, utilizzando una fase cromatografica di partizione su cellulosa ed idrolisi (in modo da convertire tutti i *cross-link* nelle forme peptidiche libere). Attualmente, però, i metodi più usati sono quelli immunometrici, perché sono automatizzabili e assicurano prestazioni comparabili a quelle delle metodiche HPLC.

Tabella 23i.4
Piridinolina e Desossipiridinolina

Metodologia adottata	HPLC, ELISA			
Campione richiesto	Urine (seconda minzione)			
Volume minimo	5 mL			
Stabilità del campione	Il campione è stabile a 2-8°C per 7 giorni; a -20°C per 6 mesi			
Intervallo di riferimento	Età	PYD ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina)	DPD ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina)	PYD/DPD
ARUP	0-11 mesi	353-560	46-113	0.13-0.20
	1-3 anni	108-400	19-94	0.18-0.24
	4-9 anni	117-325	20-75	0.19-0.25
	10-14 anni	81-267	13-61	0.17-0.27
	15-19 anni	38-80	10-18	0.20-0.26
	≥ 20 anni	20-40	5-11	0.23-0.29
Massachusetts General Hospital	Non eseguito			
Thomas L		PYD	DPD	
	HPLC	17-60	1.8-9	
	ELISA	13-93	1.3-9.3	
Tietz		PYD	DPD	
	Maschio	Non dichiarato	2.3-5	
	Pre-menopausa	Non dichiarato	3-7.4	
	Post-menopausa	Non dichiarato	Non dichiarato	

Bibliografia

- Black D, Duncan A, Robins SP. Quantitative analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1988, 169: 197-203.
- Pratt DA, Daniloff Y, Duncan A, Robins SP. Automated analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in tissue and urine using solid-phase extraction and reversed phase high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1992, 207: 168-75.
- James IT, Perrett D. Automated on-line solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic analysis of total and free pyridinium crosslinks in serum. *J Chromatogr* 1998, 79: 159-66.
- Seyedin SM, Kung VT, Daniloff YN, et al. Immunoassay for urinary pyridinoline: the new marker of bone resorption. *J Bone Miner Res* 1993, 8: 635-41.
- Robins SP, Woitge H, Hesley R, et al. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res* 1994, 9: 1643-9.

Delmas PD, Gineyts E, Bertholin A, et al. Immunoassay of urinary pyridinoline crosslink excretion in normal adults and in Paget's disease. *J Bone Miner Res* 1993, 8: 643-8.

N-TELOPEPTIDE (NTX)

Viene misurato con un metodo immunoenzimatico basato su un anticorpo monoclonale che riconosce la catena α_2 del frammento N-telopeptide. Questo frammento contiene i *cross-links* del PYD, ma il metodo non riconosce PYD e DPD. L'anticorpo sembra riconoscere numerosi componenti *cross-linking* e la presenza di un *cross-link* di PYD non è essenziale per la reattività. Nei dosaggi di NTX, estratti di collagene della pelle hanno reattività simile a quelli di estratti di osso. L'anticorpo monoclonale ed il formato del dosaggio sono identici nel sangue e nelle urine ed i risultati dei due metodi sono molto simili.

Tabella 23i.5
NTX sierico

Metodologia adottata	ELISA, ICMA	
Campione richiesto	Siero	
Volume minimo	500 μ L	
Stabilità del campione	Il campione è stabile a temperatura ambiente per 5 ore, a 2-8 °C per 24 ore; a -20 °C per 6 mesi	
Intervallo di riferimento (nM Bone Collagen Equivalent)	Maschio	Femmina
ARUP	5.4-24.2	6.2-19.0
Massachusetts General Hospital	Non eseguito	
Thomas L	Non indicato	
Tietz	Adulto: 5.4-24.2	Pre-menopausa: 6.2-19.0 Post-menopausa: non dichiarato

Tabella 23i.6
NTX urinario

Metodologia adottata	ELISA, ICMA		
Campione richiesto	Urine (seconda minzione)		
Volume minimo	5 mL		
Stabilità del campione	Il campione deve essere refrigerato durante la raccolta; è stabile a temperatura ambiente per 24 ore, a 2-8 °C per 7 giorni; a -20 °C per 2 anni		
Intervallo di riferimento (nM BCE/mM creatinina)	Età	Maschio	Femmina
ARUP	7-9 anni	167-578	201-626
	10-12 anni	152-505	173-728
	13-15 anni	103-776	38-515
	16-17 anni	34-313	20-144
	>18 anni	21-83	
	Pre-menopausa	-	17-94
	Post-menopausa	-	26-124
Massachusetts General Hospital	Non eseguito		
Thomas L	Non indicato		
Tietz	Adulto	3-63	-
	Pre-menopausa	-	5-65
	Post-menopausa	-	Non dichiarato

Bibliografia

Hanson DA, Weis MA, Bollen AM. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptide in urine. *J Bone Miner Res* 1992, 7: 1251-8.

C-TELOPEPTIDE (CTX)

In pratica esistono due metodi competitivi che misurano i due isomeri (α -CTX e β -CTX) nelle urine, mentre l'isomero β -CTX può essere misurato nel siero con un metodo immunometrico *sandwich* basato su anticorpi policlonali diretti verso un prodotto di degradazione dell'osso di 10 kDa, un octapeptide sintetico contenente il sito di *cross-linking*.

È stato messo a punto un RIA basato su un anticorpo monoclonale rivolto verso l'octapeptide non isomerizzato (EKAH-aD-GGR) per la misura nelle urine (" α -CTX"). La misura simultanea di entrambe le forme può essere usata per calcolare il rapporto α -CTX/ β -CTX come indice di *turn-over* osseo (aumenta nel m. di Paget non trattato, *cf* cap 14a, quando si verifica un aumento dell' α -CTX).

Il metodo più recente usa due anticorpi monoclonali che, secondo il produttore, dovrebbero riconoscere solo dipeptidi contenenti un *cross-link* e due peptidi β -isomerizzati con la stessa sequenza dei metodi urinari.

Va rilevato che mentre lo *standard* per il CTX-ELISA originale è ottenuto da antigene purificato contenuto nelle urine umane, il metodo automatico impiega antigeni sintetici. I valori di CTX nel siero e nelle urine sono molto correlati, suggerendo l'analogia dei due antigeni.

Tabella 23i.7
CTX

Metodologia adottata	Elettrochemiluminescenza, ELISA		
Campione richiesto	Siero		
Volume minimo	500 μ L		
Stabilità del campione	Il campione è stabile a temperatura ambiente per 8 ore, a 2-8°C per 8 ore; a -20 °C per 3 mesi		
Intervallo di riferimento	Età (anni)	Maschio	Femmina
ARUP	7-9	55-1682 ng/L	566-1690 ng/L
	10-12	553-2071 ng/L	503-2077 ng/L
	13-15	485-2468 ng/L	160-1590 ng/L
	16-17	276-1546 ng/L	167-933 ng/L
	18-29	87-1200 ng/L	64-640 ng/L
	30-39	70-780 ng/L	60-650 ng/L
	40-49	60-700 ng/L	40-465 ng/L
	50-69	87-345 ng/L	-
	> 70	80-1050 ng/L	-
	Post-menopausa	-	104-1008 ng/L
Massachusetts General Hospital	Non eseguito		
Thomas L	Non indicato		
Tietz	Adulto	< 1009 ng/L	-
	Pre-menopausa	-	< 574 ng/L

Bibliografia

- Bonde M, Garnero P, Fledelius C, et al. Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the C-telopeptide of type I collagen. *J Bone Miner Res* 1997, 12: 1028–34.
- Bonde M, Fledelius C, Qvist P, Christiansen C. Coated-tube radioimmunoassay for C-telopeptides of type I collagen to assess bone resorption. *Clin Chem* 1996, 42: 1639–44.
- Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res* 1992, 7: 1251–8.

TELOPEPTIDE C-TERMINALE TIPO I

Il primo dosaggio era un metodo RIA nel siero. Gli anticorpi erano ottenuti contro un collagene contenente *cross-link* di peso molecolare 8.5 kDa isolato dall'osso umano. Il determinante antigenico richiede un *cross-link* trivalente, che comprende due domini ricchi di fenilalanina della regione telopeptide della catena α_1 del collagene di tipo I (mentre non reagiscono con l'anticorpo peptidi divalenti, peptidi non legati con *cross-link* e peptidi isolati provenienti dalla pelle).

Tabella 23i.8
ITCP

ARUP	Non eseguito
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	Non eseguito
Tietz	Non eseguito

Bibliografia

- Melkko J, Niemi S, Ristelli L, Ristelli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 1990, 36: 1328–32.
- Melkko J, Kauppila S, Niemi S, et al. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 1996, 42: 947–54.
- Brandt J, Krogh TN, Jensen CH, et al. Thermal instability of the trimeric structure of the N-terminal propeptide of human procollagen type I in relation to assay technology. *Clin Chem* 1999, 45: 47–53.
- Scariano JK, Garry PJ, Montoya GD, et al. Critical differences in the serial measurement of three biochemical markers of bone turnover in the sera of pre- and postmenopausal women. *Clin Biochem* 2001, 34: 639–44.

FOSFATASI ACIDA TARTRATO-RESISTENTE

La maggior parte dei metodi per la determinazione di TRAP sono colorimetrici e non consentono di differenziare le due isoforme 5a (che contiene acido sialico) e 5b.

Anche se la TRAP totale, misurata con metodi chimici, è stata considerata un marcatore di riassorbimento osseo, la sua concentrazione è influenzata da enzimi provenienti da eritrociti e piastrine e la determinazione è ostacolata da inibitori circolanti.

È stato descritto un dosaggio cinetico che misura in modo specifico la TRAP 5b (con un CV del 5–10%). Gli anticorpi per questi metodi sono stati ottenuti usando materiale isolato dalla milza di un paziente con leucemia “hairy cells” o contro TRAP 5b isolata da plasma di cordone umano.

Tabella 23i.9
Fosfatasi acida tartrato-resistente

Metodologia adottata	ELISA, RIA
Campione richiesto	Siero
Volume minimo	500 µL
Stabilità del campione	L'attività diminuisce di più del 20%/ora a temperatura ambiente. Il campione deve essere quindi refrigerato e addizionato di tampone citrato. Il campione è stabile a 2-8°C per 48 ore, a -20 °C per 6 mesi
Intervallo di riferimento	
ARUP	Non eseguito
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	Non indicato
Tietz	Bambino: 3.4-9 U/L Adulto: 1.5-4.5 U/L

Bibliografia

- Kraenzlin ME, Lau KH, Liang L, et al. Development of an immunoassay for human serum osteoclastic tartrate resistant acid phosphatase. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 71: 442-51.
- Cheung C, Panesar N, Haines C, et al. Immunoassay of a tartrate-resistant acid phosphatase in serum. *Clin Chem* 1995, 41: 679-86.
- Bais R, Edwards JB. An optimized continuous monitoring procedure for semiautomated determination of serum acid phosphatase activity. *Clin Chem* 1976, 22: 2025-8.
- Halleen JM, Karp M, Viloma S, et al. Two-site immunoassays for osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase based on characterisation of six monoclonal antibodies. *J Bone Miner Res* 1999, 14: 464-9.
- Allner R. Determination of acid phosphatase: a comparison of methods. *Lab Med* 1985, 9: 82-7.

GALATTOSIL-IDROSSILISINA (GHL)

I metodi di determinazione della GHL sono complessi e richiedono molto tempo (prevedono una fase di preparazione del campione seguita da separazione HPLC e rivelazione). Il principale svantaggio di questi marcatori è che non sono disponibili metodi immunometrici.

Tabella 23i.10
Galattosil-idrossilisina

ARUP	Non eseguito
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	Non indicato
Tietz	Non indicato

Bibliografia

- Bettica P, Moro L, Robins SP, et al. The comparative performance of urinary bone resorption markers: galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks, hydroxyproline. *Clin Chem* 1992, 38: 2313-8.
- Moro L, Modricki C, Stagni N, et al. High performance liquid chromatography analysis of urinary hydroxylysine glycosides as indicators of collagen turnover. *Analyst* 1984, 109: 1621-8.

23j. PTH-rP

Marco Caputo

(per fisiologia cfr cap 4a, per utilizzo clinico cfr cap 15a4)

Determinazione

PTH-rP può essere dosato nel sangue periferico con metodi immunometrici a due siti. L'indicazione al dosaggio di questa molecola è estremamente limitata a casi specifici di diagnostica differenziale in caso di sospetta ipercalcemia associata a patologia neoplastica.

Tabella 23j.1
PTH-rP

Metodologia adottata	Immunoradiometrica
Campione richiesto	Plasma
Volume minimo	3 mL
Stabilità del campione	Molecola labile: consigliato il prelievo in EDTA con aggiunta di aprotinina (Trasylol), 0.4 <i>Trypsin Inhibitory Units</i> o 1000 <i>Kallikrein Inhibitory Units</i> per mL di campione. Raffreddare la provetta prima del prelievo e mantenerla refrigerata fino ad avvenuta centrifugazione, anch'essa preferibilmente eseguita a 4-8 °C.
Intervallo di riferimento	< 1.3 pmol/L (< 122 pg/mL)

Bibliografia

- Broadus AE, Mangin M, Ikeda K, et al. Humoral hypercalcemia of cancer. Identification of a novel parathyroid hormone-like peptide. *N Engl J Med* 1988, 319: 556–63.
- Cingolani G, Bednenko J, Gillespie MT, Gerace L. Molecular basis for the recognition of a nonclassical nuclear localization signal by importin beta. *Mol Cell* 2002, 10: 1345–53.
- Lam MH, Hu W, Xiao CY, et al. Molecular dissection of the importin beta1-recognized nuclear targeting signal of parathyroid hormone-related protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 282: 629–34.
- Conlan LA, Martin TJ, Gillespie MT. The COOH-terminus of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) interacts with beta-arrestin 1B. *FEBS Lett* 2002, 527: 71–5.

23k. Esami genetici

Marco Caputo

(per utilizzo clinico cfr cap 18a)

I test genetici clinici rappresentano la nuova frontiera delle tecnologie applicate allo studio delle malattie geneticamente determinate. Si basano sull'esame diretto della molecola di DNA e di RNA, ma possono includere anche valutazioni sui prodotti genici, come enzimi e altre proteine, e l'osservazione dei cromosomi in microscopia (in fluorescenza o con altre colorazioni).

È importante comprendere la differenza tra gli esami genetici e gli altri esami di laboratorio. I test genetici sono assolutamente peculiari, in quanto possono:

- fornire la prova diagnostica definitiva di una malattia già manifesta, oppure predirne l'insorgenza con una confidenza statisticamente significativa (caso tipico lo *screening* genetico per la MEN 2a con la ricerca del proto-oncogene *RET*);
- definire lo stato di portatore e il relativo rischio di trasmettere alla prole il gene mutato e la possibile suscettibilità al trattamento.

A fronte di questi vantaggi, esistono però diversi e complessi problemi potenziali che vanno conosciuti e soprattutto spiegati chiaramente ai pazienti. In particolare, alcuni temi etici, come la confidenzialità e la non-discriminazione, richiedono un approccio attento e multidisciplinare, ancora lontano da un'affidabile definizione.

Le principali **applicazioni** dei test genetici riguardano:

- lo *screening* dei portatori, cioè l'identificazione di soggetti non affetti da malattia, ma portatori di una copia di un gene responsabile della malattia, che, per essere espressa fenotipicamente, richiede la presenza di una seconda copia del gene;
- la diagnostica prenatale;
- lo *screening* neonatale;
- la diagnostica presintomatica di malattie a manifestazione nell'età adulta (es. corea di Huntington);
- la diagnostica presintomatica per stimare il rischio di ammalarsi di malattie a insorgenza nell'età adulta (es. alcune neoplasie o il morbo di Alzheimer);
- la diagnostica di conferma per soggetti sintomatici;
- la medicina forense.

Nei test genetici, un campione di DNA viene analizzato al fine di trovare sequenze geniche mutate. Un campione di DNA può essere ottenuto da qualsiasi tessuto, incluso l'osso. In alcuni casi vengono identificati piccoli segmenti, denominati **sonde**, le cui sequenze risultano complementari alle sequenze mutate. Queste sonde andranno a cercare il loro esatto complemento tra i miliardi di paia di basi che compongono un genoma umano. Se tale sequenza è effettivamente presente nel genoma testato, la sonda vi si legherà, segnalando così la presenza della mutazione.

Un altro tipo di test genetico prevede il confronto della sequenza di basi della molecola del paziente con un gene "normale".

Si tratta di metodi generalmente ancora molto costosi, con un costo proporzionale all'estensione delle mutazioni testate, ma i progressi dell'automazione promettono una sostanziale riduzione del costo anche in questo campo.

Attualmente sono disponibili oltre 1000 test genetici diversi, ma, al momento, non esiste alcuna consolidata metodica applicabile di *routine* alla patologia ossea, se escludiamo lo studio

dei portatori delle mutazioni per le neoplasie endocrine multiple, anche se in alcuni campi si sono realizzati importanti progressi (le più recenti proposte riguardano il morbo di Paget - *cf* cap 14a - e l'osteogenesi imperfetta, *cf* cap 14b).

Il Servizio Nazionale inglese offre consulenza sui test disponibili e i laboratori di riferimento cui indirizzarsi (*UK Genetic Testing Network*). Chi è interessato può consultarne agevolmente la *Directory* aggiornata, disponibile in Internet (<http://www.ukgtn.nhs.uk/gtn/Information/Services/Genetic+Testing+Directory>). Al 24/9/2010 erano elencati 498 geni riferiti a 379 malattie (non solo endocrine ovviamente).

È facilmente ipotizzabile che in un prossimo futuro questi esami possano entrare a far parte dell'arsenale diagnostico del laboratorio clinico anche non specializzato.

Bibliografia

Hudson K, Javitt G. *Regulating laboratory-developed tests. Nature Biotechnol* 2009, 27: 419-20.

Kaufman D, Geller G, LeRoy L, et al. *Ethical implications of including children in a large biobank for genetic-epidemiologic research: a qualitative study of public opinion. Am J Med Genet Part C: Semin Med Genet* 2008, 148C: 31-9.

Javitt G. *In search of a coherent framework: options for FDA oversight of genetic tests. Food and Drug Law J* 2007, 62: 617-52.

Hudson K. *Genetic testing oversight. Science* 2006, 313: 1853.

231. cAMP

Romolo Dorizzi

(per fisiologia, cfr cap 4g)

Metodo di determinazione

Classicamente si usava un metodo competitivo, in cui il campione è incubato con cAMP legato a cAMP triziato ed una proteina legante (protein-kinasi o subunità di questo enzima ottenuto da cuore bovino o muscolo scheletrico) con una procedura ad equilibrio per 3 ore a 4°C. L'operazione era eseguita con *charcoal* attivato.

Tabella 231.1
cAMP urinario

Metodologia adottata	RIA
Campione richiesto	Urine delle 24 ore contenenti acido borico
Volume minimo	5 mL
Stabilità del campione	L'urina è stabile a temperatura ambiente per 2 ore, a 2-8 °C per 24 ore, a -20 °C per tre mesi
Intervallo di riferimento	
ARUP	1.2-13.6 nmol/mL
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	1.9-4.6 µmol/g creatinina
Tietz	Maschio < 2.8 mg/die Femmina < 5.2 mg/die

Tabella 231.2
cAMP plasmatico

Metodologia adottata	RIA
Campione richiesto	Provetta da plasma (tappo lavanda) con EDTA
Volume minimo	500 µL
Stabilità del campione	Congelare al più presto, a 2-8°C per 1 ora; a -20°C per 3 mesi
Intervallo di riferimento	
ARUP	15-43 nmol/mL
Massachusetts General Hospital	Non eseguito
Thomas L	8-28 nmol/L
Tietz	Maschio 14-26 nmol/L Femmina 13-23 nmol/L

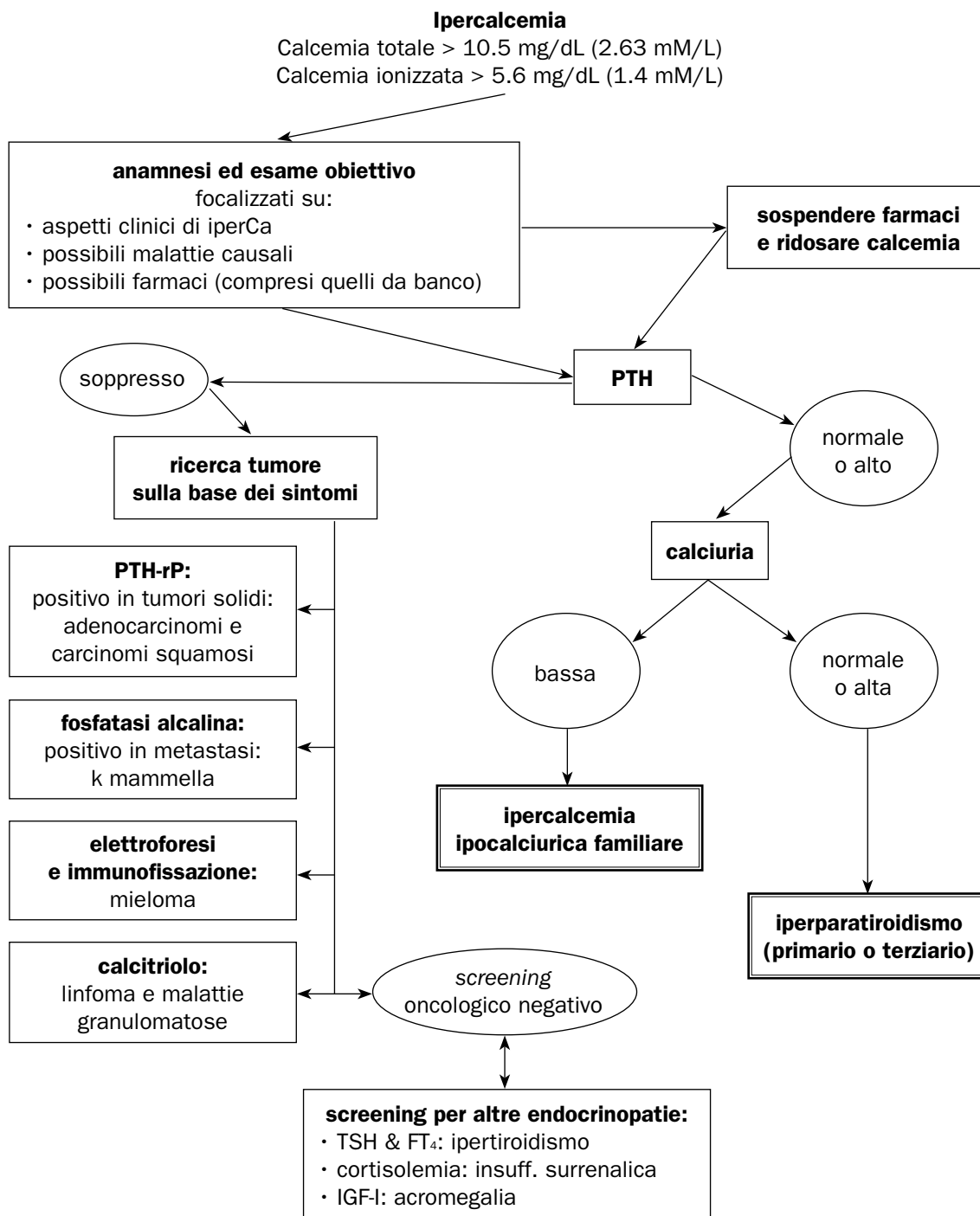
Bibliografia

- Chiang CS, Kowalski AJ. cAMP radioimmunoassay without interference from calcium or EDTA. *Clin Chem* 1982, 28: 150-2.
- Penttilä IM, Heikkinen H, Herranen J, et al. Determination of cyclic 3'-5'-adenosine monophosphate in plasma by RIA methods in the presence of EDTA. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986, 24: 747-50.
- Feinglos MN, Drezner MK, Lebovitz HE. Measurement of plasma adenosine 3',5'-monophosphate. *J Clin Endocrinol Metab* 1978, 46: 824-9.

24. *Flow-chart* diagnostiche

24a. Ipercalcemie

(cfr cap 10a)

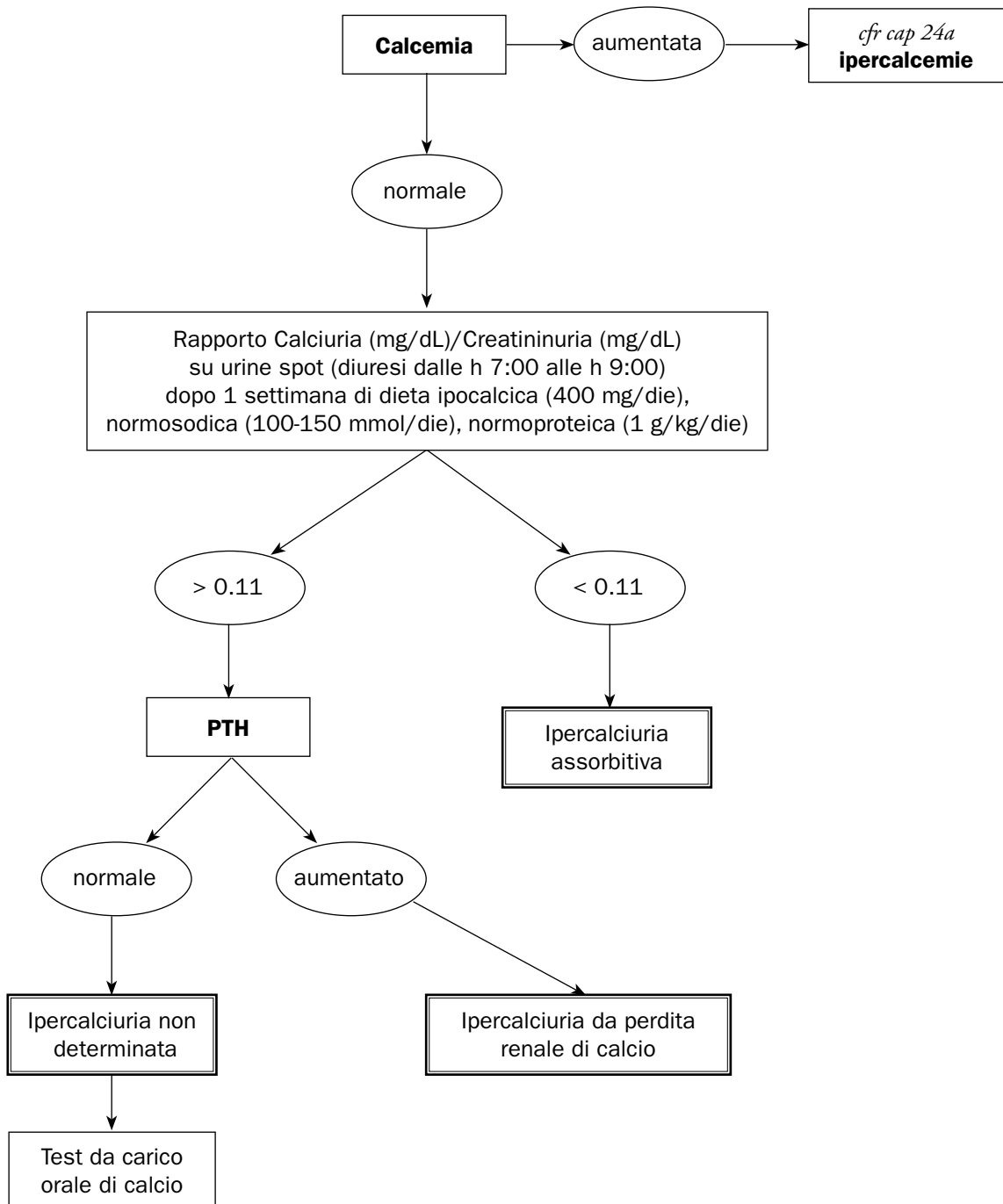


24b. Ipercalciurie

(cfr cap 10b)

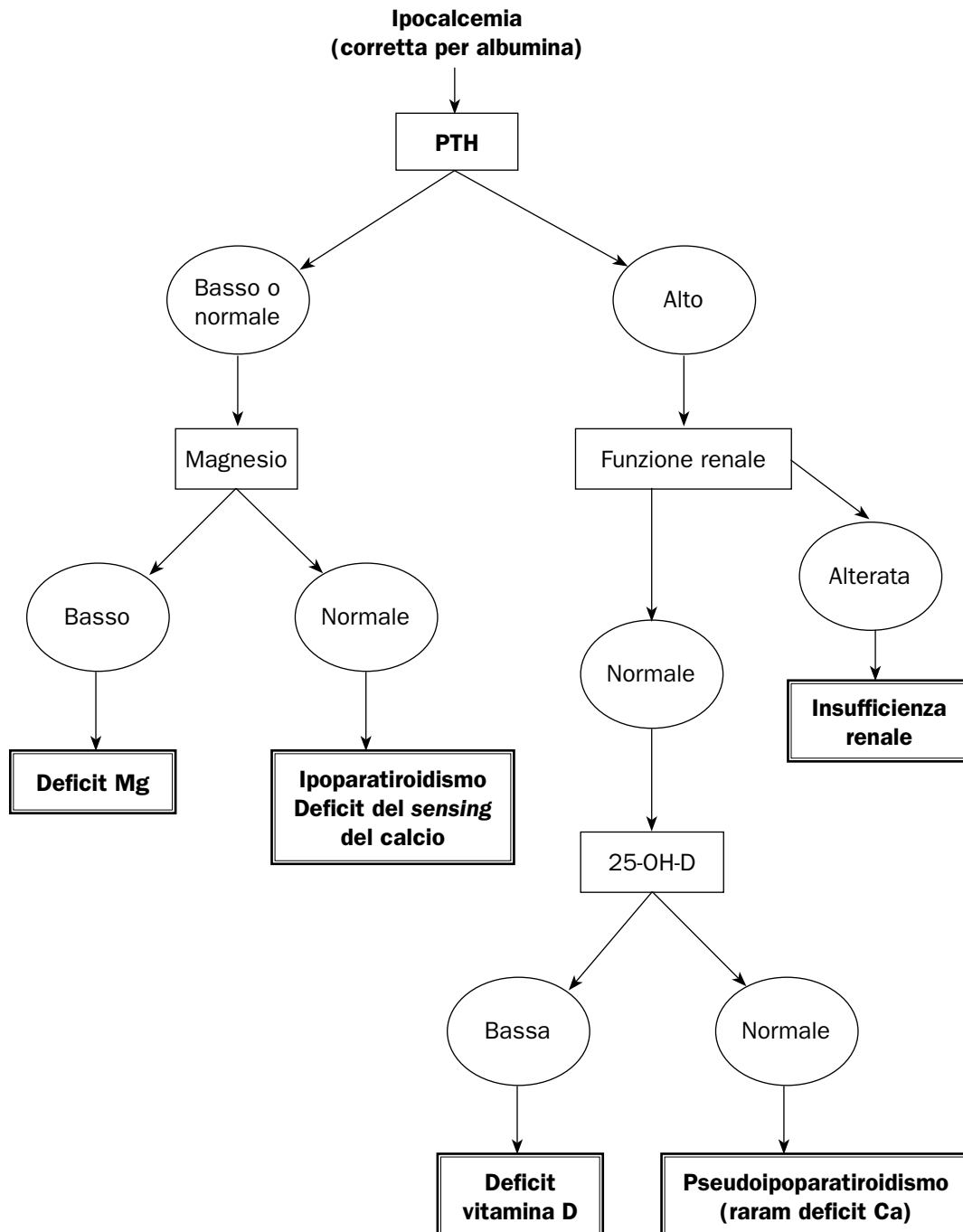
(Modificato da Sella S, Catellan C, Reali G, Giannini S. Bone disease in primary hypercalcaemia.

Clin Cas Bone Mineral Metab 2008, 5: 118-26)



24c. Ipocalcemie

(cfr cap 12)



25. Formule di uso frequente

Legenda generale

- * indica il segno di moltiplicazione
- ^ indica l'elevazione a potenza
- / indica il segno di divisione

BMI (Body Mass Index)

Cos'è	L'indice di massa corporea sintetizza in un solo numero peso e altezza.
A cosa serve	Migliore correlazione (superiore al peso) con morbilità e mortalità.
Parametri necessari per il calcolo	Peso (espresso in kg) Altezza (espressa in metri: esempio 1.80)
Come calcolarlo	$\text{Peso}/(\text{altezza} \times \text{altezza})$
Come calcolarlo con Excel	1. Scrivi il peso nella casella A1 2. Scrivi l'altezza nella casella B1 3. scrivi in C1: =A1/(B1^2) e, dopo aver schiacciato il tasto enter, il risultato comparirà automaticamente 4. (se l'altezza è espressa in cm, scrivi in C1 =A1/((B1/100)^2)) Esempio: kg 77, m 1.81, BMI = 23.5 kg/m²
Parametri di riferimento	Normale: 18.5 ÷ 25. Sovrappeso: 25 ÷ 30 Obeso: 30 ÷ 35 Gravemente obeso: > 35 Sottopeso: 17 ÷ 18.5 Gravemente sottopeso: < 17

Calcemia corretta

Cos'è	Valutazione indiretta di calcemia ionizzata.
A cosa serve	In assenza della determinazione diretta di calcemia ionizzata, consente di sorpassare le alterazioni dipendenti dalle variazioni delle proteine di trasporto.
Parametri necessari per il calcolo	Calcemia totale (in mg/dL). Albuminemia (in g/dL).
Come calcolarla	$\text{Calcemia corretta} = \text{calcemia totale} + [0.8 * (4 - \text{albuminemia})]$
Come calcolarla con Excel	1. Scrivi la calcemia totale nella casella A1 2. Scrivi l'albuminemia nella casella B1 3. Scrivi in C1: =A1+(0.8*(4-B1)) e, dopo aver schiacciato il tasto enter, il risultato comparirà automaticamente Esempio: calcemia totale 7.8, albuminemia 2.7, calcemia corretta = 8.8 mg/dL

Riassorbimento tubulare fosfato

Cos'è	Rapporto percentuale fra <i>clearance</i> dei fosfati e <i>clearance</i> della creatinina
A cosa serve	A valutare l'equilibrio dei fosfati, superando le interferenze dovute a dieta e funzione renale
Parametri necessari per il calcolo	Fosfatemia (in mg/dL) Fosfaturia (in mg/dL) Creatininemia (in mg/dL) Creatininuria (in mg/dL)
Come calcolarlo	$[1 - (\text{Clearance dei fosfati} / \text{clearance della creatinina})] * 100$
Come calcolarlo con Excel	<ol style="list-style-type: none"> 1. Scrivi la fosfatemia nella casella A1 2. Scrivi la fosfaturia nella casella B1 3. Scrivi la creatininemia nella casella C1 4. Scrivi la creatininuria nella casella D1 5. Scrivi in E1: $=(1 - ((B1/A1) * (C1/D1))) * 100$ e, dopo aver schiacciato il tasto enter, il risultato comparirà automaticamente <p>Esempio: fosfatemia 4, fosfaturia 80, creatininemia 0.8, creatininuria 150, TRP = 89.3%</p>
Parametri di riferimento	85-95%

Superficie corporea (formula di Dubois)

Cos'è	Sintetizza in un solo numero peso e altezza.
A cosa serve	È utilizzata per calcolare la dose da somministrare di alcuni farmaci.
Parametri necessari per il calcolo	Peso (espresso in kg) Altezza (espressa in cm)
Come calcolarla	$0.007184 * \text{altezza}^{0.725} * \text{peso}^{0.425}$
Come calcolarla con Excel	<ol style="list-style-type: none"> 1. Scrivi il peso nella casella A1 2. Scrivi l'altezza nella casella B1 3. Scrivi in C1 $=(0.007184 * (B1^{0.725}) * (A1^{0.425}))$ e, dopo aver schiacciato il tasto enter, il risultato comparirà automaticamente <p>Esempio: kg 77, m 1.81, superficie corporea = 1.97 m²</p>

26. Fattori di conversione delle unità di misura convenzionali in Unità Internazionali (SI)

Roberto Attanasio e Romolo Dorizzi

La base delle unità di misura convenzionali è l'unità di massa, il chilogrammo, mentre l'unità di quantità di materia è la mole, che contiene tante entità elementari quanti sono gli atomi in 0.012 chilogrammi di carbonio-12. Mentre la concentrazione di massa si esprime per decilitro, per litro o per millilitro (con confusione e differenze), la quantità di materia si esprime sempre, in maniera univoca, per litro.

Tutti i principali organismi di standardizzazione (tra gli altri, l'Organizzazione Mondiale della Sanità, l'*International Federation of Clinical Chemistry*, la *World Association of Pathology Societies and Laboratory Medicine* e l'*International Committee for Standardization in Hematology*) hanno raccomandato l'impiego in Medicina di Laboratorio delle Unità SI (da Sistema Internazionale) e non di quelle convenzionali per numerose ragioni, tra cui le principali vengono di seguito elencate.

- I processi metabolici che avvengono nelle cellule seguono leggi chimiche che si svolgono in termini di atomi, ioni e molecole (e non di massa): le cellule e i loro recettori non rispondono a modificazioni di massa, ma a modificazioni del numero di molecole.
- La concentrazione di un calibrante è definita senza ambiguità, indipendentemente dalla forma chimica del materiale usato: 10 millimoli contengono la stessa quantità di glucosio, sia che il calibrante sia glucosio anidro o monoidrato (lo stesso non può dirsi per 180 mg/dL).
- L'uso delle Unità SI è appropriato per la maggior parte delle tecniche di misurazione di laboratorio (spettrometria, fluorimetria, immunometria, ...).

A partire dagli anni '70, il sistema SI è stato adottato per le analisi di laboratorio da molti paesi, mentre altri, come l'Italia e gli Stati Uniti, non lo hanno ancora adottato.

Non è difficile passare dalle Unità tradizionali a quelle SI e sarebbe preferibile passare direttamente alle nuove unità di misura, dopo un'adeguata preparazione degli interessati, in maniera omogenea a livello provinciale o regionale, senza periodi intermedi di doppia refertazione.

Per esempio, per calcolare a quante mmol/L corrispondono 100 mg/dL di glucosio si procede come segue:

1. si passa dalla concentrazione di massa per decilitro, alla concentrazione di massa per litro:
 $100 \text{ mg/dL} * 10 = 1000 \text{ mg/L}$;
2. si passa dalla concentrazione di massa per litro alla quantità di materia per litro, dividendo per il peso molecolare (in questo caso 180): $1000/180 = 5.5 \text{ mmol/L}$.

Nella tabella 26.1 sono indicati i fattori di conversione di alcuni dei principali esami.

Tabella 26.1

Analita	Unità Convenzionale	Fattore di Conversione *	Unità SI
25-OH-vitamina D	ng/mL=µg/L	2.496	nM/L
Calcemia	mg/dL	0.25	mM/L
Calcitriolo	pg/mL=ng/L	2.4	pM/L
Calciuria	mg/24h	0.025	mM/24h
cAMP sierico	ng/mL=µg/L	3.04	nM/L
cAMP urinario	µM/g creat	113.1	nM/mM creat
Fosfatasi alcalina	U/L	0.01667	µKat/L
Fosfemia	mg/dL	0.3229	mM/L
Fosfaturia	mg/24h	32.3	mM/24h
Idrossiprolinuria	mg/die/m ²	7.626	µM/die/m ²
Magnesiemia	mg/dL	0.4114	mM/L
Osteocalcina	ng/mL=µg/L	0.171	µM/L
PTH	pg/mL=ng/L	0.11	pM/L

* moltiplica per passare da sinistra a destra (da unità convenzionali a unità SI) e dividi per passare da destra a sinistra (da unità SI a unità convenzionali)

impaginazione e stampa

Scripta s.c.

Via Albere, 19 - 37138 Verona

tel. 045 8102065 - fax 045 8102064

idea@scriptanet.net - www.scriptanet.net

