

This document is categorized as historical per NACB and National Guideline Clearinghouse policy.

ped. in A. P. 45% - art.2 comma 20/b legge 662/96 - n° 150 - Settembre 2001 - Direttore responsabile: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems Sp.A. Genova - Confindere I.P. - Stampat: Tipolitografia NuovaATA Genova

www.medicalsystems.it

ISSN 03

Caleidoscopio

Italiano



The National Academy of Clinical Biochemistry
presenta
Linee Guida Pratiche in Medicina di Laboratorio

Linee guida di laboratorio per lo
screening, la diagnosi e il
monitoraggio del danno epatico

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

150

... il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

Caleidoscopio

Italiano



The National Academy of Clinical Biochemistry

presenta

Linee Guida Pratiche in Medicina di Laboratorio

Linee guida di laboratorio per lo screening, la diagnosi e il monitoraggio del danno epatico

Direttore Responsabile
Sergio Rassa

150

... il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI



INFORMAZIONI GENERALI. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2) Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista *Caleidoscopio* rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendo il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

Dott. Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Caleidoscopio

Italiano

Editoriale

Questa monografia è nata da una conversazione avuta con il dottor Romolo Dorizzi sulla esigenza di stabilire una stretta inter-relazione tra clinico e patologo clinico che porti ad un reciproco arricchimento di competenze ed ad una richiesta ragionata degli accertamenti diagnostici.

Il campo di sperimentazione, scelto prima ancora che venisse individuato questo volume della *The National Academy of Clinical Biochemistry*, venne individuato proprio nella diagnostica legata al danno epatico. Le motivazioni di partenza sono state la sconsolante esperienza di vedere richieste “in blocco” di ricerca dei “marcatori di epatite” come se indifferentemente ciascuno non avesse un suo significato, un suo comportamento temporale ed una sua indicazione.

L’obiettivo di questa monografia è quindi quello di aiutare il clinico nella richiesta corretta degli accertamenti, che rappresentano un insostituibile sostegno nella valutazione e nel monitoraggio di una patologia altrimenti difficilmente valutabile, ed al patologo clinico quello di superare il limite di semplice esecutore o certificatore di un esame effettuato da una macchina per diventare un “consulente” nella valutazione dell’accertamento effettuato o per il quale si deve valutare l’indicazione.

Il volume, individuato successivamente, con il classico pragmatismo anglo-sassone, si presta bene a questa finalità perché affronta ogni esame che oggi viene richiesto per la diagnosi ed il monitoraggio del danno epatico in maniera chiara, esplicita, ricca di quelle informazioni pratiche, che difficilmente è possibile trovarne in un testo classico di Medicina, ma che costituiscono un prezioso contributo alla interpretazione del quadro clinico.

Desidero ringraziare per la disponibilità dimostrata il Dr. Charles D. Hawker e tutto il Comitato della *The National Academy of Clinical Biochemistry* per aver ancora una volta dimostrato la fiducia autorizzandoci a preparare l’Edizione italiana di questo prezioso manuale che fa seguito a quello già pubblicato sulle malattie della tiroide ed agli amici Romolo Dorizzi, Marco Caputo e Laura Masala per aver portato avanti con caparbia ed entusiasmo questo progetto superando le difficoltà iniziali.

Sergio Rassa

**LINEE GUIDA DI LABORATORIO PER LO SCREENING, LA DIAGNOSI E
IL MONITORAGGIO DEL DANNO EPATICO**

EDITOR

D. Robert Dufour,
Chief, Pathology and Laboratory Medicine Service,
Veterans Affairs Medical Center, Washington, DC
Professor of Pathology, George Washington
University School of Medicine,

COMITATO PER LE LINEE GUIDA

John A. Lott
Professor of Pathology, The Ohio State University College of Medicine
Frederick S. Nolte, Associate Professor of Pathology and Laboratory Medicine,
Emory School of Medicine

David R. Gretch
Associate Professor of Laboratory Medicine, University of Washington School of
Medicine

Raymond S. Koff
Professor of Medicine, University of Massachusetts Medical Center

Leonard B. Seeff
Senior Scientist, Hepatitis C Programs, National Institute of Diabetes, Digestive, and
Kidney Diseases, National Institutes of Health; Professor of Medicine, Georgetown
University School of Medicine

*Parti significative di questa monografia sono state pubblicate su Clinical Chemistry e sono qui
riprodotte con il permesso del Direttore del giornale e dell'Editore.*

Linee guida pratiche di medicina di laboratorio (Laboratory Medicine Practice
Guidelines) è la nuova denominazione per il programma della National Academy of
Clinical Biochemistry Standard di Medicina di Laboratorio Standards of Laboratory
Medicine

La parte di questa monografia che tratta delle linee guida dei requisiti degli esami
diagnostici è stata preparata in collaborazione con il Practice Guidelines Committee
della American Association for the Study of Liver Disease.

Copyright ©2000 della National Academy of Clinical Biochemistry

Tradotto con il permesso della National Academy of Clinical Biochemistry da:
Romolo M Dorizzi, Fellow della National Academy of Clinical Biochemistry (Laboratorio
Analisi Chimico Cliniche ed Ematologia, Azienda Ospedaliera di Verona)
Marco Caputo (Laboratorio Analisi Chimico Cliniche ed Ematologia, Azienda Ospedaliera
di Verona)
Laura Masala (Servizio Autonomo di Microbiologia, Immunologia e Virologia, Azienda
Ospedaliera di Verona)

Introduzione

Il danno epatico è evenienza comunemente incontrata nella pratica medica. L'incidenza dell'epatite virale acuta è fortemente diminuita nell'ultima decade a causa dell'introduzione dei vaccini per l'epatite A e B e dello screening per l'epatite C sugli emoderivati. Non si sono registrate variazioni significative dell'incidenza di altre forme di danno epatico acuto mentre si riconosce molto più frequentemente il danno cronico. Negli Stati Uniti si stima che 1 milione di individui sia infettato cronicamente dal virus dell'epatite B, mentre i soggetti con infezione cronica da virus C sarebbero 2.1-2.8 milioni (1). La cirrosi è oggi la nona causa di morte negli USA(2); è previsto un incremento di morti per cirrosi del 223% entro il 2008 e del 360% entro il 2028, a causa dell'evoluzione delle infezioni croniche di epatite C (3). L'incidenza del carcinoma epatocellulare è raddoppiata negli ultimi 20 anni (4) ed è destinata ad aumentare di un ulteriore 68% nei prossimi dieci anni, sempre a causa della comparsa di cancro nei soggetti con infezione da epatite C (3).

La malattia epatica è spesso clinicamente silente fino a stadi avanzati. Per questo motivo gli esami di laboratorio sono spesso indispensabili alla diagnosi e alla caratterizzazione del danno epatico presente. La causa più comune di danno epatico è l'infezione di virus epatotropi, chiamati virus dell'epatite. Per documentare l'esposizione e la presenza di questi virus, ma anche per monitorare la terapia dei pazienti infetti è necessario fare ricorso ad indagini basate sulla sierologia e sulla diagnostica molecolare. Esistono altre *noxae* in grado di provocare danno epatico, soprattutto malattie autoimmuni e alterazioni congenite e acquisite del metabolismo. Gli esami di laboratorio sono fondamentali per l'individuazione di queste altre cause, specialmente quando mancano i segni di infezione virale. Infine, l'esposizione all'alcol e ad altre droghe d'abuso può provocare danno epatico; la clinica riconosce nel modo più affidabile queste cause potenziali di danno epatico.

Le raccomandazioni di questa Monografia si basano sui dati della letteratura. La forza dei dati a sostegno di ogni raccomandazione è quantificata utilizzando i criteri forniti dal Comitato per le Linee Guida Pratiche dell'American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) riassunti nella Tabella 1.

Per ogni raccomandazione i numeri romani da I a IV descrivono la qualità dell'evidenza e le lettere maiuscole da A ad E descrivono la significatività della raccomandazione. Data la natura di queste linee guida sono state utilizzate solo le categorie B ed E.

I	Evidenza basata su trial clinici randomizzati controllati ben progettati e con un numero di pazienti sufficiente all'elaborazione statistica.
II	Evidenza basata su almeno un trial clinico ben progettato, con o senza randomizzazione, da studi coorte o caso-controllo o da meta-analisi ben progettate.
III	Evidenza basata su esperienza clinica, studi descrittivi o rapporti di gruppi di esperti
IV	Non classificata
A	Beneficio sulla sopravvivenza.
B	Miglioramento della diagnosi.
C	Miglioramento della qualità di vita.
D	Miglioramento di parametri fisiopatologici rilevanti.
E	Impatto sui costi sanitari.

Tabella 1. Criteri AASLD per la qualità dell'Evidenza su cui si basa la raccomandazione (numeri romani) e per le categorie interessate (lettere).

Sezione I.

Linee Guida sulle performance degli esami di laboratorio per la funzionalità ed il danno epatico

Specifiche di performance degli esami di laboratorio

Gli esami di laboratorio sono utilizzati per la diagnosi, il monitoraggio e la prognosi di pazienti con epatopatie. L'accuratezza dei risultati è influenzata da numerosi fattori sia pre-analitici che analitici. Le caratteristiche chiave di qualunque esame sono l' inaccuratezza (bias) e l'imprecisione. Il bias è essenzialmente una caratteristica analitica in cui il risultato riportato differisce dal valore vero. L'imprecisione, o mancanza di riproducibilità, è dovuta a variabili sia fisiologiche che analitiche. In condizioni basali, i risultati di esami presentano delle oscillazioni nel singolo individuo a causa di variazioni casuali e prevedibili; questo fenomeno è definito variabilità intra-individuale. Il grado della variazione può aumentare in determinate condizioni, ad esempio l'ingestione di cibo, l'ora del giorno, l'esercizio fisico, una malattia acuta o altre forme di stress. Per molti esami, esistono anche differenze significative tra un soggetto e l'altro, note come variabilità inter-individuale. Nell'interpretare i risultati di un esame di laboratorio al fine di rilevare una alterazione dello stato di salute di un soggetto bisogna tenere in uguale considerazione l'insieme della variabilità intra-individuale, inter-individuale ed analitica.

Le specifiche di performance servono al laboratorio per valutare il grado di variabilità analitica che consenta al clinico di definire lo stato fisiologico di un individuo. Si possono stabilire utilizzando differenti metodi, tra i quali (in ordine decrescente di importanza) studi di outcome medico, dati sulla variabilità biologica, l'opinione del clinico e di società scientifiche, i risultati di schemi di Verifica Esterna di Qualità o direttive governative (5). Gli obiettivi di performance devono indicare l'imprecisione accettabile, il bias e l'errore totale ($\text{bias} + 1.65 * \text{imprecisione}$). Quando l'obiettivo deriva da dati biologici l'imprecisione deve essere inferiore alla metà della variabilità intra-individuale per quell'esame, mentre il bias deve essere inferiore a un quarto della variabilità intra-individuale (cv_i) e inter-individuale (cv_g), calcolata come $1/4(\text{cvi}^2 + \text{cvg}^2)^{1/2}$ (6). La tabella 2 riassume i dati disponibili sulle specifiche di performance e la precisione intra-laboratorio degli esami epatici.

Fonte	Tipo	ALT	AST	ALP	GGT	Albumina	Bilirubina
Specifiche di performance							
CLIA	Obblig.	TE 20	TE 20	TE 30		TE 10	TE 20 o 6.8 $\mu\text{mol/L}$ (0.4mg/dL)
European (7)	Var.	I 13.6	I 7.2	I 3.4	N/S	I 1.4	I 11.3
	Biologica	B 13.6 TE 36	B 6.2 TE 18	B 6.4 TE 12		B 1.1 TE 3.4	B 9.8 TE 28
Ricos (8)	Var.	I 12.2	I 6.0	I 3.2	I 6.9	I 1.6	I 12.8
	Biologica	B 12.2 TE 32	B 5.4 TE 15	B 6.4 TE 12	B 10.8 TE 22	B 1.3 TE 3.9	B 10 TE 31
Skendzel (9)	Opin. Clinico	N/S	TE 26	N/S	N/S	N/S	TE 23
Precisione intra-laboratorio (in percentuale)							
Lott (10)	VEQ	8	9	5	6	N/S	N/S
Ross (11)	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	4.4	8.9

TE = errore totale; I = imprecisione; B = bias; N/S = non specificato

Tabella 2. Specifiche di performance e precisione degli esami epatici (in percento).

Intervalli di riferimento

Per valutare la probabilità che una malattia sia presente, i risultati di un esame vengono solitamente confrontati con i valori ottenuti da individui sani; la distribuzione di questi risultati viene definita intervallo di riferimento, mentre gli estremi alto e basso dell'intervallo si chiamano limiti di riferimento superiore e inferiore, rispettivamente. La maggioranza dei laboratori applica a quasi tutti gli esami del proprio menu un singolo intervallo di riferimento, definito come il 95% centrale dei risultati ottenuti da una popolazione sana. Specialmente nei casi in cui si utilizza un singolo intervallo di riferimento i risultati di un esame risultano alterati per la presenza di numerosi fattori riconosciuti senza indicare assolutamente la presenza di patologia. Nelle successive tabelle e figure sono elencati alcuni di questi fattori.

Per alcuni esami i limiti di riferimento sono definiti dall'outcome salute; esemplificativi i casi della colesterolemia e della glicemia a digiuno. L'uti-

lizzo di questo tipo di limiti di riferimento richiede però un elevato grado di standardizzazione della misura tra laboratori diversi per essere certi che risultati di laboratori differenti abbiano lo stesso tipo di relazione con il limite di riferimento superiore. Anche se i dati disponibili per la ALT sulla probabilità di trasmissione di infezione dopo trasfusione suggeriscono che un limite di riferimento superiore così calcolato possa essere appropriato, la insufficiente standardizzazione delle procedure per la misura di questo enzima tra laboratori diversi rende questo approccio non proponibile, almeno oggi. Non ci sono ulteriori dati disponibili per quanto riguarda gli altri esami per danno e funzionalità epatica.

Aminotransferasi

L'aspartato amino transferasi (AST) e l'alanino aminotransferasi (ALT) sono ampiamente distribuite all'interno delle cellule dell'organismo. L'AST si trova soprattutto in miocardio, fegato, muscolo scheletrico e rene, mentre l'ALT è presente soprattutto nel fegato e nel rene, e in concentrazioni inferiori nel miocardio e nel muscolo scheletrico. Le attività di AST e ALT sono rispettivamente 7000 e 3000 volte più elevate nel fegato che nel siero (12). L'ALT è esclusivamente citoplasmatica; per l'AST si trovano forme citoplasmatiche e mitocondriali in tutte le cellule (13). L'emivita dell'AST totale è 17 ± 5 ore (14). L'emivita dell'AST mitocondriale è mediamente 87 ore (15). Negli adulti, l'attività di AST e ALT è significativamente più elevata nel maschio che nella femmina e gli intervalli di riferimento variano con l'età (Figure 1 e 2).

Fino ai 15 anni l'attività dell'AST è lievemente più alta di quella dell'ALT, e il pattern tende a rovesciarsi nei maschi subito dopo, ma resta inalterato nelle femmine fino ai 20 anni (17). Negli adulti la attività dell'AST tende ad essere inferiore a quella dell'ALT fino a circa 60 anni, dopo di che le due attività tendono ad uguagliarsi. Dato che i limiti di riferimento superiori variano poco per le fasce di età tra i 25 e 60 anni, è superfluo correggere i limiti di riferimento per l'età in questa fascia di popolazione, che comprende la maggioranza dei pazienti con danno epatico cronico. I limiti di riferimento separati sono invece necessari per i bambini e per i soggetti più anziani; per questi casi potrebbe essere necessario un coordinamento su base nazionale per avere un numero di campioni sufficienti a determinare accuratamente i limiti di riferimento.

L'epatopatia è la principale causa per l'incremento dell'attività dell'ALT e

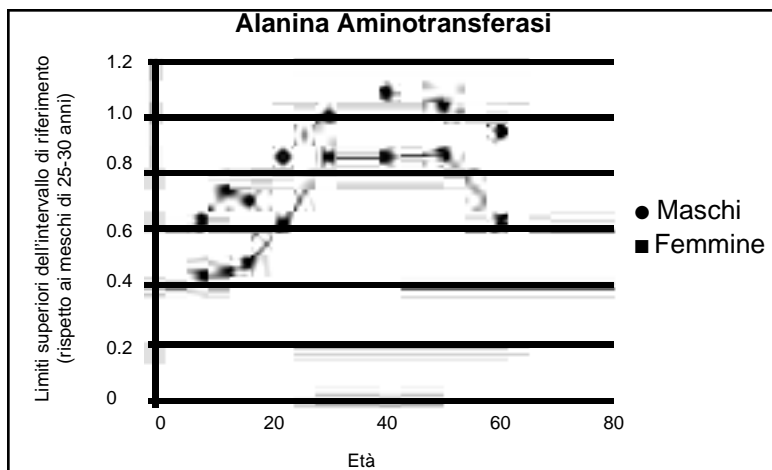


Figura 1. Effetti di età e sesso sui limiti di riferimento superiori per l'ALT. Il limite di riferimento superiore per i maschi nella fascia di età 25-35 anni è fissato a 1 unità di valore relativo. Il limite di riferimento superiore aumenta dall'infanzia fino ai 40 anni con i maggiori incrementi nei maschi; nei quarantenni maschi è circa il 10% più alto che nei venticinquenni. Dopo i 40 anni tende di nuovo a diminuire, in modo più pronunciato nei maschi rispetto alle femmine. I dati sono tratti dal riferimento 16.

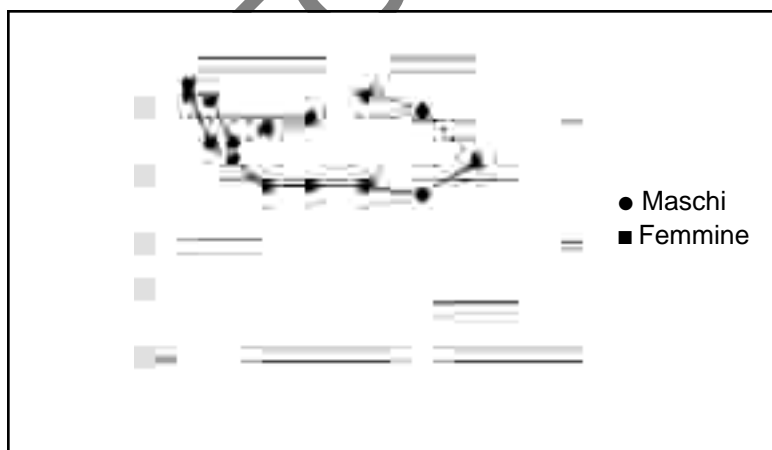


Figura 2. Effetti di età e sesso sui limiti di riferimento superiori per l'AST. Il limite di riferimento superiore per i maschi nella fascia di età 25-35 anni è fissato a 1 unità di valore relativo. Il limite di riferimento superiore aumenta dall'infanzia alla giovinezza, con variazioni molto minori con il progredire dell'età fino a dopo i 60 anni. Per tutte le fasce di età, con l'eccezione dell'infanzia e dell'estrema vecchiaia, il limite di riferimento superiore è circa il 10% più alto nei maschi che nelle femmine. I dati sono tratti dal riferimento 16.

una causa frequente di aumento per l'AST. L'attività di AST e ALT è alterata da numerose altre cause sono riassunte in Tabella 3.

Risultati anomali inattesi di solito si normalizzano quando si ripete la determinazione.

Fattore	AST	ALT	Bibliografia	Commenti
Ora del giorno		45%; più alta di pomeriggio, più bassa di notte	18	Nessuna differenza tra le 9 e le 21; uguale nel sano e nel malato
Giorni dell'anno	5-10% da un giorno all'altro	10-30% da un giorno all'altro	19	Simile nel sano e nel malato, nel vecchio e nel giovane
Razza/Sesso	15% più elevata negli Afro-americani		21	Nessuna differenza significativa per le donne
Indice di massa corporea (BMI)	40-50% più alta con BMI alto	40-50% più alta con BMI alto	17,22,23	Relazione diretta con il peso per AST e ALT
Pasti	Nessun effetto	Nessun effetto	17	
Esercizio fisico	Triplica dopo sforzo intenso	20% inferiori per attività fisiche costanti rispetto a sforzi intensi o a sedentari	24,25	Effetto rilevante nel maschio, minimo nella donna (<10%) aumenti maggiori con l'allenamento intenso
Conservazione del campione	A t.a. stabile 3 g, in frigo 21 giorni (diminuisce 10%) congelata stabile anni (diminuisce 10-15%)	A t.a. stabile 3g, in frigo 21 giorni (diminuisce 10%); marcata diminuzione con scongelamenti-ricongelamenti	26,27,28	Dati relativi a siero separato dalle cellule; stabile solo 1 giorno su sangue intero
Emolisi, anemia emolitica	Incremento significativo	Incremento moderato		Importante il grado di emolisi, di solito molto meno intenso che per LDH
Danno muscolare	Incremento significativo	Incremento moderato		Proporzionale all'aumento di CK
Altro	Macroenzimi	Macroenzimi	29,30	Aumenti stabili della sola AST o ALT

t.a. = temperatura ambiente g = giorno

Tabella 3. Cause di alterazioni per AST e ALT al di fuori del danno epatico.

In quasi tutte le epatopatie la ALT è più elevata della AST; l'eccezione è rappresentata dall'epatite alcolica a causa di numerose motivazioni:

- l'alcol aumenta l'attività della AST mitocondriale nel plasma, contrariamente ad altre forme di epatite (31);
- molte forme di danno epatico riducono l'attività epatocitaria di entrambe le forme di AST, ma l'alcol riduce solo la frazione citosolica (32);
- la carenza di piridossina, comune negli alcolisti, riduce l'attività epatica della ALT (33);
- infine l'alcol provoca il rilascio di AST mitocondriale dalle cellule in assenza di danno visibile (34).

AST e ALT sono tipicamente misurate attraverso l'attività catalitica (35); richiedono entrambe piridossal 5' fosfato (P-5'-P) per un'attività ottimale, nonostante l'effetto di una carenza di P-5'-P sia maggiore per l'ALT che per l'AST (36). Nell'insufficienza renale AST e ALT sono significativamente più basse che nei soggetti sani, forse per la presenza di leganti sierici del P-5'-P, dato che il P-5'-P totale risulta elevato (37). A causa delle notevoli differenze tra laboratori, la standardizzazione dei metodi è una priorità. Nel frattempo l'adozione di sistemi adatti a ridurre le differenze, come ad esempio l'espressione dei risultati come multipli del limite di riferimento, hanno evidenziato la potenzialità di ridurre la variabilità inter-laboratorio (39).

Oggi i limiti di accettabilità per l'errore totale della misura della attività della ALT sono fissati al 20% (CLIA). Ad eccezione dell'ALT, pochi laboratori dispongono di dati clinici per valutare l'affidabilità dei propri esami per la diagnostica delle epatopatie. Si sa poco della variabilità biologica della ALT nelle epatiti croniche, specialmente l'epatite C (HCV), anche se è comunemente affermato che i risultati sono molto variabili. In uno studio su 275 pazienti con HCV diagnosticata il coefficiente di variazione intraindividuale medio era del 38%, ma in un quarto dei pazienti era inferiore al 23% (Dufour, dati non pubblicati). Numerosi studi confermano che con l'ALT all'interno dell'intervallo di riferimento la terapia dell'infezione cronica da HCV non è indicata. E' evidente quindi l'importanza dell'accurata determinazione del limite di riferimento dell'ALT. Letteratura e comitato per le Linee Guida pratiche dell'AASLD concordano sul fatto che i criteri per l'affidabilità diagnostica dell'ALT debbano essere definiti sul limite di riferimento superiore e che gli attuali obiettivi sono inadeguati per la pratica clinica. Dati disponibili per pazienti con ALT stabili suggeriscono di fissare un errore totale < al 10% per il limite di riferimento superiore se si vuole identificare accuratamente un soggetto che verosimilmente trarrà beneficio dalla terapia per HCV. I dati attuali sulla precisione intra-laboratorio (Tabella 2) ci dicono che questo obiettivo con i metodi di oggi non è raggiunto. Sarà probabilmente necessa-

rio sviluppare un programma di standardizzazione per la misura della ALT simile a quello già attuato per il CK-MB che potrebbe prevedere il ricorso ad altri metodi, per esempio immunometrici, per raggiungere il limite di errore totale accettabile per gestire correttamente i pazienti con epatite cronica.

L'errore totale ammesso per la misura della AST è del 15-20%, sia secondo i parametri CLIA sia per quelli basati sulla variabilità biologica, il che soddisfa le attuali necessità cliniche per la diagnosi e la gestione delle epatopatie (9). In realtà il dato dell'AST non è così critico come l'ALT; una percentuale inferiore di risultati è anormale nelle infezioni croniche HCV (66% contro il 71%). E' molto raro che l'AST sia anormale con l'ALT nella norma (6%), tranne che nella cirrosi e nell'abuso alcolico (Dufour, osservazioni non pubblicate).

Raccomandazioni: I metodi per la misura dell'attività della ALT devono avere un errore analitico totale $\leq 10\%$ al limite di riferimento superiore (IIB). I metodi attualmente utilizzati per l'AST, con un errore totale tra il 15 e il 20%, sono adeguati all'uso clinico (IIB).

La standardizzazione dei metodi e delle procedure interlaboratorio è una priorità per l'assistenza. Fino a quando tale obiettivo non sarà raggiunto è necessario considerare l'uso di risultati normalizzati (IIB).

Come requisito minimo, ogni laboratorio deve avere limiti di riferimento superiori separati per maschi e femmine adulti; uno sforzo cooperativo è invece necessario per fissare i limiti di riferimento per bambini e anziani >60 anni (IIB).

Il riscontro inatteso di valori elevati di ALT o AST deve essere considerato solo dopo ripetizione dell'esame; nei soggetti sottoposti ad esercizio fisico intenso la ripetizione dell'esame deve avvenire solo dopo un adeguato periodo di riposo, per quantificare l'appropriatezza del quale sarà indispensabile uno studio ad hoc (IIB, E).

Fosfatasi alcalina

La fosfatasi alcalina (ALP), coinvolta nel trasporto di metaboliti attraverso la membrana cellulare, si trova, in ordine decrescente di concentrazione, nella

placenta, nella mucosa ileale, nel rene, nell'osso e nel fegato. Nell'osso, fegato e rene l'enzima presenta una struttura proteica comune, codificata dallo stesso gene; differisce nel contenuto in carboidrati. L'emivita dell'isoenzima epatico è di 3 giorni (42). Nella Figura 3 sono illustrate le variazioni del limite superiore di riferimento dovute a età e sesso.

L'utilizzo di appropriate popolazioni di riferimento nell'interpretare i risultati della ALP è particolarmente importante per i bambini; molto meno differenziati sono i limiti di riferimento per adulti maschi e femmine nelle fasce di età tra i 25 e i 60 anni. Dopo i 60 anni i limiti di riferimento si alzano nelle donne, anche se gli studi effettuati finora non hanno valutato adeguatamente la presenza di osteoporosi, che può aumentare nel siero l'attività della ALP. Intervalli di riferimento separati sono necessari anche per le donne in gravidanza.

La colestasi stimola nell'epatocita l'attività della ALP; i sali biliari, i detersivi o altri fattori di superficie facilitano il rilascio di ALP dalle membrane cellulari (43, 44). Nella Tabella 4 sono riportati gli altri fattori che influenzano l'attività della ALP.

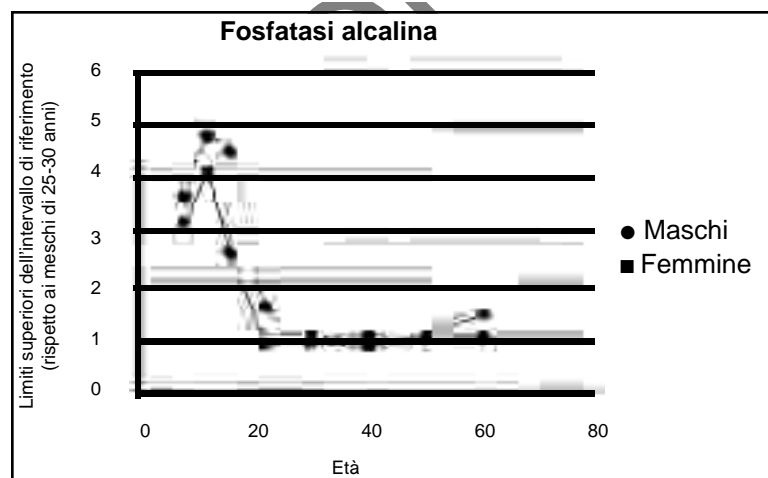


Figura 3. Effetti di età e sesso sui limiti di riferimento superiori per l'ALP. Il limite di riferimento superiore per i maschi nella fascia di età 25-35 anni è fissato a 1 unità di valore relativo. Nei bambini e adolescenti la ALP è più elevata, arrivando ai valori dell'adulto intorno ai 25 anni. I valori sono lievemente più alti nei maschi che nelle femmine fino a tarda età. Il limite di riferimento superiore non subisce variazioni con il passare dell'età per i maschi, mentre aumenta nelle femmine dopo la menopausa. I dati sono tratti dal riferimento 16.

Fattore	Variatione	Bibliografia	Commenti
Circadiano	5-10%	19	Simile per sani e ammalati, vecchi e giovani
Ingestione cibo	Aumento fino a 30 U/L	45, 46	Nei gruppi sanguigni B e 0; resta elevata fino a 12h dopo; dovuto all'isoenzima intestinale
Razza/sexo	più alta negli afro-americani (15% nei maschi, 10% nelle femmine)	21	
Indice massa corporea (BMI)	25% più alta con BMI aumentato	46	
Esercizio fisico	Nessun effetto significativo	25	
Conservazione campioni	Stabile fino a 7 giorni in frigorifero, mesi in congelatore	27	
Emolisi	L'Hb inibisce l'attività enzimatica	47	
Gravidanza	Aumenta di 2-3 volte nel 3° trimestre	48	Dovuto agli isoenzimi placentare e osseo
Fumo	Aumenta del 10%	21, 46	
Contraccettivi orali	Diminuisce del 20%	49	
Altro	Elevata nelle malattie ossee e nei tumori produttori di ALP. Diminuita dopo enterite grave (bambini) e nell'ipofosfatasia	47	Si differenziano da cause epatiche valutando gli isoenzimi ALP e/o la GGT normale
h = ore	Hb = emoglobina		

Tabella 4. Cause di alterazione della ALP di fuori del danno epatico.

Il metodo più diffuso per la determinazione della ALP totale è quello di Bowers, McComb e Kelly, che utilizza il p-nitrofenilfosfato (50). La presenza di agenti complessanti come citrato, ossalato o EDTA blocca cationi come zinco e magnesio, cofattori necessari alla misura dell'ALP, producendo valori falsamente bassi, fino allo zero. Una trasfusione di sangue (che contiene citrato) provoca una diminuzione temporanea della ALP con un meccanismo simile.

La separazione delle forme tissutali non specifiche della ALP (osso, fegato, rene) è complicata dalla notevole affinità strutturale; le tecniche più utili a tale scopo sono l'elettroforesi ad alta risoluzione e l'isoelettrofocalizzazione. La ALP ossea può essere misurata dopo inattivazione al calore (metodo scadente), immunologicamente o con metodi elettroforetici. Sono oggi disponibili numerosi metodi immunologici (51) per il monitoraggio di pazienti con patologie ossee. Data la buona correlazione tra l'incremento dell'ALP di origine epatica e il contemporaneo incremento di altri enzimi canalicolari, per esempio la γ -glutamilttransferasi (GGT), questo criterio può essere utile nella identificazione di una epatopatia, anche se non è possibile escludere la coesistenza di una patologia ossea (52).

Contrariamente alla maggior parte degli enzimi, la variabilità intra-individuale della ALP è bassa, in media leggermente superiore al 3% (Tabella 2). L'attuale imprecisione media intra-laboratorio è del 5% ed è vicina a quella raccomandata; un errore totale del 10-15% soddisfa il target fissato sulla base dei soggetti sani. Per l'uso clinico il limite del 30% fissato dal CLIA sembra troppo alto e andrebbe abbassato.

Raccomandazioni: I metodi per la determinazione dell'attività della ALP devono avere un errore analitico totale $\leq 10 - 15\%$ al limite di riferimento superiore (IIIB).

Sono necessari limiti di riferimento separati per bambini (basati su età e sesso) e per le donne in gravidanza. Per gli adulti è sufficiente un unico intervallo di riferimento (IIB).

Il campione per la determinazione della ALP deve essere prelevato a digiuno; in caso contrario bisogna ottenere un altro campione sicuramente a digiuno prima di trarre conclusioni diagnostiche (IIB, E).

La determinazione degli isoenzimi dell'ALP o di altri enzimi associati (come la GGT) è necessaria solo quando l'origine di un valore anomalo non è chiaramente riconoscibile con la clinica ed il laboratorio (IIIB, E).

Gamma glutamil transferasi

La gamma glutamil transferasi (GGT) è un enzima legato alla membrana cellulare ed è presente in ordine decrescente di concentrazione nelle cellule del tubulo renale prossimale, nel fegato, nel pancreas (duttuli e cellule acinari) e nell'intestino. L'attività della GGT nel siero deriva principalmente dal fegato. L'emivita dell'enzima nell'uomo va da 7 a 10 giorni; nel danno epatico associato all'alcol l'emivita aumenta fino a 28 giorni probabilmente per clearance ridotta. Le variazioni della GGT legate ad età e sesso sono riassunte nella Figura 4.

Nell'adulto è giustificato adottare un unico intervallo di riferimento nella fascia di età 25 – 80 anni. Anche se i soggetti di origine africana mostrano limiti di riferimento superiori circa doppi, è molto difficile referitare valori con intervalli di riferimento corretti per la razza, data la difficoltà di ottenere informazioni sulle caratteristiche razziali dei pazienti. Nelle donne e nei bambini i limiti di riferimento superiori crescono gradualmente con l'età ma sono considerevolmente inferiori a quelli dei maschi adulti. Uomini e donne devono aver limiti di riferimento separati e così pure donne e bambini nelle diverse fasce di età. Nei bambini è probabilmente necessario un lavoro collaborativo per avere un numero sufficiente di dati elaborabili di bambini sani.

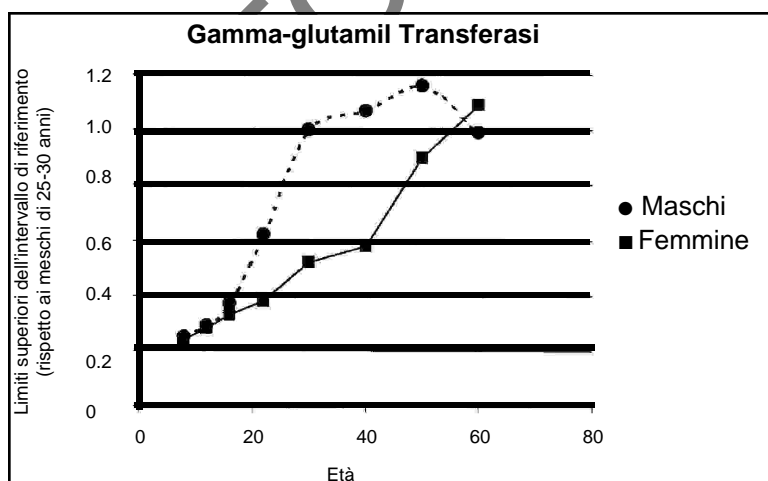


Figura 4. Effetti di età e sesso sui limiti di riferimento superiori per GGT. Il limite di riferimento superiore per i maschi nella fascia di età 25-35 anni è fissato a 1 unità di valore relativo. Il limite di riferimento superiore aumenta nel corso degli anni, in modo più marcato per le femmine che per i maschi. Prima dei 50 anni, il limite di riferimento superiore è 25-40% più alto nei maschi, ma le differenze diminuiscono con il procedere dell'età. I dati sono tratti dal riferimento 16.

La GGT è leggermente più sensibile dell'ALP nella malattia epatica ostruttiva. Si eleva in media del 13% oltre il limite di riferimento superiore nel 93-100% delle colestasi, contro un aumento medio dell'ALP pari a tre volte nel 91% dello stesso gruppo (52, 53, 54). L'aumento nella colestasi pare dovuto allo stesso meccanismo dell'ALP (54, 55). La GGT aumenta nell'80-95% dei pazienti con qualsiasi forma di epatite acuta (55, 56). Altre cause di aumento sono riassunte in Tabella 5.

Fattore	Variazione	Bibliografia	Commenti
Circadiano	10-15%	19	Simile nel malato e nel sano, nel vecchio e nel giovane
Razza	Circa il doppio negli Afro-americani	21	Simile per uomo e donna
Indice Massa Corporea (BMI)	25% più alta per aumenti moderati; 50% più alta per BMI>30	22	Simile per uomo e donna
Ingestione cibo	Diminuisce dopo i pasti; aumenta con il digiuno	57	
Esercizio fisico	Nessun effetto significativo	57	
Conservazione campione	Stabile fino a 7 giorni in frigo, mesi in congelatore	47	
Gravidanza	25% più bassa nel primo periodo	58, 59	
Farmaci	Aumenta con carbamazepina, cimetidina, furosemide, eparina, isotretinoina, metotressate, contraccettivi orali, fenobarbitale, fenitoina, acido valproico	60	Valori solitamente doppi del limite di riferimento possono arrivare a 5 volte, specie per la fenitoina
Fumo	10% più alta con 1 pacchetto/giorno; raddoppia per consumi maggiori	57	
Consumo alcol	Relazione diretta tra consumo ed aumento	57, 61	Può restare elevato per settimane dopo la sospensione

Tabella 5. Cause di aumento di GGT al di fuori del danno epatico.

Pazienti con diabete, ipotiroidismo, artrite reumatoide e pneumopatia ostruttiva hanno spesso valori aumentati per motivi in gran parte sconosciuti. Dopo un infarto acuto del miocardio la GGT può restare anormale per settimane (62). In questi casi il valore predittivo della GGT per epatopatia (63) è basso (32%).

La Federazione Internazionale di Chimica Clinica (IFCC) propone il metodo di Shaw (64) che è il più diffuso tra i laboratori. Si ottiene una precisione del 10% con livelli di attività enzimatica inferiori alla metà del limite di riferimento superiore; per valori circa doppi del limite di riferimento superiore la precisione è del 5%. Gli obiettivi prestazionali per la GGT sono essenzialmente basati sulla variabilità biologica con limiti di tolleranza per l'errore totale di circa 20%, adeguati a fini clinici data la limitata utilità pratica del dosaggio della GGT.

Raccomandazioni: Il metodo per il dosaggio dell'attività della gamma glutamil transferasi deve avere un errore analitico totale $\leq 20\%$ al limite di riferimento superiore (IIB).

Si raccomanda di utilizzare campioni prelevati al mattino a digiuno (IIB).

Un unico limite di riferimento superiore è appropriato per i maschi adulti, mentre sono necessari limiti separati, basati sull'età, per bambini e donne adulte (IIB).

Mancando di specificità, il dosaggio della GGT deve essere utilizzato solo per indicazioni precise, per esempio verificare la causa di una aumentata fosfatasi alcalina (IIB, E).

Bilirubina

La produzione giornaliera di bilirubina non coniugata varia da 250 a 350 mg, e deriva principalmente dal catabolismo eritrocitario (65). I valori normali della clearance sono 5 mg/kg/giorno (400 mg/giorno) nell'adulto e non variano significativamente con l'emolisi (66). L'emivita della bilirubina non coniugata è < 5 minuti (67). L'UDP glicuronil transferasi catalizza la rapida coniugazione nel fegato della bilirubina, che viene poi escreta nella bile ed è praticamente assente nel sangue circolante degli individui sani. La bilirubina delta (δ -bilirubina, talvolta definita biliproteina) si produce dalla

reazione della bilirubina coniugata con l'albumina (68). L'emivita di 17 – 20 giorni giustifica l'ittero prolungato nei pazienti in convalescenza da un'ostruzione o un'epatite (69). La Figura 5 illustra le variazioni dei limiti di riferimento della bilirubina dovute a sesso ed età. L'aumento della bilirubina coniugata è altamente specifico per malattia epatica o delle vie biliari. (70). Un aumento di bilirubina coniugata si può verificare anche per alterata escrezione bilirubinica energia-dipendente nella sepsi, nella nutrizione parenterale totale e dopo interventi chirurgici (71). Nella ripresa dopo epatite o ostruzione la bilirubina coniugata diminuisce rapidamente, mentre la -bilirubina diminuisce solo gradualmente. La sindrome di Gilbert, presente nel 5% della popolazione, provoca una moderata iperbilirubinemia non coniugata a causa della difettosa attivazione della UDP glicuronil transferasi associata ad una diminuita captazione di ioni organici (73, 74). La bilirubina totale supera raramente le 68-85 $\mu\text{mol/L}$ (4-5 mg/dl), anche dopo digiuno prolungato, a meno della presenza contemporanea di altri fattori (75) capaci di aumentare la bilirubinemia, riassunti nella Tabella 6.

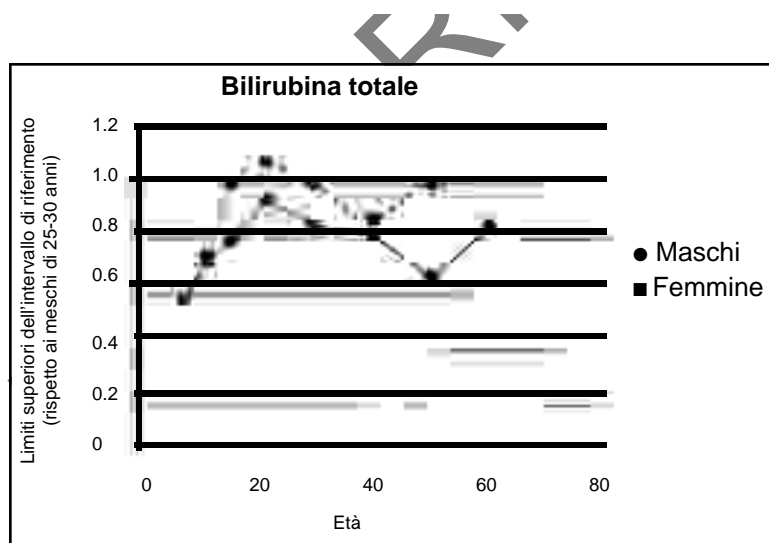


Figura 5. Effetti di età e sesso sui limiti di riferimento superiori per la Bilirubina Totale. Il limite di riferimento superiore per i maschi nella fascia di età 25-35 anni è fissato a 1 unità di valore relativo. Il limite di riferimento superiore aumenta nel corso degli anni, raggiungendo l'acme intorno ai 20 anni; successivamente i valori diminuiscono con il progredire dell'età. In tutte le fasce di età i valori sono più alti nei maschi che nelle femmine, ma le differenze sono minime agli estremi della vita. I dati sono tratti dal riferimento 16.

Fattore	Variazione	Bibliografia	Commenti
Circadiano	15-30%	19	
Ingestione di cibo	Aumenta mediamente 1-2 volte col digiuno superiore alle 48 h	76, 77	20-25% più alta dopo digiuno notturno che dopo i pasti
Razza	33% più bassa nei maschi afro-americani; 15% più bassa nelle donne afro-americane	21, 78	In confronto ai valori di altri gruppi etnici
Esercizio fisico	30% più alta nei maschi	25	Nelle donne nessun effetto significativo
Esposizione alla luce	Cala fino al 50% in 1h	79	Più evidente sulla frazione non coniugata
Gravidanza	Diminuisce del 33% dal secondo trimestre	48	Simile nel secondo e terzo trimestre
Emolisi	Interferisce in certi metodi	49	L'emoglobina assorbe alla stessa della bilirubina
Contraccettivi orali	15% più bassa	49	
Anemia emolitica	Aumenta la frazione non coniugata	47	
h = ora			

Tabella 6. Fattori che alterano la bilirubina al di fuori del danno epatico.

Solitamente la bilirubina viene misurata come quantità totale e come "reazione diretta" o bilirubina "diretta"; sottraendo la diretta dalla totale si ottiene la bilirubina "indiretta". Con la reazione "diretta" si misura quasi tutta la -bilirubina e la bilirubina coniugata, oltre ad una frazione variabile ma generalmente piccola di bilirubina non coniugata (79, 80). La reazione della bilirubina non coniugata nella forma diretta è favorita da pH elevati e dalla presenza di agenti lubrificanti; per prevenire il fenomeno è necessario aggiungere al reagente per la bilirubina "diretta" almeno 50 $\mu\text{mol/L}$ di HCl (81). La luce può trasformare la bilirubina non coniugata in un fotoisomero che reagisce direttamente (79); provoca anche una diminuzione della bilirubina totale di 0.34 $\mu\text{mol/L/h}$ (0.02 mg/dL/h). La spettrofotometria diretta (metodi in chimica secca) misura singolarmente la frazione coniugata e la non coniugata, e calcola poi la -bilirubina come differenza tra la somma di queste e la bilirubina totale. È stato suggerito che la bilirubina coniugata sia superiore alla "diretta" nella valutazione della guarigione dopo epatopatia (82).

Gli obiettivi prestazionali per la misura della bilirubina consentono un errore totale del 20% (CLIA) o 30% (variabilità biologica). Per il clinico una variazione del 23% ai limiti di riferimento superiori ha significatività clinica (9). Gli obiettivi del CLIA sembrano quindi riflettere una precisa esigenza clinica. A concentrazioni elevate, una variazione del 5% può già essere considerata clinicamente significativa. E' quindi importante completare l'indicazione del massimo errore totale consentito con l'indicazione della concentrazione di bilirubina.

Raccomandazioni: I metodi per la misura della bilirubina devono avere un errore analitico totale $\leq 20\%$ (o $6.8 \mu\text{mol/L}$ [0.4 mg/dL]) al limite di riferimento superiore (IIB).

Sono da utilizzare limiti di riferimento superiori separati per maschi e femmine. Anche se i limiti di riferimento superiori si abbassano con l'età, modesti aumenti di bilirubina hanno poco significato e non c'è quindi bisogno di limiti di riferimento superiori corretti per l'età. Nei bambini, invece, bisogna usare intervalli di riferimento separati (IIB).

Albumina

L'albumina è la proteina plasmatica prodotta dagli epatociti che raggiunge la concentrazione maggiore. La velocità di produzione dipende da numerosi fattori, tra cui il rifornimento di amino-acidi, la pressione oncologica plasmatica, i livelli di citochine inibitorie (soprattutto la IL-6) e il numero di epatociti funzionanti (83). L'emivita dell'albumina plasmatica è normalmente di 19-21 giorni. La concentrazione plasmatica è più bassa nel neonato, 24-44 g/L. Entro la prima settimana di vita si raggiungono i valori dell'adulto, 37-50 g/L; la produzione aumenta fino ad arrivare a 45-54 g/L a 6 anni e mantenersi a queste concentrazioni per tutta l'adolescenza e la giovinezza e diminuire nuovamente ai valori tipici dell'adulto. Non c'è alcuna differenza significativa dei limiti di riferimento per maschi e femmine (84). L'aumento dell'albuminemia è tipicamente causato dalla emocostrazione, vuoi per disidratazione, evaporazione del campione o stasi prolungata da laccio emostatico. Le principali cause di diminuzione sono invece la perdita proteica (sindrome nefrosica, ustioni, enteropatia proteino-disperdente) aumentato turnover (stati catabolici, glicocorticoidi), diminuito introito proteico (malnutrizione, diete a minimo contenuto proteico) e malattie epatiche. Raramente l'albumina plasmatica diminuisce in corso di epatite acuta, data la sua lunga emivita, ma nelle epatiti croniche l'albumina diminuisce pro-

porzionalmente alla progressione in cirrosi. Nella cirrosi l'albumina è un marcatore di scompenso e prognosi.

L'albumina si misura comunemente con metodi che sfruttano il legame con coloranti, soprattutto verde e porpora di bromocresolo; i metodi al verde di bromocresolo possono sovrastimare l'albumina (85), anche se le differenze tra i due metodi sono modeste (83). La porpora di bromocresolo sottostima l'albumina nell'insufficienza renale (86) e nei pazienti con aumento di -bilirubina (87), rendendolo inadeguato per pazienti itterici. La stima indiretta dell'albumina dal tracciato elettroforetico non è raccomandata data la significativa sovrastima dovuta all'avidità per il colorante (83). Per l'albumina sono disponibili anche degli immunodosaggi, per la verità non molto usati per il plasma (88).

Gli obiettivi prestazionali per l'albumina basati sulla variabilità biologica sono fissati attorno al 4%, mentre il CLIA consente un errore del 10%. In clinica l'indicazione appropriata al dosaggio plasmatico dell'albumina nelle epatopatie è il riconoscimento dello stato cirrotico e il suo monitoraggio prognostico; per questo si richiedono significative variazioni dai limiti di riferimento. I survey del College of American Pathologists indicano che solo il 2% dei laboratori è in grado di rispettare i limiti di errore totale basati sulla variabilità biologica. È opinione del Comitato che i limiti fissati dal CLIA siano adeguati a scopi clinici.

Raccomandazioni: A scopi clinici, un errore totale <10% ai limiti di riferimento inferiori è adeguato; l'obiettivo ideale, basato sulla variabilità biologica, non è alla portata della maggioranza degli attuali laboratori (IIB).

Nei pazienti epatopatici sono da preferirsi i metodi al verde di bromocresolo. La porpora di bromocresolo e l'estrapolazione da tracciati elettroforetici possono essere metodi inaccurati (IIB).

Tempo di Protrombina

Il Tempo di Protrombina (PT) misura il tempo richiesto per la formazione del coagulo dopo aggiunta di Fattore Tessutale e fosfolipidi; è condizionato da variazioni di attività dei fattori X, VII, V, II (protrombina) e I (fibrinogeno). Tutti questi fattori sono sintetizzati nel fegato e tre di questi (II, VII, X) sono attivati da enzimi vitamina K-dipendenti con l'aggiunta di un secondo

gruppo -carbossilico sui residui di acido glutammico. La Warfarina, un antagonista della vitamina K, provoca anticoagulazione mediante inibizione della -carbossilazione, rendendo i fattori incapaci di legare il calcio e diminuendo la loro attività. I soggetti in terapia con Warfarina sintetizzano una normale quantità di precursori dei fattori della coagulazione che sono però inattivi e sono chiamati PIVKA (*proteine indotte da antagonisti della vitamina K*). Per misurare il PIVKA più abbondante, la des- -carbossiprotrombina, esiste oggi un immunodosaggio. Il PT è relativamente poco sensibile alla carenza di ogni singolo fattore; non c'è alcun aumento significativo fino ad un crollo di concentrazione sotto il 10% del normale (89).

Il PT è normalmente refertato in secondi e confrontato con il valore di riferimento per il paziente. Il tempo richiesto perché un campione coaguli è inversamente proporzionale alla quantità di Fattore Tessutale presente nei reagenti. Per minimizzare la variabilità del PT tra reagenti con differenti quantità di Fattore Tessutale è stato assegnato a ciascuno di essi un indice di sensibilità internazionale (International Sensitivity Index, ISI); minore la quantità di Fattore Tessutale minore il valore dell'ISI e più lungo il tempo di protrombina. Per tener conto dei differenti ISI dei reagenti occorre utilizzare il rapporto internazionale normalizzato (International Normalized Ratio, INR), il cui valore si calcola dalla seguente formula:

$$\text{INR} = \left[\frac{\text{PT paziente}}{\text{PT medio controllo}} \right]^{\text{ISI}}$$

L'uso di reagenti con ISI basso migliora la riproducibilità della misura espressa come INR, ed è quindi ideale per il monitoraggio della terapia anti-coagulante orale (TAO).

L'effetto dell'ISI è molto più rilevante quando si utilizza nel monitoraggio della TAO che non nella malattia epatica, perché l'INR non riflette accuratamente l'inibizione coagulativa che si verifica in questo caso (89, 91, 92). Un campione da paziente in trattamento warfarinico può avere un PT di 20 secondi con reagenti ad elevato ISI e 40 secondi se si utilizzano reagenti a basso ISI, ma l'INR è praticamente identico con entrambi i reagenti (89). Perciò l'INR normalizza i risultati dei pazienti in warfarina, nonostante l'uso di reagenti con ISI differenti. Nelle epatopatie utilizzando reagenti a basso ISI si ha solo un leggero aumento del PT. Per esempio, un campione di un paziente epatopatico ha un PT di 20 secondi con reagenti con ISI alto, ma è di soli 23.6 secondi utilizzando reagenti a basso ISI. Contrariamente al paziente in TAO,

dove l'INR era praticamente identico nonostante l'uso di reagenti a differente ISI, in questo caso l'INR è di 2.90 con reagenti a ISI elevato e 1.86 con reagenti a ISI basso (89). Utilizzando reagenti a basso ISI, quindi, si sottostima marcatamente il grado di alterazione della cascata coagulativa nella malattia epatica. Una possibile spiegazione di questo fenomeno è la quantità molto diversa di protrombina nativa rispetto alla des- -carbossiprotrombina presente nelle due situazioni. I pazienti in TAO hanno elevate concentrazioni di des- -carbossiprotrombina e poca protrombina nativa, mentre i pazienti con epatite acuta o cirrosi sono carenti di protrombina nativa e hanno solo quantità modeste di des- -carbossiprotrombina (93). Alcuni preparati di Fattore Tessutale sono inibiti dalla des- -carbossiprotrombina (93).

Il PT è riproducibilmente allungato, di solito almeno 3 secondi oltre la media della popolazione, nell'epatite acuta ischemica (94, 95) e tossica (96), ma molto raramente supera i 3 secondi nell'epatite virale (97) o alcolica (98, 99). E' spesso allungato nell'ittero ostruttivo e può rispondere alla somministrazione parenterale di vitamina K. Nell'epatite cronica il PT è tipicamente all'interno dei limiti di riferimento, ma si allunga contemporaneamente alla progressione verso la cirrosi, dove resta allungato (100). Altri fattori che influenzano il PT sono riassunti in Tabella 7.

Fattore	Variazione	Bibliografia
Conservazione del campione	Nessuna variazione a t.amb. fino a 3 g; il raffreddamento causa pseudo-accorciamenti	101
Concentrazione di citrato	Una concentrazione al 3.2% minimizza i problemi	102
Riempimento della provetta non idoneo	Pseudo-allungamenti	102
Ematocrito alto	Pseudo-allungamenti	102
Altri fattori	Warfarina, malassorbimento, carenza vit.K e farmaci che ne riducono la produzione (antibiotici, derivati acido fibrinico); si allunga nelle coagulopatie da consumo	
T. amb. = Temperatura ambiente; g = giorni		

Tabella 7. Fattori che influenzano il Tempo di Protrombina.

Un ulteriore problema è costituito dal fatto che reagenti con lo stesso ISI danno risultati differenti utilizzando strumenti diversi, anche dello stesso modello (103). Come se non bastasse, reagenti con lo stesso ISI ma di produttori differenti danno INR diversi per lo stesso campione (104). La riproducibilità dei risultati del PT in laboratori che utilizzino stessi strumenti e reagenti è del 3-8% quando il tempo di Protrombina è allungato; la variabilità è maggiore per l'INR che per il tempo di protrombina stesso. All'interno dello stesso laboratorio la variabilità media dell'INR è stimata essere $\pm 10\%$ (105). La differenza tra laboratori che usano reagenti differenti può essere notevole; in uno studio è stata stimata del 20% (104). Del tutto recentemente si è potuto dimostrare che l'introduzione di plasmi calibranti per definire l'ISI in ogni laboratorio per i propri strumenti e reagenti può significativamente migliorare la riproducibilità dell'INR (104, 106, 107).

Raccomandazioni: Nei pazienti epatopatici i risultati del tempo di protrombina devono essere espressi in secondi e non in INR; questo tuttavia non standardizza i risultati inter-laboratorio (IIB).

Sono necessari ulteriori studi per la standardizzazione dei reagenti e l'uso di indici derivati (attività percentuale, INR) nei pazienti epatopatici (IVB).

Ammoniaca (NH₃)

L'ammoniaca è un prodotto del metabolismo degli aminoacidi; è eliminata soprattutto durante la sintesi epatica dell'urea. Una importante sorgente di ammoniaca nei cirrotici sembra essere l'*Helicobacter pylori* nello stomaco (108). Si trovano alte concentrazioni nei deficit enzimatici del ciclo dell'urea (110), nella sindrome di Reye (111) e nelle encefalopatie epatiche acute e croniche (112, 113). Aumenti moderati si osservano anche in pazienti con epatite cronica, in rapporto alla estensione della malattia (114). L'utilizzo di questo parametro per monitorare i pazienti con encefalopatia è controverso; alcuni studi hanno mostrato una buona correlazione con il grado di encefalopatia (111, 113) mentre altri no (115). L'NH₃ sembra aumentare gli effetti dell'acido aminobutirrico (GABA) (116) ed aumenta i recettori per le benzodiazepine (117); GABAe benzodiazepine sono entrambi implicati nella patogenesi dell'encefalopatia epatica. D'altro canto, il quadro clinico di soggetti con iperammoniemia isolata non è identico a quello di pazienti con encefalopatia epatica (118). Altri fattori di alterazione dell'NH₃ sono riassunti in Tabella 8.

E' necessario separare il plasma entro 1 ora dal prelievo, ma negli epatopatici il tempo ideale è entro 15 minuti (120, 122).

Fattore	Variazione	Bibliografia	Commenti
Età	4-8 volte più alto nei neonati; 2-3 volte più alto nei bambini <3 anni; dopo questa età concentrazioni analoghe a quelle degli adulti	119	
Origine campione	Più alto nel sangue arterioso, soprattutto nelle nefropatie ed epatopatie. Pseudo-aumenti nel sangue capillare se la pelle non è detersa dal sudore	112, 120	Solo l'ammoniaca arteriosa correla con le alterazioni di funzionalità epatica. L'uso del laccio e la contrazione del pugno sono sufficienti ad aumentare artificialmente l' NH_3
Esercizio fisico	Aumenta fino a 3 volte	121	Più nel maschio che nella femmina
Fumo	Aumenta di 10 $\mu\text{mol/L}$ per ogni sigaretta	120	
Ritardo nell'analisi	Aumenta a causa del metabolismo cellulare: 20% in 1 ora e 100% in 2 ore	122	L'aumento è minimizzato usando ghiaccio, centrifugazione rapida e separazione del plasma. La velocità di incremento è maggiore nelle epatopatie per l'elevata attività della GGT
Altri fattori	Aumenta nella leucemia acuta, emotrasfusioni, trapianto di midollo, shunt porto-sistemici, sanguinamenti GI e diete iperproteiche	123, 124	
Farmaci	Acido valproico e glicina (usata nelle irrigazioni durante le resezioni prostatiche ed endometriali) ne aumentano la produzione	125, 126	

Tabella 8. Fattori che influenzano l'ammoniaca al di fuori del danno epatico.

Per l' NH_3 sono correntemente utilizzati metodi diversi (120), in prevalenza enzimatici. Un produttore propone la tecnologia su lastrina con pH alcalino per convertire l'ammonio in ammoniaca e misurarla con il blu di bromofenolo. La riproducibilità intra-laboratorio utilizzando lo stesso metodo varia dal 10 al 20% con differenze inferiori al 10% per i valori medi con metodi differenti (127).

Raccomandazioni: La misura dell'ammoniaca plasmatica non è raccomandata nella diagnosi e nel monitoraggio dell'encefalopatia nella malattia epatica acuta e cronica; può essere utile nei pazienti con encefalopatia di origine incerta (IIB).

Per determinazioni accurate sono necessari campioni arteriosi e non venosi (IIB)

E' necessario separare il plasma dalle cellule entro 15 minuti dal prelievo per prevenire pseudo-iperammoniemia (IIB).

Sezione II.

Indicatori sierologici di epatite e diagnostica molecolare

Virus dell'epatite A (HAV) – L'HAV è un virus a RNA della famiglia dei picornavirus. Si trasmette per la via fecale-orale e causa danno epatico dopo un periodo di incubazione di poche settimane. L'RNA dell'HAV si trova nelle feci e nel plasma per la maggior parte del periodo precedente il manifestarsi della malattia, ma scompare subito dopo la comparsa della sintomatologia, quando compaiono anche gli anticorpi IgM (IgM anti-HAV) che permangono fino a 3-6 mesi dopo l'infezione (da <30 a 420 giorni, con un 13.5% di positivi dopo i 4 mesi) (128). Gli anti-HAV totali persistono per lunghi periodi dopo l'infezione, forse per tutta la vita (129); la sieroprevalenza aumenta con l'età, variando dall'11% dei bambini con meno di 5 anni al 74% nei soggetti oltre i 50 anni (130). La vaccinazione induce sintesi anticorpale rilevabile entro 2-4 settimane dalla dose iniziale di vaccino (131) fino a 5 anni dopo il termine dell'intero ciclo nel 99% dei casi (132). Non sono disponibili metodi commerciali per l'antigene o per l'acido nucleico. Immunoelettromicroscopia e immunodosaggi sono stati usati per identificare l'HAV in filtrati fecali e altri campioni a scopo di ricerca o per indagini epidemiologiche.

Raccomandazioni: Per la diagnosi dell'infezione acuta da HAV si deve evidenziare la presenza di IgM anti-HAV (IB).

Per la copertura immunitaria è sufficiente misurare il titolo anticorpale totale (IB).

Virus dell'Epatite B (HBV) – E' un virus a DNA appartenente alla famiglia degli hepadnavirus. Tali virus si replicano sintetizzando un RNA intermedio che viene copiato usando l'enzima trascrittasi inversa per rigenerare i filamenti di DNA. L'HBV si trasmette con lo scambio di liquidi corporei come siero, con i rapporti sessuali e nel puerperio da madre a figlio. Anche se l'infezione da HBV è tipicamente acuta con remissione completa per gli adolescenti e gli adulti immunocompetenti, può verificarsi anche l'infezione cronica: l'1-3% degli adulti sani, il 5-10% degli adulti immunocompromessi e il 90% dei neonati esposti all'HBV sviluppano una infezione cronica.

L'HBV produce numerosi antigeni proteici che possono provocare una risposta anticorpale. Il più abbondante di questi, l'antigene di superficie del-

l'HBV (HBsAg) viene prodotto in eccesso con le particelle virali, ma può essere presente anche quando il DNA dell'HBV è integrato nel DNA cellulare e non produce più virioni infettanti. Gli altri due antigeni core (HBcAg) ed e (HBeAg) sono prodotti nella stessa regione genetica del virus e si trovano nelle particelle infettanti. La Figura 6 illustra un tipico decorso sierologico e clinico di una infezione acuta da HBV (133).

Gli anticorpi IgM contro l'HBcAg (Anti-HBc) sono considerati il gold standard per la diagnosi della epatite B acuta (134). Possono essere presenti anche, con oscillazioni e a basso titolo, nell'epatite B cronica, soprattutto in pazienti positivi anche per l'HBeAg plasmatico, l'HBV DNA o ALT elevate per riattivazione della malattia (135). Gli anti-HBc totali permangono per

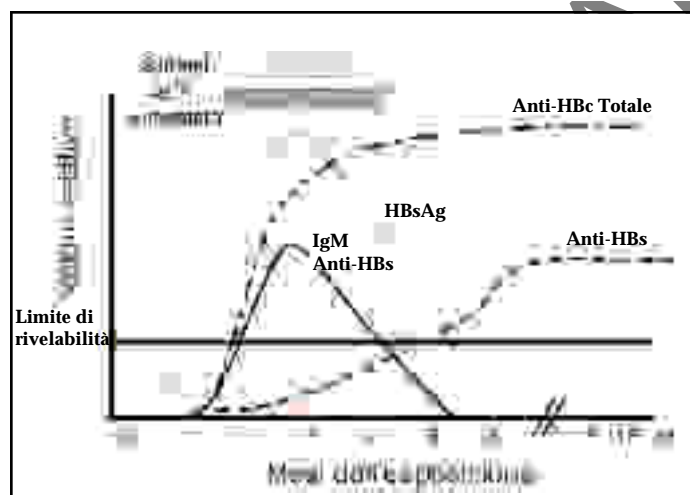


Figura 6. Andamento nel tempo degli indicatori sierologici in infezione acuta da virus della Epatite B con risoluzione. In seguito alla infezione, il primo indicatore a comparire è l'antigene di superficie (HBsAg), da 1 a 3 mesi dopo l'esposizione. Approssimativamente 1-2 mesi dopo, la prima risposta anticorpale è costituita dalle IgM rivolte verso l'antigene del core (IgM anti-HBc), generalmente in coincidenza con un aumento della attività di AST e ALT nel plasma. Alla comparsa dell'ittero, la maggior parte dei pazienti hanno sia HBsAg che IgM anti-HBc. Con l'eliminazione del virus gli anticorpi anti-HBs diverranno rilevabili. In una piccola percentuale di pazienti, può verificarsi un periodo transitorio in cui né HBsAg né anti-HBs sono misurabili; i soli indicatori presenti comunemente in questi casi sono le IgM anti-HBc, pattern definito "finestra del core". Sebbene non illustrato in questo diagramma, tali pazienti saranno positivi per anti-HBe, se un secondo test è necessario per confermare il risultato degli anti-HBc. Dopo la guarigione da una infezione da HBV, gli anti-HBc e gli anti-HBs persistono per tutta la vita nella maggior parte degli individui.

tutta la vita (136). Alla presentazione di una infezione acuta da HBV sono presenti l'HBsAg e gli Anti-HBsAg, ma occasionalmente sono assenti entrambi (134), lasciando come unici marcatori di infezione le IgM anti-HBc (la cosiddetta "finestra core"). Il riscontro isolato di una positività per l'HBsAg può indicare una viremia di basso grado, una perdita di anti-HBs dopo molti anni dalla guarigione o un falso positivo (136, 137, 138). Ad aumentare la probabilità di un falso positivo concorrono due fattori: la bassa reattività agli anti-HBc e l'assenza di anti-HBs anche usando immunodosaggi ad elevata sensibilità. In diversi studi, praticamente nessuno dei pazienti con bassi livelli di anti-HBc e anti-HBs negativi ha mostrato una risposta anamnesticca ad una iniezione di vaccino singola di HBsAg, mentre hanno risposto il 35-40% dei pazienti con una debole positività anti-HBs e il 50-80% di quelli con alti livelli di anti-HBc (137, 139, 140). Durante la convalescenza dall'infezione si ha perdita di HBsAg e sviluppo di anti-HBs. In un ristretto numero di pazienti con infezione cronica da HBV si può osservare la presenza concomitante di HBsAg e anti-HBs. Questo fenomeno sembra abbastanza frequente nei soggetti in emodialisi di mantenimento (7%) rispetto ad altri pazienti HBsAg positivi (2%) (141). La presenza di anti-HBs in questi contesti sembra non avere rilevanza clinica. La tabella 9 riassume i vari pattern di marcatori sierologici nelle diverse forme e fasi dell'infezione da HBV.

Marker	Incubazione	Infezione acuta	Infezione passata	Infezione cronica	Vaccinazione
HBcAg	+ ^a	+	-	+	-
HBeAg	+	+	-	±	-
HBV DNA	+	+	. ^b	±	-
Anti-HBcAg IgM	-	+	-	± ^c	-
Totali	-	+	+	+	-
Anti-HBe	-	-	±	± ^d	-
Anti-HBs	-	-	+	-	+

a: = + positivo, - negativo, ± possibili entrambi
b: metodi non PCR
c: può essere positivo nel 10-15% dei pazienti con riattivazione dell'infezione
d: i pazienti con infezione HBV cronica hanno o HBeAg o anti-HBe

Tabella 9. Diagnosi sierologica di infezione da HBV (modificata da 142).

La Tabella 10 riassume profili epatitici discordanti o insoliti.

- HBsAg positivo/Anti-HBc negativo
- HBsAg, anti-HBs e anti-HBc positivi
- Anti-HBc positivo da solo
- Anti-HBs positivo da solo in paziente non immunizzato
- HBsAg negativo/HBeAg positivo
- HBeAg e anti-HBe contemporaneamente positivi
- Anti-HBc totali negativi/IgM anti-HBc positivi

Tabella 10. Profili discordanti o insoliti che richiedono approfondimento.

Per stabilire una diagnosi corretta, i casi con risultati discordanti devono essere rianalizzati e devono essere ricercati altri marcatori sierologici (143).

Raccomandazioni. Per la diagnosi di infezione da HBV in atto o pregressa è necessario ricercare HBsAg, anti-HBs e anti-HBc. Nel sospetto di infezione acuta da HBV si deve utilizzare il dosaggio degli IgM anti-HBc (IB).

Per la diagnosi di epatite acuta B e la valutazione routinaria dello stato immunologico nei confronti di HBV non è necessario richiedere la determinazione di HBeAg e anti-HBe (IIIB, E).

In pazienti con risultati discordanti le determinazioni devono essere ripetute; in caso di persistenza il paziente deve essere valutato da un epatologo o da un gastroenterologo (IIIB).

Nei pazienti con presenza cronica di HBsAg, è utile ricercare HBeAg e anti-HBe per definire lo stato dell'infezione. Il DNA dell'HBV può essere presente in due forme: come virus in replicazione, che produce particelle infettanti o in forma non replicativa, integrato nel DNA ospite. L'HBeAg è prodotto solo dal virus in replicazione e può quindi essere utilizzato indirettamente per valutare la produzione di DNA nell'epatocita. Nel paziente HBeAg positivo, la perdita dell'HBeAg e la sieroconversione alla positività anti-HBe sono tipicamente associate a negatività della ricerca di DNA virale con metodi non-PCR, normalizzazione delle aminotransferasi e miglioramento istologico, implicando un basso grado di replicazione e una prognosi benigna (144). Per seguire i pazienti con epatite B cronica in terapia antivirale è più utile la determinazione dell'HBV DNA. Ai fini della valutazione della risposta alla terapia antivirale la scomparsa di HBV DNA rilevabile è un

indicatore più precoce della negativizzazione dell'HBeAg (143). Sono attualmente disponibili in commercio numerosi metodi per la determinazione dell'HBV DNA, i cui limiti di sensibilità sono riassunti in Tabella 11. Al momento manca qualsiasi standardizzazione inter-laboratorio per questi metodi.

Metodo	Limite sensibilità (copie/mL) ^a
Hybrid Capture	3.0×10^6
Branched DNA	0.7×10^6
Liquid Hybridization	4.0×10^4
Polymerase chain reaction	$10^2 - 10^3$

^a I risultati possono anche essere espressi in pg/mL di HBV DNA dividendo per 2.85×10^5

Tabella 11. Limiti di sensibilità dei metodi per HBV DNA.

In una elevata percentuale di pazienti negativi per HBsAg e positivi per anti-HBs, anti-HBe e gli anti HBe a distanza di mesi o anni dalla guarigione dopo epatiti acute (145) o croniche (146) è possibile trovare HBV DNA circolante utilizzando metodi PCR. Il significato di questo non è chiaro, dato che la maggior parte del DNA virale si trova in immunocomplessi (145) e può non rappresentare l'intero genoma. Un recente studio su 7 potenziali donatori di fegato HBsAg negativi, ma positivi per anti-HBs e anti-HBe, ha rilevato la presenza di forme replicanti in 6 soggetti (147). Anche in pazienti con epatite C cronica si trova frequentemente HBV DNA (usando metodi PCR) sia nel siero che nel fegato, soprattutto nei pazienti il cui unico segno di infezione HBV è la positività per anti-HBe (137, 138). Questi studi suggeriscono che molti pazienti considerati finora guariti da infezione HBV mantengano in realtà un grado di replicazione virale basso e controllato anche a distanza di molti anni dalla guarigione clinica. Ad oggi non conosciamo la soglia minima di viremia HBV DNA al di sotto della quale si possa considerare un paziente guarito da un'infezione HBV.

Il Virus dell'epatite C (HCV) -Il virus dell'epatite C (HCV) è un virus a RNA della famiglia delle Flaviviridae. Non è stato possibile, fino ad oggi, coltivarlo *in vitro*; è stato identificato da alcune sequenze virali mediante tecnologia ricombinante e ora è disponibile la sequenza dell'intero genoma. Non esistono ad oggi kit commerciali per rilevare l'antigene HCV, anche se sono stati sviluppati metodi molto sensibili per la proteina *core* dell'HCV (148).

Raccomandazioni. Nel monitoraggio di pazienti con positività cronica per HBsAg è utile ricercare l'HBeAg e l'anti-HBe (IB).

Nel monitoraggio della terapia antivirale si devono utilizzare metodi quantitativi per l'HBV DNA (IIB).

E' necessario produrre uno standard internazionale per i metodi di ricerca dell'HBV DNA contro cui calibrare tutti i kit del commercio (IIIB).

I metodi per l'HBV DNA devono essere quantitativi e deve essere definito il loro intervallo dinamico clinicamente utile (III B).

La maggior parte dei metodi disponibili misura gli anticorpi anti-HCV. I test di screening rilevano la comparsa di anticorpi contro le proteine virali, di solito presenti nel siero a partire da 80 giorni in media (da 33 a 129 giorni) dopo l'avvenuta infezione, utilizzando test immunoenzimatici anti-HCV di seconda generazione (EIA-2) (149). Pazienti immunocompromessi o emodializzati possono essere negativi al test EIA-2 nonostante altre evidenze di infezione acuta (150). L'FDA ha da poco approvato l'utilizzo di test di terza generazione (EIA-3) per lo screening degli emoderivati: contengono un core ricongurato, gli antigeni NS3 e un ulteriore antigene (NS5) non presente negli EIA-2. Gli EIA-3 consentono un leggero miglioramento della sensibilità al prezzo di una perdita di specificità rispetto agli EIA-2 e abbreviano il periodo finestra a una media di 7-8 settimane dopo l'infezione (151). Nei pazienti che hanno eliminato dal circolo l'HCV il titolo anticorpale tende a diminuire gradualmente (152) e quindi si negativizza nel 6-10% degli individui infetti (153, 154). Nella valutazione di una possibile trasmissione perinatale dell'HCV bisogna tener conto che il titolo anticorpale materno sparisce in 12 mesi per l'80% dei bambini non infetti e in 18 mesi per il 100% (155). Il 90% dei bambini infetti è positivo alle ricerche di HCV RNA a partire dai 3 mesi di vita (156).

Ulteriori test per gli anti-HCV aiutano a chiarire risultati EIA sospetti per falsi positivi. Metodi basati su immunoblot ricombinanti (RIBA) contengono gli stessi antigeni virali degli EIA accoppiati alla superossido dismutasi (SOD) in grado di rilevare anticorpi non specifici per proteine di lieviti (gli antigeni ricombinanti sono di solito ricavati utilizzando lieviti come vettori). Un RIBA è positivo quando è in grado di rilevare una reattività verso due o più antigeni HCV in differenti regioni del genoma, senza reagire alla SOD. La reattività contro un singolo antigene HCV o una positività multibanda con positività alla SOD sono da considerare risultati indeterminati. In popolazioni ad alto rischio per infezioni da HCV, meno dell'1% dei campioni positivi all'EIA-

2 è un falso positivo. Inoltre, nelle infezioni acute il RIBA è positivo solo nell'85% dei casi (157); per tale motivo non è necessario ricorrere a questo metodo per la diagnosi di epatite C in popolazioni ad alto rischio (158).

La presenza nel plasma di HCV RNA identifica una infezione attiva. Lo si può trovare entro 1-2 settimane dall'avvenuta infezione, molte settimane prima di un eventuale innalzamento delle ALT e prima della comparsa degli anti-HCV (152). La Figura 7 illustra la tipica cronologia dei marcatori di infezione da HCV.

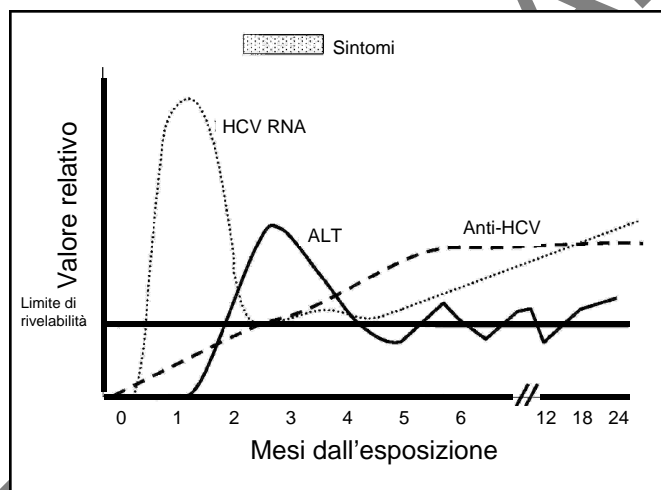


Figura 7. Decorso sierologico di una epatite C acuta. Il primo marcatore che compare in seguito all'infezione è l'HCV RNA, usualmente rilevabile dopo 1-2 settimane dopo l'esposizione al virus. La concentrazione di HCV RNA gradualmente aumenta, ma inizia a diminuire con lo sviluppo di una risposta anticorpale; nel 15% dei casi possono essere presenti dei pazienti transitivamente negativi. Gli anti-HCV compaiono 8-10 settimane dopo l'esposizione; con i test EIA di terza generazione tale periodo è più breve rispetto a quelli di seconda generazione. Dopo l'episodio acuto, che è clinicamente silente nella maggior parte degli individui, il 75-85% può sviluppare una infezione cronica da HCV. Nel passaggio dalla infezione acuta a quella cronica, sia l'ALT che l'HCV RNA sono positivi in modo intermittente; essi possono essere positivi anche molti anni dopo l'infezione, anche se il 15-25% degli individui infettati cronicamente può avere ALT persistentemente normali.

In commercio esistono anche dei metodi PCR basati sulla trascrizione inversa dell'HCV RNA –non approvati dall'FDA- utilizzati abbastanza frequentemente nella pratica clinica: il più sensibile tra questi può rilevare >100 copie/mL di HCV RNA. I metodi per l'HCV RNA non sono standardizzati e i risultati quantitativi possono divergere significativamente tra laboratori diversi che utilizzino metodi diversi (158, 159). L'HCV RNA è molto sensibile alla degradazione ad opera delle RNAsi ematiche: perciò i campioni per la determinazione dell'HCV RNA debbono essere centrifugati subito dopo il prelievo. Gli anticoagulanti da preferire sono il citrato di sodio e l'EDTA. L'eparina ha effetti inibitori sulla maggior parte dei test basati sull'amplificazione di acidi nucleici e i campioni di siero hanno problemi di stabilità a meno che non vengano immediatamente congelati subito dopo la raccolta. Se si centrifuga immediatamente il campione si perde meno del 10% dell'HCV RNA anche non separando il siero/plasma dalla parte corpuscolata prima di 6 ore (160). Se si usa una provetta con separatore di siero i campioni sono stabili fino a 24 ore dopo la centrifugazione (160). E' accettabile anche una breve conservazione (non più di 7 giorni) a 4°C. Una volta congelati i campioni sono stabili per almeno tre cicli di congelamento-scongelo (160). Normalmente i metodi quantitativi per l'HCV RNA sono meno sensibili di quelli qualitativi basati sulla stessa tecnologia, ma non è una regola universale. L'attuale versione del test del DNA Branched è la meno sensibile, con un limite inferiore di rilevabilità di 200.000 copie/mL; comunque è molto più lineare e riproducibile dei metodi PCR. Una versione più sensibile sta per essere introdotta in commercio negli Stati Uniti. Nei pazienti con infezione HCV cronica non trattata è frequente trovare campioni negativi per l'HCV RNA se testati col metodo del DNA Branched, che sono invece positivi utilizzando la PCR. Risultati di metodi diversi non possono essere comparati a causa della mancanza di standardizzazione. E' invece oggi

Raccomandazioni. Per la diagnosi di infezione passata o in atto da HCV in popolazioni ad alta prevalenza di malattia i metodi EIA per lo screening degli anticorpi sono adeguati e non sono necessari altri esami; per la conferma di infezione attiva è necessario ricorrere all'HCV RNA (IIB, E).

Il ricorso ad altri metodi per gli anti-HCV (RIBA) è giustificato per le popolazioni a bassa prevalenza di malattia o per conferma di infezione non recente in pazienti HCV RNA negativi (IIB, E).

Sono necessarie migliori concordanza e precisione per i metodi per HCV RNA; deve essere introdotto uno standard simile a quello prodotto dall'WHO (IIB).

I campioni per l'HCV RNA devono essere raccolti in sodio citrato o EDTA; se si usa siero la centrifugazione deve essere immediata per evitare falsi negativi (IIB).

disponibile uno standard internazionale WHO dell'RNA HCV per i metodi di amplificazione (161), e sta per essere introdotto in commercio (N.d.T.: è già stato introdotto in Italia).

Ci sono 6 genotipi maggiori e oltre 90 sottotipi di HCV differenti nel mondo. Come se non bastasse, l'HCV ha un elevato tasso di mutazioni spontanee, con la produzione di "quasispecie" molto variabili tra un individuo e un altro (162). I genotipi 1a e 1b rappresentano circa i 2/3 delle infezioni negli USA, il genotipo 1 è responsabile del 90-95% di infezioni negli Afroamericani contro il 60% nei bianchi (163). L'amplificazione genomica e il sequenziamento seguiti dal confronto e la costruzione di un albero filogenetico rappresentano i metodi di riferimento per la determinazione genotipica (164). Sono stati descritti diversi tipi di screening genotipico, tra cui la PCR con l'utilizzo di primer genotipo-specifici (165), polimorfismo dei frammenti di restrizione di sequenze amplificate (166) e metodi commerciali con sonde specifiche su strisce di nitrocellulosa (LIPA) (167). Tutti questi metodi sono confrontabili con il metodi di riferimento per la determinazione del genotipo HCV (168).

Virus dell'epatite D (HDV) – L'HDV è un virus difettivo a RNA che si replica solo in presenza di HBsAg. Va preso in considerazione nei pazienti HBsAg positivi con sintomatologia di epatite acuta o cronica, specialmente nelle forme fulminanti o dove c'è un elevato rischio di infezione HDV. L'unico metodo sierologico attualmente disponibile rileva la presenza degli anticorpi totali anti-HDV. Dopo eliminazione del virus, gli anticorpi di solito scompaiono dopo 1-5 anni (169). Nella quasi totalità dei quadri clinici, per la diagnosi sono sufficienti l'HBsAg, gli anti-HBc IgM e il titolo totale anti-HDV. I pazienti con co-infezione HDV attiva sono positivi per IgM anti-HBc, mentre i pazienti con superinfezione HDV sono di solito negativi.

Virus dell'epatite E (HEV) – L'HEV è un virus a RNA a trasmissione enterica in grado di provocare infezioni sporadiche o epidemie di epatite acuta nei paesi in via di sviluppo; non dà epatite cronica. Negli Stati Uniti si sono viste raramente infezioni da HEV, soprattutto in soggetti che avevano viaggiato in aree endemiche, anche se almeno in un caso non sono stati documentati viaggi all'estero (170). Per uso diagnostico sono stati prodotti alcuni metodi commerciali per gli anti-HEV (171). Uno studio di valutazione dei vari test immunoenzimatici disponibili ha evidenziato una discreta variabilità nei titoli riportati, anche se i metodi in grado di rilevare anticorpi contro l'ORF2 sembrano i più accurati (172). Anticorpi reattivi verso antigeni HEV sono stati trovati nel 15-25% dei maschi omosessuali, nei tossicodipendenti e nei donatori di sangue dell'area intorno a Baltimora, lasciando pensare ad una discreta aspecificità dei metodi (173).

Sezione III. Danno epatico acuto

Il danno epatico è determinato da una alterazione degli epatociti. Tradizionalmente, si riconoscono due tipi principali di danno epatico, acuto e cronico, spesso denominati "epatite", che indicano la presenza di una infiammazione del fegato. Tuttavia poiché alcune cause di danno epatico inducono una infiammazione minima o nulla, in questo documento sarà usato il termine più specifico di danno epatico. Si parla di danno epatico acuto quando il danno degli epatociti insorge improvvisamente ed in un periodo di tempo breve. Il quadro più frequente del danno epatico acuto è dato da un aumento significativo delle aminotransferasi (di solito oltre otto volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento), accompagnato spesso da un aumento della bilirubina. In alcuni casi, soprattutto quelli dovuti ad un danno diretto agli epatociti dovuto ad ischemia o ingestione di tossine, è interessata la sintesi delle proteine. Il danno epatico cronico è indicato di solito da un danno degli epatociti che si protrae per lunghi periodi di tempo, di solito più di 6 mesi. Il danno cronico degli epatociti è di solito indicato da un leggero aumento delle aminotransferasi (di solito meno di quattro volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento), anche se l'attività enzimatica può essere aumentata in modo intermittente, ed in molti casi può restare persistentemente all'interno dell'intervallo di riferimento. L'escrezione della bilirubina e la sintesi delle proteine sono generalmente normali. La fosfatasi alcalina è normale nella maggior parte dei casi di danno epatico acuto e cronico; la sua determinazione è di solito usata per la diagnosi differenziale delle lesioni epatiche con ostruzione biliare e le lesioni epatiche acute e croniche. Le proteine totali, che sono spesso comprese nel pannello epatico, non sono di solito utili nella valutazione della funzionalità epatica, poiché la loro concentrazione è influenzata non solo da alterazione nella sintesi proteica ma anche da alterazioni della concentrazione delle immunoglobuline. Un aumento della concentrazione di globuline nei pazienti con danno epatico acuto e cronico suggerisce la possibilità di una origine autoimmune.

Raccomandazione: Il pannello da usare nei pazienti in cui è stata diagnosticata o sospettata una malattia epatica deve essere il seguente: aspartato aminotransferasi, (NdT: I traduttori non condividono questo approccio vedi anche Larsson A., Tryding N. Is it necessary to order Aspartate Aminotransferase with Alanine transferase in Clinical practice? Clin Chem 2001; 47: 1133-4). In medicina generale l'ALT è sufficiente per lo screening delle epatopatie) alanina aminotransferasi, fosfatasi alcalina, bilirubina totale, bilirubina diretta, proteine totali, albumina. Questo pannello è attualmente approvato dall'Health Care Financing Administration per il rimborso da parte di Medicare (IIB, E).

Danno epatico acuto - La diagnosi di danno epatico in acuto può essere fatta in presenza di ittero o sintomatologia non specifica di malattia acuta accompagnata da aumento dell'attività di AST e/o ALT. Circa l'80% dei soggetti con epatite virale acuta non sono mai diagnosticati clinicamente anche se alcuni possono essere riconosciuti da un aumento delle aminotransferasi in presenza di modesta o nessuna sintomatologia clinica. Le attività di AST e ALT sono raramente maggiori di 10 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento in patologie diverse dal danno epatico acuto. L'ALP è maggiore di 3 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento nel 10% dei casi di danno epatico acuto (174, 175). Nel corso dell'ultimo decennio si è assistito ad un significativo declino nell'incidenza di epatite virale acuta; secondo il Sentinel Counties Study del Centers for Disease Control and Prevention, l'epatite B è diminuita del 55% e le epatiti non-A, non-B (la gran parte delle quali sono epatiti C) dell'80% (175a). Oggi sono diventate più frequenti altre patologie epatiche come causa di aumento delle attività di AST o ALT; secondo uno studio recente, il 25% dei soggetti con concentrazione di AST superiore di più di 10 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento presenta una ostruzione come causa (176). Complessivamente, circa l'1-2% dei pazienti con ostruzione delle vie biliari presenta un transitorio aumento dell'attività di AST e/o ALT maggiore di 2000 U/L (178, 178); l'attività di aminotransferasi ritorna di solito all'interno dell'intervallo di riferimento entro 10 giorni anche se l'ostruzione persiste (174, 176, 177).

La concentrazione con la maggiore efficacia discriminante per riconoscere il danno epatico acuto sembra essere 200 U/L per l'AST (sensibilità 91%, specificità 95%) e 300 U/L per l'ALT (sensibilità 96%, specificità 94%) (175). Nell'epatite alcolica non complicata, la concentrazione di AST e ALT non è quasi mai superiore a 10 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento, il rapporto AST/ALT è superiore a 2 nell'80% e un aumento della concentrazione di fosfatasi alcalina è presente nel 20% dei casi (98, 179, 180). L'ittero compare nel 60-70% dei casi di epatite alcolica (179-180). La frequenza dell'ittero nei pazienti con epatite virale acuta varia a seconda dell'età e dell'agente eziologico. L'ittero è raro nei bambini e, quando presente, è meno grave che negli adulti. Secondo uno studio, il 27% degli adulti e solo l'1% dei bambini con epatite acuta aveva un picco di bilirubina superiore a 171 $\mu\text{mol/L}$ (10 mg/dL). L'ittero si sviluppa negli adulti nel 70% dei casi di epatite acuta A (182), nel 33-50% dei casi di epatite acuta B (183, 184) e nel 20-33% dei casi di epatite acuta C (185, 186). Esiste una correlazione diretta tra età e picco di concentrazione della bilirubina sierica nei bambini; un aumento di 10 anni di età è stato associato ad un aumento medio di 85 $\mu\text{mol/L}$ (5 mg/dL) nella concentrazione di bilirubina. Negli adulti non vi è correlazione tra età e picco di concentrazione della bilirubina (187). La percentuale della bilirubina diretta rispetto alla totale è simile nel danno epatico acuto e nell'ittero ostruttivo: solo il 16% dei pazienti con danno epatico acuto ha una bilirubina diretta infe-

riore al 50% della bilirubina totale. Percentuali più basse di bilirubina diretta suggeriscono un'altra causa di ittero come l'emolisi (187).

Raccomandazioni: Il danno epatico acuto può essere diagnosticato da una concentrazione di ALT superiore di 10 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento e da una concentrazione di ALP che supera non più di 3 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento appropriato (IIB).

La bilirubina diretta consente di escludere le altre cause di aumento di bilirubina totale come l'emolisi, ma non differenzia il danno epatico dall'ittero ostruttivo (IIB).

Indicatori di gravità

Le epatiti virali acute A o B sono di solito delle malattie auto-limitanti, e la maggior parte dei pazienti guarisce completamente. Circa l'80-85% dei pazienti con epatite acuta C sviluppa una epatite cronica, anche se la percentuale appare minore nei bambini e nelle donne giovani che ricevono immunoglobuline Rh (154, 188, 189). Il danno epatico acuto causa raramente un danno epatico ed una insufficienza epatica acuta grave. E' importante identificare i pazienti con il rischio maggiore di insufficienza epatica. Le attività delle aminotransferasi sono correlate più alla causa del danno epatico che alla gravità. La correlazione tra attività aminotransferasiche e bilirubina nell'epatite virale è debole (175) e diventa nulla nel danno epatico ischemico o tossico (190). Il picco di attività aminotransferasiche non è correlato in nessun modo con la prognosi, e può diminuire al peggioramento delle condizioni del paziente; le attività aminotransferasiche cominciano a diminuire prima che si verifichi il picco di bilirubina indipendentemente dal peggioramento o miglioramento clinico (175, 191). Il tempo di protrombina (PT) predice nel modo migliore la prognosi; valori di PT superiori di 4 secondi al limite superiore dell'intervallo di riferimento o superiori a 20 secondi e valori di INR superiori a 6.5 sono stati usati per identificare i pazienti con il rischio maggiore di morte (99, 191). Nel danno epatico ischemico o tossico, il prolungamento del PT compare precocemente dopo il danno, con un picco dopo 24-36 ore e la successiva rapida normalizzazione. Nel danno da acetaminofene, una marcata elevazione del PT non indica di per se stessa la probabilità di insufficienza epatica (94, 96), indicata, invece, da una elevazione persistente o un aumento del PT 4 giorni dopo l'ingestione di acetaminofene (192). Nell'epatite virale, una concentrazione di bilirubina totale >257

$\mu\text{mol/L}$ (15 mg/dL) indica un grave danno epatico e obbliga ad un attento monitoraggio per riconoscere una encefalopatia (193). Nell'epatite alcolica, una concentrazione di bilirubina totale $> 428 \mu\text{mol/L}$ (25 mg/dL) o di albumina $< 25 \text{ g/L}$ ($< 2.5 \text{ g/dl}$) indica una elevata probabilità di morte (91, 180).

Raccomandazioni: Una concentrazione di bilirubina totale $> 257 \mu\text{mol/L}$ (15 mg/dL) o un tempo di protrombina con un INR > 6.5 in un paziente con epatite virale, in assenza di altri fattori che possano influenzare i risultati, indicano un grave danno epatico (IIB).

Nella intossicazione da acetaminofene, una marcata e persistente elevazione del tempo di protrombina 4 giorni dopo l'ingestione di acetaminofene indica un grave danno epatico (IIB).

Diagnosi differenziale - Il pattern di alterazioni dei dati di laboratorio varia a seconda delle differenti cause di danno epatico acuto (Tabella 12).

Dal pattern è spesso possibile sospettare il tipo di agente che causa il danno epatico. La valutazione iniziale dei pazienti con il pattern (immunologico) più comune di danno epatico acuto deve comprendere l'indagine circa l'assunzione di farmaci e la ricerca degli anticorpi anti-epatite A, B e C (HAV, HBV, HCV). La maggior parte delle reazioni ai farmaci avviene entro 3-4 mesi dall'inizio del trattamento anche se in alcuni casi il danno epatico si può manifestare fino a 12 mesi dopo l'inizio del trattamento ed in rari casi il danno può diventare evidente alcuni giorni o alcune settimane dopo l'interruzione dell'assunzione del farmaco (198). La valutazione dell'epatite virale deve impiegare il pannello approvato dall'Health Care Financing Administration per l'epatite virale (IgM anti-HAV, IgM anti-HBc, HBsAg e anti-HCV) (Figura 8).

Malattia	Picco dell'ALT (x LSIR)	AST/ALT	Picco bilirubina ($\mu\text{mol/L}$)	Allungamento PT (s)
Epatite virale	10-40	< 1	< 257	< 3
Epatite alcolica	2-8	> 2	< 257	1-3
Danno tossico	> 40	> 1 (fasi precoci)	< 85	> 5 (transitorio)
Danno ischemico	> 40	> 1 (fasi precoci)	< 85	> 5 (transitorio)

x LSIR = volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento

Tabella 12. Pattern di alterazione dei dati di laboratorio nel corso di differenti cause di danno epatico acuto.

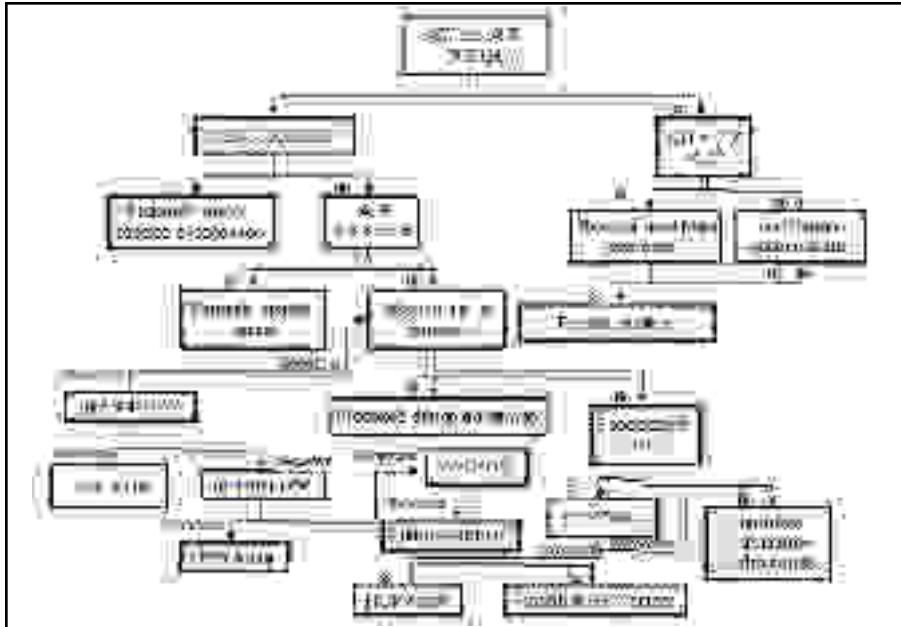


Figura 8. Approccio al danno epatico acuto. In un paziente con segni o sintomi di danno epatico acuto (febbre, inappetenza, urine scure, feci chiare, ittero), vengono eseguiti inizialmente AST e ALT. Leggeri aumenti dell'AST (< 10 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento) soprattutto con $AST > ALT$ suggeriscono epatite acuta alcolica, mentre aumenti notevoli (> 100 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento) suggeriscono fortemente un danno ischemico o tossico. Un pannello per l'epatite acuta (vedi testo) è l'esame iniziale per quelli con valori intermedi. La presenza di IgM anti-HAV o IgM anti-HBc sono considerati diagnostici rispettivamente di epatite acuta A e B. L'epatite acuta C non può essere diagnosticata in modo certo con esami sierologici, ma può essere sospettata dalla comparsa di anticorpi anti-HCV in un paziente con ittero (precedentemente negativo) o dalla positività all'HCV RNA in un paziente senza anti-HCV. In un paziente con risultati negativi per gli indicatori virali, deve essere considerata un'altra causa di danno epatico acuto come ostruzione, altri agenti infettivi, malattia di Wilson o epatite autoimmune (vedi Tabella 13).

Le IgM anti-HAV, il test diagnostico di scelta per l'infezione HAV, scompaiono dopo 4-6 mesi (194), mentre gli anticorpi HAV totali permangono per tutta la vita (129) e sono presenti in una elevata percentuale della popolazione (130). La diagnosi di HAV acuta, a causa del suo breve periodo di trasmissibilità, deve essere fatta al più presto dopo la presentazione, idealmente entro 48 ore, per consentire la profilassi immunoglobulinica dei soggetti esposti. Le IgM anti-HBc e l'HBsAg sono gli esami più affidabili per l'infezione acuta da HBV (134, 193); le IgG anti-HBc (e quindi le totali) rimangono per anni e non sono quindi utili nella diagnosi di epatite B acuta (136). Altri indicatori virali HBV ed anticorpi non sono usati per la diagnosi di infezione acuta da HBV. Non esistono oggi esami per fare diagnosi definitiva di epatite

acuta C, poichè gli anti-HCV e l'HCV RNA possono essere presenti sia nella infezione da HCV acuta che nella cronica. Gli anti-HCV sono misurabili con EIA-2 solo nel 57% dei casi di HCV acuta al momento della elevazione enzimatica iniziale, mentre HCV RNA è positivo praticamente in tutti i casi (195) anche se nel 15% dei casi è presente in modo intermittente (157, 196). Al momento della presentazione clinica, l'80-90% dei casi ha anti-HCV misurabili. Sono compatibili con una diagnosi di epatite acuta C gli anti-HCV negativi ma HCV RNA positivi o (se l'HCV RNA non è stato eseguito) risultati anti-HCV che si convertono rapidamente da negativi a positivi. Gli anti-HDV per diagnosticare l'infezione delta (HDV) devono essere limitati ai pazienti HBsAg positivi, soprattutto se accompagnata da epatite acuta grave, presenza di fattori di rischio (assunzione di droghe d'abuso per via endovenosa, emofilia) o di un pattern di malattia bifasico (197). Se un paziente con epatite cronica B viene superinfettato da HDV, può sviluppare un quadro clinico simile all'epatite acuta grave ed insufficienza epatica (197).

Raccomandazioni: La valutazione iniziale del danno epatico acuto deve comprendere una dettagliata raccolta di informazioni sui farmaci assunti e la ricerca degli indicatori virali (IgM anti-HAV, IgM anti-HBc, HBsAg e anti-HCV) (IIB).

A causa della necessità della profilassi post-esposizione il turnaround time delle IgM anti-HAV deve essere < 48 ore (IIIC, E).

Può essere efficace dal punto di vista economico (a causa della prevalenza) che i laboratori usino inizialmente anticorpi totali contro HAV e anti-HBc, e misurino gli anticorpi IgM solo se uno dei due è positivo in modo da consentire di ottenere il turnaround necessario (IIIE).

La diagnosi di infezione acuta da HCV (in un paziente con un quadro clinico di danno epatico acuto) può essere fatta presuntivamente se gli indicatori di HAV e HBV sono negativi, vi è stata una esposizione recente e gli anti-HCV sono negativi e l'HCV RNA è positivo oppure se gli anti-HCV sono negativi alla comparsa con positivizzazione anti-HCV entro 1-3 mesi (IIIB).

Gli esami per HDV devono essere limitati ai pazienti HBsAg positivi, quadro clinico atipico e rischio elevato per infezione HDV (IIB,E).

Indagini da eseguire nei pazienti con danno epatico acuto senza causa evidente (Tabella 13)

Cause ischemiche e tossiche di danno epatico- Valori di AST e ALT superiori più di 100 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento sono rari nell'epatite virale (174,175), ma comuni sia nella ingestione di tossine, soprattutto acetaminofene (96,199, 200), che nel danno epatico ischemico (94, 95,190). Nel danno epatico da acetaminofene, il valore picco di AST supera le 3000 U/L nel 90% dei casi (200). Il danno epatico tossico o ischemico causa oltre il 90% dei casi di danno epatico acuto con attività AST > 3000 U/L

(200a). Nel danno epatico ischemico e tossico, di solito l'AST e ALT raggiungono il picco precocemente (spesso nelle prime 24 ore dopo il ricovero) e l'attività dell'AST è inizialmente più alta di quella dell'ALT. Le attività dei due enzimi, dopo avere raggiunto il picco diminuiscono rapidamente; l'AST può diminuire del 50% o più nelle prime 24 ore (199, 200) e diminuisce più rapidamente dell'ALT a causa dell'emivita più breve (175). L'attività dell'AST raggiunge valori quasi normali in media 7 giorni dopo il danno (174). Il tempo di protrombina supera il valore di INR di 6.5 nel 90% dei casi (94, 96) e diminuisce rapidamente dopo che si è raggiunto il picco dell'AST (94). La concentrazione di bilirubina è inferiore a 34 $\mu\text{mol/L}$ (2 mg/dL) nell'80% dei casi di danno tossico o ischemico (94,95, 96). L'attività lattato deidrogenasi (LDH) è spesso più alta di quella AST al momento della presentazione nel danno epatico tossico o ischemico (94,199, 200), mentre è aumentata al momento della presentazione solo nel 55% dei casi di epatite virale, con valori medi solo leggermente superiori al limite superiore dell'intervallo di riferimento (175).

Malattia	Caratteristiche principali	Esami di laboratorio	Reperti associati
Malattia di Wilson	Giovani, fosfatasi alcalina bassa, alta bilirubina	Bassa ceruloplasmina solo nel 40% dei soggetti Gene anomalo sul cromosoma 13	Cupruria e cupremia non affidabili nei pazienti con Wilson acuto. Associata spesso con emolisi ed insufficienza renale
Epatite autoimmune	Giovani; gamma globuline alte; albumina bassa, ascite frequente	ANAE/o ASMA positivi	In alcuni casi altre malattie autoimmuni
Epatite E	Viaggi in aree endemiche	Anti-HEV	Simile all'epatite A
Altri virus	Spesso presente il quadro clinico della mononucleosi	Anti-CMV, anti-EBV	Fosfatasi alcalina elevata

ANA - anticorpi anti-nucleo; ASMA- anticorpi anti-muscolo liscio; HEV- virus dell'epatite E; CMV- citomegalovirus; EBV- virus di Epstein-Barr

Tabella 13. Cause rare di danno epatico acuto.

Altre cause – Raramente la malattia di Wilson e l'epatite autoimmune (discussa in maggiore dettaglio nel capitolo del danno epatico cronico) possono presentarsi come danno epatico acuto (Tabella 13). L'epatite E è endemica in alcune parti del mondo; nei pazienti con un danno epatico acuto che hanno viaggiato o hanno risieduto in aree endemiche devono essere misurati gli anticorpi anti-HEV. Numerosi virus oltre a quelli classici (HAV, HBV, HCV, HEV) sono stati associati all'epatite, compresi gli herpesvirus, il citomegalovirus (CMV), gli enterovirus, i coronarivirus, i reovirus (nei neonati), gli adenovirus, il parvovirus B6 (nelle popolazioni pediatriche), il virus della varicella-zoster ed il virus di Epstein-Barr. Sifilide, leptospirosi, toxoplasmosi ed altri agenti infettivi meno noti possono anche causare un danno epatico. Di rado altri disordini come linfoma, sindrome di Budd-Chiari e malattia venoocclusiva possono presentarsi con un quadro di danno epatico acuto. Di solito il danno epatico associato a queste eziologie è inusuale o associato a una sindrome specifica (varicella con virus della varicella-zoster, mononucleosi con virus di Epstein-Barr o citomegalovirus). La maggior parte dei pazienti con altre cause infettive di danno epatico presenta dei segni e dei sintomi che suggeriscono un particolare agente come causa. Quando la definizione della diagnosi appare clinicamente indicata si deve ricercare la specifica diagnosi di infezione da parte di altri agenti se le più comuni eziologie sono state escluse. Si possono verificare delle superinfezioni con altri virus dell'epatite in pazienti con altre forme di danno epatico; per esempio, pazienti con HCV cronica o epatite alcolica possono infettarsi con HAV o HBV e sviluppare una epatite acuta dovuta all'infezione sovrapposta. Nell'epatite cronica, un aumento acuto delle aminotransferasi che mima il danno acuto epatico può avvenire per la clearance dell'HBeAg (208) o per la comparsa di una "quasispecie" di HCV (209).

Raccomandazioni: Si deve sospettare l'esposizione a tossine o l'ischemia nei pazienti con indicatori virali negativi ed una concentrazione iniziale di AST 100 volte superiore al limite superiore dell'intervallo di riferimento (IIB).

Nei pazienti con indicatori virali negativi ed una concentrazione di enzimi 8-100 volte superiore al limite superiore dell'intervallo di riferimento, devono essere eseguite indagini per escludere la possibilità di malattia di Wilson e di epatite autoimmune (IIB).

E' raccomandata la ricerca degli anticorpi anti-HEV nei pazienti con sierologia negativa per gli altri virus e viaggi o residenza recenti in un'area endemica (IIIE).

Quando non vi sono altre cause evidenti si possono eseguire esami per altri agenti infettivi (Epstein-Barr e citomegalovirus, sifilide, toxoplasmosi).

Monitoraggio

Aminotransferasi- Le attività di aminotransferasi tendono ad aumentare e raggiungono il picco vicino alla comparsa dell'ittero, dopo di che diminuiscono gradualmente (101). Le attività tendono a calare lentamente nell'epatite virale e nell'epatite alcolica; AST e ALT diminuiscono, in media, rispettivamente dell'11.7% e del 10.5% per giorno e rimangono elevate rispettivamente per 22 ± 16 e 27 ± 16 giorni (175). Nell'epatite A, un aumento secondario degli enzimi avviene nel 5-10% dei casi prima che le attività ritornino alla linea di base, associato con la presenza di HAV RNA e particelle virali nelle feci, indicando una potenzialità per la trasmissione dell'infezione (210). Come discusso precedentemente, AST e ALT calano rapidamente dopo avere raggiunto l'attività di picco nel danno epatico ischemico e tossico. Una volta che le aminotransferasi hanno mostrato un consistente trend di diminuzione, non devono essere ricontrollate fino a quando il paziente non è clinicamente guarito. Il ritorno alla normalità delle aminotransferasi non costituisce un segno affidabile di guarigione nell'epatite B o C. Nei pazienti con infezione cronica da HCV, il 49% di quelli con ALT normale alla prima visita hanno presentato una ALT aumentata ad un controllo successivo dopo sier conversione (211). Nell'epatite B, AST e ALT possono tornare al normale anche se l'infezione persiste (212).

Bilirubina- Spesso la bilirubina raggiunge il picco una settimana dopo le aminotransferasi. Un picco di bilirubina superiore a $257-342 \mu\text{mol/L}$ (15-20 mg/dL) è raro nell'epatite virale. Solo il 10-12% dei pazienti con epatite virale hanno valori picco superiori a $257 \mu\text{mol/L}$ (15 mg/dL) e solo il 4% superiori a $342 \mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL); valori più alti di bilirubina sono più comuni nell'infezione da HBV (175, 181). Quando la bilirubina totale diminuisce, la percentuale di bilirubina aumenta raggiungendo spesso la percentuale di 70-80% della bilirubina totale (213, 214). Negli adulti con epatite virale la bilirubina rimane elevata per 30.3 ± 19.7 giorni dopo che è stato raggiunto il picco (175), ma diminuisce più rapidamente nei bambini (181); l'ittero rimane per più di 6 settimane nel 34% dei casi di HBV negli adulti ma solo nel 15% delle altre forme di epatite virale (181). Un aumento prolungato di bilirubina coniugata avviene occasionalmente con epatite virale, soprattutto con l'HAV, ma non indica una cattiva prognosi se la funzione sintetica rimane intatta (215). Un aumento significativo della bilirubina è frequente nel danno epatico tossico ed ischemico. Una volta che la bilirubina ha cominciato a diminuire, non vi sono ragioni per misurarla ancora a meno che vi sia un peggioramento clinico dell'ittero.

Esami di coagulazione- Un tempo di protrombina allungato è comune nel danno epatico ischemico e tossico, spesso con risultati >15 secondi o di 4 secondi superiore al limite superiore dell'intervallo di riferimento o di INR > 6.5 che ritornano rapidamente al normale. Non esistono dati sull'entità di aumento che influenza la prognosi nel danno epatico ischemico. Allungamenti superiori a 15 secondi o di 4 secondi superiori al limite superiori al limite dell'intervallo di riferimento del tempo di protrombina o INR di 6.5 nell'epatite virale ed in quella alcolica sono indicatori di malattia più severa (98, 99, 100)

Indicatori sierologici- In soggetti con epatite acuta B, l'HBsAg è il migliore indicatore di clearance virale. I pazienti che perdono l'HBsAg e sviluppano gli anticorpi anti-HBs, non presentano virtualmente mai recidive di danno epatico e possono essere considerati guariti dall'infezione di HBV. Nell'infezione acuta da HCV, la maggior parte di individui non sviluppa mai un quadro clinico di danno epatico acuto (154, 211). L'unico indicatore affidabile di clearance di HCV è la negatività in almeno due occasioni dell'HCV RNA, usando metodi qualitativi sensibili.

Raccomandazioni: Tempo di protrombina superiore ad un INR di 6.5, bilirubina >257 $\mu\text{mol/L}$ (15 mg/dL) o lo sviluppo di una encefalopatia identifica pazienti a rischio che richiedono un monitoraggio stretto ed eventualmente la consulenza di un gastroenterologo o di un epatologo (IIB).

Nei pazienti con epatite virale acuta B, la ripetizione dell'HBsAg deve essere eseguita entro 6-12 mesi; se negativo e gli anticorpi anti-HBs sono positivi, non è richiesto ulteriore monitoraggio (IIE).

Nei pazienti con epatite virale acuta C la determinazione dell'ALT deve essere eseguita periodicamente nei successivi 1-2 anni per assicurare che i risultati rimangano normali. La clearance del virus deve essere confermata con la determinazione qualitativa dell'HCV RNA (IIB).

Sezione IV.

Danno epatico cronico

Il danno epatico cronico è un disordine relativamente comune con sintomatologia minima, ma con rischi a lungo termine di grave morbilità e di mortalità. Dal punto di vista patologico è definito come necrosi ed infiammazione epatica persistenti, spesso accompagnate da fibrosi. Può progredire a cirrosi (il 15-20% nel caso di HCV cronica) e predispone al carcinoma epatocellulare. È dovuto di solito ad infezione cronica virale ed è stato stimato che solo negli Stati Uniti le persone con infezione cronica di HCV sono 2.1-2.7 milioni (1) e quelle portatrici croniche di HBV 1-1.25 milioni. Mentre nelle altre parti del mondo la percentuale di prevalenza per l'infezione da HCV è tra lo 0.5 ed il 5%, la prevalenza dell'HBV varia di molto ed in molte aree l'HBV è una infezione endemica. La prevalenza di HBV endemica nei bambini sta diminuendo in molte parti del mondo grazie all'impiego del vaccino HBV. Il quadro clinico e le ricerche di laboratorio sono spesso adeguate a stabilire la diagnosi più probabile con un valore predittivo dell'88% nell'epatite alcolica e dell'88% per l'epatite virale cronica (prima della disponibilità degli esami per HCV) rispetto alla biopsia (216).

Raccomandazioni: In assenza di biopsia epatica che dimostra una epatite cronica si può usare una delle definizioni cliniche seguenti per fare diagnosi di epatite cronica:

Persistenza di ALT aumentata per più di 6 mesi dopo un episodio di epatite acuta oppure

Aumento dell'ALT (non spiegato altrimenti) in più di una occasione in un periodo di 6 mesi.

Un periodo più breve può essere appropriato in pazienti con fattori di rischio per epatite cronica virale, cause genetiche di danno epatico o danno autoimmune del fegato; o in presenza di segni o sintomi di malattia epatica (IIB).

Anche se la definizione di danno epatico cronico in base alla concentrazione di ALT elevata è largamente accettata, il 15-50% dei pazienti con infezione cronica da epatite C ha dei livelli di ALT persistentemente normali (211). La probabilità che l'attività ALT rimanga normale diminuisce con l'aumento delle determinazioni; anche dopo tre risultati normali di ALT, l'11% dei pazienti con viremia cronica da HCV sviluppa successivamente livelli

persistentemente elevati di ALT (211). L'ALT, soprattutto nell'epatite cronica C, presenta delle fluttuazioni tra risultati normali e patologici. Il 60% dei pazienti in cui l'ALT è stata misurata ripetutamente presenta almeno occasionalmente dei valori normali di ALT (Dufour DR, osservazioni non pubblicate). La maggior parte dei pazienti con concentrazione di ALT persistentemente normale ha evidenza istologica di epatite cronica alla biopsia ma, in generale, infiammazione più lieve, meno fibrosi e percentuali minori di progressione verso la cirrosi rispetto ai pazienti con HCV e valori elevati di ALT (185, 217). I Centers for Disease Control and Prevention non raccomandano di trattare i pazienti con HCV e valori di ALT persistentemente normali (218). Anche se sono necessari studi a lungo termine, sembra che la definizione clinica proposta non perda un gruppo significativo di pazienti che richiedono terapie e che possono trarre beneficio da questa.

Non è sempre possibile distinguere danno epatico acuto e cronico. La maggior parte dei pazienti con epatite cronica C (la forma più comune di danno epatico cronico) presenta valori di ALT 1-4 volte più alti del limite superiore dell'intervallo di riferimento ed il 90% ha una concentrazione di ALT che non supera più di 7 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento, valori più bassi di quelli riscontrati di solito nell'epatite acuta. Tuttavia in circa il 5% dei casi il valore picco dell'ALT può superare di oltre 10 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento, spesso associato ad ittero, con un pattern simile a quello visto nel danno epatico acuto (Dufour DR, osservazioni non pubblicate). In questi casi sono spesso necessari altri esami per escludere un'altra causa di danno epatico acuto.

Screening

Lo screening della popolazione generale per il danno epatico cronico non è efficiente dal punto di vista economico; l'esame deve essere limitato ai soggetti a rischio elevato (218, 219). Questi comprendono i soggetti con storia familiare di malattia genetica nota per interessare il fegato, indicate di seguito (Tabella 14), o con fattori di rischio per l'infezione virale cronica.

L'ALT è sempre più alta dell'AST nel danno epatico cronico con l'eccezione di quello alcolico; l'AST è normale in molti casi. L'ALT può essere normale nei pazienti con cirrosi, mentre l'AST rimane elevata (100, 220). Bilirubina totale e diretta e fosfatasi alcalina sono normali praticamente in tutti i pazienti e non sono utili per lo screening (216, 221, 222). Se in un controllo di routine si riscontra una attività elevata di ALT, questo risultato deve essere confermato prima di investigare ulteriormente il dato. In una minoranza di soggetti con solo una ALT elevata viene poi rilevata una malattia epatica (221, 223). I pazienti con ALT leggermente elevata (1-2 volte il limite supe-

riore dell'intervallo di riferimento) hanno una maggiore probabilità di avere un aumento transitorio non dovuto a malattia (216, 222, 223): tuttavia solo il 30% dei pazienti con infezione cronica da HCV ha dei valori picco di ALT meno di 2 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento (Dufour DR, osservazioni non pubblicate). Poiché l'ALT è presente anche nella muscolatura scheletrica, è consigliabile escludere esercizio fisico recente e, in questo caso, misurare la creatina chinasi per escludere l'origine muscolare dell'ALT (25, 223). [N.d.T.: I traduttori non condividono questo approccio (vedi anche Larsson A., Tryding N. Is it necessary to order Aspartate Aminotransferase with Alanine transferase in clinical practice? Clin Chem 2001; 47: 1133-4). In medicina generale l'ALT è sufficiente per lo screening delle epatopatie].

Nei pazienti con fattori di rischio per infezione cronica da HBV o HCV (Tabella 14), si deve misurare l'HBsAg e l'anti-HCV come screening di infezione cronica. I "portatori cronici" di HBV hanno tipicamente una ALT normale (224), ed il 15-30% dei pazienti con infezione cronica da HCV ha ALT persistentemente o intermittenemente normale; tuttavia la probabilità di riscontrare solo valori normali cade con la frequenza degli esami eseguiti (225). Poiché occasionalmente individui con anticorpi anti-HCV non hanno viremia rilevabile, nei soggetti con anti-HCV positivi ed ALT normale deve essere misurato l'HCV RNA quantitativo per identificare quelli con infezione

Fattori di rischio certi

- Somministrazione endovenosa di droghe d'abuso
- Emodialisi cronica
- Trasfusione di sangue o trasfusione prima del 1992 (HCV)
- Contatto con il sangue (compreso siringa) da un donatore risultato successivamente positivo all'HCV
- Terapia con concentrati di fattori della coagulazione prima del 1987
- Origine asiatica (HBV)
- Personale sanitario non vaccinato (HBV)
- Neonato nato da madre con HBV o HCV croniche
- Maschi omosessuali (HBV)

Fattori di rischio possibili

- Piercing o tatuaggi sul corpo
- Promiscuità sessuale
- Personale sanitario (HCV)
- Contatti con soggetti positivi per HBV o HCV

Tabella 14. Fattori di rischio per l'epatite virale cronica (Riferimento 218).

persistente. L'HCV RNA può essere transitoriamente presente nelle fasi precoci dell'infezione. Se un paziente ha un'ALT persistentemente elevata, anticorpi anti-HCV positivi e l'HCV RNA negativo, l'esame deve essere ripetuto.

Raccomandazioni: Nei soggetti asintomatici a rischio elevato è raccomandato lo screening per l'epatite cronica (IIB,E).

L'ALT è l'esame più efficiente dal punto di vista economico per lo screening del danno epatico metabolico o da farmaci; deve essere misurata anche l'AST nel caso di anamnesi positiva per abuso di alcol (IIB,E).

Si deve eseguire, oltre all'ALT, la sierologia virale specifica nei soggetti a rischio elevato di epatite virale (IB,E).

Se necessario, la conferma di infezione cronica da HCV in un soggetto positivo per anticorpi anti-HCV deve essere eseguita con la ricerca di HCV RNA; se negativa, in presenza di ALT elevata, deve essere ripetuto l'HCV RNA (IIB,E).

Diagnosi differenziale

Se la storia clinica suggerisce abuso di alcol e/o l'AST è più alta dell'ALT (soprattutto se è maggiore del doppio), la diagnosi più probabile è quella di epatite alcolica. Virtualmente nessuna altra forma di danno epatico cronico porta ad un'AST più alta dell'ALT a meno che si sviluppi cirrosi (221, 222). Anche se la maggior parte dei casi di danno epatico cronico è causata da virus, farmaci o etanolo, molte altre patologie possono produrre danno epatico cronico. Non sono necessari altri esami se la valutazione iniziale è compatibile con epatite B o C e epatite alcolica (222, 226). I farmaci, soprattutto sulfonamidi, agenti ipocolesterolemizzanti e isoniazide possono provocare un aumento persistente dell'ALT (198). In uno studio compiuto in un'area a bassa prevalenza di epatite virale, un'anamnesi positiva per assunzione di farmaci era frequente nei pazienti con danno epatico cronico senza eziologia apparente anche dopo indagini accurate (227). In pazienti con ALT elevata, indicatori virali negativi, ed anamnesi negativa per ingestione di farmaci o alcol, devono essere considerate cause meno comuni di danno epatico cronico (Tabella 15).

Causa	Caratteristiche principali	Esami di screening	Esami di conferma
Steatoepatite non alcolica	La causa più comune dopo quella virale e quella alcolica	Nessuno	Biopsia
Emocromatosi	Tratto autosomico recessivo; 1:200 nelle popolazioni del Nord Europa	Saturazione transferrina > 45%; capacità insatura di legare il ferro < 28 $\mu\text{mol/L}$ (155 mg/dL)	Analisi del gene HFE per ricercare la mutazione C282Y
Malattia di Wilson	Tratto autosomico recessivo; 1:30000; anemia emolitica; danno renale	Bassa ceruloplasmina nel 65-95% dei soggetti omozigoti e nel 20% di quelli eterozigoti	Analisi genetica, bassa cupremia, alta cupruria
Epatite autoimmune	Fino al 18% delle epatite non-virali, soprattutto in donne giovani; -globuline aumentate	ANA e ASMA; frequenti falsi positivi per HCV	Biopsia
Cirrosi biliare primitiva	Donne di mezza età; di solito soprattutto aumento della fosfatasi alcalina; spesso associata alla sindrome di Sjögren	Anticorpi anti-mitocondri	Biopsia
Colangite sclerosante	Uomini di età giovane-adulta; di solito soprattutto aumento della fosfatasi alcalina; spesso associata con malattie infiammatorie intestinali	Anticorpi anti-citoplasma dei neutrofilo; anche ANA e ASMA possono essere positivi	Imaging del dotto biliare
Deficit di alfa-1-antitripsina	Tratto autosomico recessivo; 1:1000-20000. E' controverso se causa una malattia cronica epatica negli adulti	Fenotipizzazione dell'alfa-1 antitripsina	

Tabella 15. Altre cause di elevazione cronica di ALT e/o AST

Raccomandazioni: La valutazione iniziale deve comprendere una dettagliata anamnesi farmacologica insieme alla determinazione di HBsAg e anti-HCV. Se gli anticorpi anti-HCV sono positivi, l'infezione cronica deve essere confermata mediante determinazione qualitativa dell'HCV RNA (IIB, E).

In presenza di ALT persistentemente elevata ed indicatori virali negativi, devono essere misurati anche anticorpi antinucleo, ferro e capacità legante il ferro (o capacità insatura di legare il ferro) (IIIB).

Nei pazienti con meno di 40 anni deve essere misurata anche la ceruloplasmina (IIIB).

Nei pazienti negativi per questi esami, deve essere eseguita la fenotipizzazione dell'alfa 1 antitripsina (IIIB).

Se questi esami sono negativi o non conclusivi deve essere eseguita una biopsia epatica (IIIB).

Indagini dei pazienti senza causa evidente di danno epatico cronico

Steatoepatite non alcolica (NASH)- La malattia epatica cronica simile dal punto di vista istologico all'epatite alcolica (alterazione lipidiche o steatosi, risposta infiammatoria neutrofila e corpi di Mallory) in pazienti in cui non vi sia una anamnesi da abuso alcolico è stata definita NASH (227). La NASH è la causa più comune di danno epatico cronico diverso da quella virale ed alcolica e la causa più comune di cirrosi criptogenetica (216, 228). Anche se compare più frequente nelle donne di mezza età con obesità e/o diabete, compare anche negli uomini ed in assenza di questi fattori di rischio (228). I pazienti con NASH di solito hanno un profilo lipidico patologico anche se risultati normali non escludono la malattia (229). Il calo di peso può causare un miglioramento significativo nella concentrazione degli enzimi; in uno studio una riduzione di peso dell'1% ha causato una diminuzione media dell'8.1% (230). Non vi sono dati clinici o esami di laboratorio che definiscono in modo certo una diagnosi di NASH; la biopsia è l'unica procedura diagnostica con specificità adeguata.

Raccomandazioni: Per confermare la diagnosi di NASH è necessaria la biopsia (IIB).

Emocromatosi- L'emocromatosi, un tratto autosomico recessivo, è il più frequente difetto genetico ereditario di chi discende dalle popolazioni del Nord Europa (circa 1:200-1:300 negli Stati Uniti) (231). La grande maggioranza dei casi è dovuta ad una o due mutazioni puntiformi del gene HFE sul

cromosoma 6. La maggioranza (60-90%) dei soggetti affetti è omozigote per la mutazione C282Y (845A) mentre una minoranza è eterozigote per questa mutazione e per la mutazione H63D (187G) (232). Lo screening comprende la rivelazione di una saturazione aumentata di transferrina (saturazione = ferro sierico (Fe) * 100/capacità legante il ferro totale (TIBC))(233) o bassa capacità legante il ferro insatura (234). Un cutoff di saturazione della transferrina $\geq 45\%$ o un cutoff di capacità legante il ferro insatura $\geq 28 \mu\text{mol/L}$ (155 mg/dL) ha una sensibilità del 90-100% per l'omozigosi per la mutazione C282Y; se sono usati campioni raccolti a digiuno la specificità è del 43% (235, 236). Una recente Consensus Conference raccomanda che la diagnosi definitiva sia fatta con l'analisi genetica (237). Anche se molte pubblicazioni recenti hanno dimostrato la fattibilità dello screening per emocromatosi usando la saturazione della transferrina, la maggior parte delle organizzazioni e dei ricercatori non raccomanda attualmente lo screening a causa di alcuni problemi non risolti relativi alla capacità di convincere i giovani a sottoporsi all'esame, alla specificità e riproducibilità degli esami di screening ed al problema circa la storia naturale della malattia non trattata (237). Lo screening è stato raccomandato dal College of American Pathologists (238) e si è stimato faccia risparmiare 3.10 dollari per donatore di sangue sottoposto a screening (239).

Raccomandazioni: Lo screening iniziale per l'emocromatosi deve essere la saturazione sierica di transferrina o la capacità legante il ferro insatura (IIB).

Una saturazione di transferrina $\geq 45\%$ o una capacità legante il ferro insatura $\leq 28 \mu\text{mol/L}$ (155 mg/dL) devono essere seguiti dall'analisi per le mutazioni del gene HFE (IIB).

Lo screening della popolazione può essere utile ma non è attualmente raccomandato poiché non sono chiariti i benefici dello screening (IIB, E).

Malattia di Wilson- La malattia di Wilson, un disordine autosomico recessivo, compare in circa 1 su 30.000 soggetti in Europa e Nord America. E' causato da una mutazione di un gene sul cromosoma 13 che codifica per una ATPasi necessaria per il trasporto del rame (240). La malattia di Wilson si può presentare come malattia epatica, neurologica o psichiatrica, quasi sempre prima dei 40 anni. La maggior parte dei pazienti che si presentano con malattia epatica non presentano sintomi neurologici (201). L'elemento diagnostico più comune è una bassa concentrazione di ceruloplasmina plasmatica. Basse concentrazioni di ceruloplasmina possono presentarsi anche in condizioni come malnutrizione, perdita di proteine e malattia epatica avanzata.

Concentrazioni falsamente normali si possono riscontrare in gravidanza, dopo somministrazione di estrogeni ed in caso di infiammazione acuta (241). La maggior parte degli autori riporta bassa ceruloplasmina nel 95% degli omozigoti e nel 20% degli eterozigoti (241). Uno studio ha riportato ceruloplasmina normale nel 35% dei pazienti con malattia epatica cronica dovuta a malattia di Wilson (confermata da analisi genetiche nell'80%), ma solo nel 15% dei pazienti con malattia di Wilson senza coinvolgimento evidente del fegato (201). Altri risultati attesi nella malattia di Wilson comprendono aumento del rame libero nel siero e diminuzione del rame totale, aumento dell'escrezione di rame nelle urine ed aumento del contenuto di rame nel fegato. Questi esami danno spesso dei risultati non chiari nei pazienti con malattia di Wilson (201, 242). Esami multipli sono spesso necessari per arrivare ad una diagnosi.

Raccomandazioni: La determinazione della ceruloplasmina per diagnosticare la malattia di Wilson è indicata nei pazienti con meno di 40 anni con danno epatico cronico, fegato grasso, e ricerche negative per epatite virale, danno epatico indotto dai farmaci ed emocromatosi (IIB).

Lo screening per malattia di Wilson non è indicato in tutti i pazienti con danno epatico cronico (IIB, E).

Lo studio degli indicatori genetici può essere utile nei casi dubbi, ma l'analisi deve essere in grado di riconoscere le mutazioni multiple del gene della malattia di Wilson (IIIB, E).

Epatite autoimmune- L'epatite autoimmune (AIH) è responsabile fino al 18% dei casi di epatite cronica non dovuti a virus o alcol (243). Sono state descritte molte varianti di AIH (244). Il tipo 1, che colpisce soprattutto le donne giovani e di mezza età, è la forma più frequente; è associato a titoli elevati di anticorpi anti-nucleo (ANA) e/o anticorpi anti-muscolo liscio (ASMA). Il tipo 2, che colpisce soprattutto i bambini, è frequente in Europa ma raro negli Stati Uniti; è associato a anticorpi contro l'antigene microsomico fegato-rene (anti-LKM1) ma raramente presenta ANA e ASMA positivi. Molti pazienti con il tipo 2 hanno una infezione da HCV. Il tipo 3, che colpisce soprattutto le donne giovani, è associato in molti casi con malattia autoimmune sistemica. La maggior parte dei pazienti affetti non presenta ANA e ASMA o anticorpi contro l'antigene microsomico fegato-rene ma è positiva per gli anticorpi per l'antigene epatico solubile (anti-SLA). Un pannello internazionale ha definito dei criteri diagnostici standardizzati ed un sistema di punteggio (206). Il quadro classico del più comune tipo 1 comprende aminotransferasi elevate; elevazione minima o assente della fosfatasi alcalina,

ipergammaglobulinemia policlonale (almeno 1.5 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento); nessuna evidenza di infezione virale, fattori di rischio per infezione virale o assunzione di droghe d'abuso o alcol e ANA o ASMA positivi (almeno 1:80) (206). Circa il 40% dei pazienti con infezione HCV cronica ha ANA o ASMApositivi, di solito a titoli bassi (244). Falsi positivi anti-HCV sono stati riportati nel 60% dei pazienti con AIH usando esami EIA di seconda generazione e nel 20% usando esami di terza generazione (245); si solito il titolo anti-HCV scompare dopo una terapia efficace (246). Nei casi dubbi si può usare l'HCV RNA (o l'immunoblotting ricombinante) per fare la diagnosi (245).

Raccomandazioni: Si deve sospettare una epatite autoimmune nei pazienti con danno epatico cronico, aumento delle immunoglobuline ed assenza di indicatori virali o fattori di rischio per l'epatite virale (IIIB, E).

La diagnosi di AIH1 deve essere confermata clinicamente dalla positività ad alto titolo o dagli anticorpi anti-nucleo (ANA) o dagli anticorpi anti-muscolo liscio (ASMA) (IIIB).

Cirrosi biliare primitiva e colangite sclerosante primitiva- La cirrosi biliare primitiva (PCB) e la colangite sclerosante primitiva (PSC) sono malattie autoimmuni che causano la distruzione del dotto biliare. Anche se di solito sono aumentate ALP e GGT, i pazienti con PCB e CSP possono presentare aumenti di AST e ALT e possono essere sospettati di essere affetti da epatite cronica. La cirrosi biliare primitiva è associata a distruzione dei dotti biliari intraepatici; è spesso associata ad altri disordini autoimmuni, soprattutto sindrome di Sjögren (fino all'80% dei casi) (247). In quasi tutti i pazienti con PCB si rileva un indicatore autoimmune, gli anticorpi antimitocondri (AMA). Anche se altre malattie possono essere associate con AMA positivi, nelle PCB l'anticorpo è diretto contro il complesso piruvato deidrogenasi (i cosiddetti AMAtipo 2), soprattutto contro il diidrolipoamide acetiltrasferasi (E2) e la proteina legante l'E3 (248). Circa il 5-10% dei pazienti presenta caratteristiche sia del PCB che dell'AIH (249). La PCB è spesso diagnosticata in soggetti asintomatici in cui è stata riscontrata una ALPelevata. AST e ALT sono elevate in circa la metà dei casi, anche se i valori superano di 2 volte il limite superiore dell'intervallo di riferimento solo nel 20% (250). La colangite sclerosante primitiva è associata a danno sia dei dotti biliari intraepatici che di quelli extraepatici; il 70% dei casi è associato a malattia infiammatoria intestinale (morbo di Crohn o colite ulcerosa) (251). Anticorpi anti-citoplasma neutrofilo perinucleare sono trovati in circa 2/3 dei casi (252). Nella PSC

gli anticorpi sono di solito diretti contro la catepsina G, proteina battericida e che aumenta la permeabilità, e/o la lattoferrina. Le diverse specificità anticorpali non sembrano avere significato prognostico, anche se i pazienti con cirrosi presentano più frequentemente anticorpi contro antigeni multipli e verso antigeni diversi dalla lattoferrina (253). Anticorpi anti-muscolo liscio ed anticorpi anti-nucleo sono presenti in una percentuale di pazienti che arriva al 70% (254).

Raccomandazioni: Si deve sospettare una cirrosi biliare primitiva o una colangite sclerosante primitiva in presenza di un aumento cronico della fosfatasi alcalina (IIB).

La diagnosi deve essere confermata clinicamente dalla positività o degli anticorpi anti-mitocondrio (AMA) o degli anticorpi anti-citoplasma neutrofilo (ANCA) a titolo elevato rispettivamente per PBC e PSC (IIB).

Deficit di alfa-1-antitripsina (A1AT)- L'alfa-1-antitripsina è il più importante inibitore proteasico; il difetto congenito si presenta in circa 1 su 1000-2000 soggetti con antenati europei. Il gene per l'A1AT è situato sul cromosoma 14 (255); il difetto è dovuto di solito alla sostituzione di un unico aminoacido che altera il legame carboidratico ne ostacola la liberazione dagli epatociti (256). Il deficit più importante interessa l'omozigosi per la variante Z, denominata Pi (per inibitore della proteasi) ZZ. Il deficit è associato ad enfisema ed epatite neonatale (257); è stato riportato danno epatico cronico con cirrosi e carcinoma epatocellulare (256). Quasi tutti i neonati Pi ZZ hanno un danno epatico alla nascita; questo si risolve di solito prima dei 12 anni (257). Negli adulti il 50% dei soggetti positivi PiZZ (omozigoti o eterozigoti) sviluppa cirrosi ed il 31% sviluppa carcinoma epatocellulare (256). Vi è un eccesso di eterozigoti tra i pazienti sottoposti a trapianto di fegato, soprattutto tra i pazienti con cirrosi criptogenetica in cui circa il 25% sono Pi Z positivi (258). È dimostrato tuttavia che il deficit di A1AT o l'eterozigosi per il fenotipo PiZ possono produrre un danno epatico non direttamente, ma aumentando la suscettibilità al danno epatico causato da altri agenti e soprattutto i virus. Due studi controllati hanno trovato la stessa frequenza di PiZ (omozigoti o eterozigoti) nei pazienti con malattia epatica e nei controlli (259). In uno studio su 164 pazienti con PiZ, il 40% aveva una patologia epatica cronica; l'87% era anche positivo per anticorpi HCV o HBV e solo l'11% non aveva altri fattori di rischio per malattia epatica (260). Poiché l'A1AT è una proteina della fase acuta, la concentrazione può risultare falsamente normale nel corso di infezione o infiammazione e falsamente bassa nel corso di malnutrizione, condizioni che portano a perdita di proteine o malattia epatica.

tica terminale. In uno studio, la concentrazione era normale nel 42% dei pazienti PiZ eterozigoti con malattia epatica (261). La diagnosi per deficit di A1AT deve essere la fenotipizzazione e non la determinazione della concentrazione nel plasma (256).

Raccomandazioni: L'esame per il deficit di alfa-1-antitripsina può essere utile nei pazienti con danno epatico cronico senza altra causa apparente, anche se il ruolo del deficit di alfa-1-antitripsina nell'adulto non è definito chiaramente (IIB).

L'esame è importante soprattutto nei neonati con evidenza di danno epatico (IIB).

L'esame per le varianti dell'A1AT deve essere eseguito con per la determinazione del fenotipo (IIB).

Non è raccomandato lo screening dei pazienti con danno epatico cronico per deficit di alfa-1-antitripsina (IIIB,E).

Altri virus

E' stato suggerito che altri due virus siano forse coinvolti nella patogenesi dell'epatite cronica, il virus dell'epatite G (HGV) e il virus TT (TTV). I due virus possono essere trasmessi con una trasfusione e presentano una viremia cronica. Ad oggi vi sono evidenze che l'infezione con questi virus è frequente ma non vi sono prove certe che abbiano un ruolo nel danno epatico. L'HGV (ed il correlato GBV-C), appartengono come l'HCV, alla famiglia dei flavivirus. L'HGV è stato identificato per la prima volta in pazienti dopo una trasfusione, anche se la maggior parte di questi non mostrava evidenze di danno epatico (262). L'HGV può essere rilevato frequentemente anche nell'epatite cronica (263), ma non sembra essere una causa frequente di malattia cronica epatica criptogenetica (264). Infatti l'HGV RNA è trovato raramente nei pazienti con viremia cronica (265). Il TTV è stato identificato per la prima volta in pazienti con epatite post-trasfusionale (266). Negli Stati Uniti il TTV è stato trovato nell'1-7% dei donatori di sangue (267, 268). La presenza di TTV DNA è più frequente nei pazienti con epatite acuta non-A-E che nei pazienti con epatite di altra causa o nei soggetti di controllo (268-269).

Raccomandazioni: La ricerca di HGV e TTV è raccomandata solo in ambito di ricerca (IIIE).

Monitoraggio

Anche se l'ALT è l'esame di laboratorio più usato in clinica per il monitoraggio del danno epatico, vi sono spesso notevoli oscillazioni nell'attività enzimatica nel corso del tempo (soprattutto nell'infezione cronica da HCV) (217, 270). È importante misurare l'ALT molte volte nell'HCV cronica prima di concludere che è normale (225); il 43% dei soggetti infettati cronicamente ha concentrazioni di ALT che oscillano tra il normale ed il patologico ed il 16% di quelli con valori normali in occasione delle due prime visite e l'11% di quelli con valori normali in occasione delle tre prime visite presentano poi delle concentrazioni di ALT aumentate (211). Tra i pazienti con infezione cronica da HBV senza ALT aumentata ("portatori cronici"), circa il 10% presenta ALT aumentata nel corso del follow up (224); l'ALT deve essere quindi misurata periodicamente anche se risulta inizialmente normale.

Nel caso di HBV e HCV croniche, la clearance virale è il metodo più affidabile per rivelare la risoluzione dell'infezione. Nell'epatite B non trattata, la clearance virale si verifica in una piccola percentuale di pazienti; in studi a lungo termine, la perdita di HBeAg si verifica in una quota di pazienti che va da 1/3 a 1/2 (208, 270). In quelli che perdono l'HBeAg, il 5-10% avrà la clearance degli HBsAg in 10 anni (224, 271). L'HBeAg, se inizialmente positivo, deve essere ricontrollato periodicamente. Se HBeAg è negativo e l'anti-HBe è positivo può indicare o l'inizio della clearance virale dall'organismo o l'integrazione dell'HBV DNA nel DNA ospite e la perdita della capacità di formare virus replicanti. L'HBsAg e l'anti-HBs devono essere misurati periodicamente per evidenziare la clearance virale, poiché l'HBsAg rimane positivo nei pazienti con integrazione dell'HBV DNA. Nel trattamento dell'HBV la probabilità della clearance virale è correlata al valore basale di ALT; è più probabile che i pazienti con ALT elevata rispondano rispetto a quelli con attività ALT inizialmente normale (272). Quando il trattamento ha successo vengono perduti HBV DNA, HBsAg e HBeAg. Anche se vi sono prove che l'HBeAg correla bene con HBV DNA (273), non sono disponibili dosaggi quantitativi commerciali per HBeAg. L'HBeAg può scomparire anche nei pazienti che non mostrano risposta alla terapia (274). Inoltre sta aumentando la frequenza dei mutanti "pre-core" che non possono produrre HBeAg, soprattutto in aree endemiche in Asia e nella regione mediterranea (275). I pazienti infettati con questi mutanti hanno anticorpi anti-HBe, ma continuano ad avere HBV DNA circolante. Nelle infezioni con ceppi normali l'HBV DNA rimane rilevabile più a lungo di quanto accade per l'HBsAg nella guarigione (276). Quando il DNA virale si integra nel genoma dell'ospite, l'HBsAg è ancora prodotto, anche se di solito l'HBeAg e l'HBV DNA sono negativi nel sangue (277). Con il trattamento con lamivudina la produzione di acido nucleico virale attraverso la transcriptasi inversa è inibita (277), anche se la con-

centrazione di DNA virale negli epatociti non è cambiata (278). Per queste ragioni l'uso di HBV DNA, HBeAg e HBsAg può essere utile nel monitoraggio dei pazienti con HBV cronica dato che nessun singolo esame dimostra in modo certo la clearance virale.

La maggior parte degli studi ha mostrato che l'HCV RNA ha delle oscillazioni nel tempo, ma di rado superano 1 log e nella maggior parte dei casi la variazione è inferiore a 0.5 log (279). Nei soggetti non trattati e controllati ripetutamente nel corso di molti anni, l'HCV RNA aumenta in media di 0.25 log/anno (281). Tuttavia in alcune serie, quando l'HCV RNA è misurato ogni mese, si vedono differenze fino a 3 log in pazienti con ALT aumentata (282); l'HCV RNA può subire fluttuazioni tra una media di 10^6 copie/mL ad indosabile in circa 1/3 di pazienti infettati cronicamente (283).

Attualmente la terapia antiretrovirale è raccomandata per i pazienti con infezione cronica da HCV che hanno ALT elevata e un quadro biotico più grave di modificazioni infiammatorie. La terapia attualmente disponibile più efficace è la combinazione di ribavirina ed interferone. Gli esami di laboratorio sono risultati utili nel predire la risposta a cicli di terapia di lunghezza variabile e in quelli che non stanno rispondendo alla terapia ed in cui la terapia dovrebbe essere probabilmente interrotta. In quelli trattati con terapia combinata, è stato trovato che sia la carica virale che il genotipo identificano pazienti che possono rispondere a 24 settimane di terapia piuttosto che a 48 (284, 285). In un'analisi combinata di questi due studi, cinque fattori (Tabella 16) si sono dimostrati utili nel predire la risposta.

<p>Fattori favorevoli</p> <ul style="list-style-type: none">• Genotipo 2 o 3• Carico virale < mediana (3.5×10^6 copie/mL)• Sesso femminile• Età <40 anni• Assenza di fibrosi o solo portale <p>Fattori sfavorevoli</p> <ul style="list-style-type: none">• Genotipo 1, 4, 5, 6• Carico virale > mediana• Sesso maschile• Età >40 anni• Fibrosi settale o più grave
--

Tabella 16. Fattori di rischio favorevoli e sfavorevoli nel trattamento di HCV con interferone e ribavirina (Riferimento 286)

Persone con genotipo 2 o 3, insieme a tre-quattro altri fattori di rischio favorevoli, possono essere trattati efficacemente con solo 24 settimane di terapia; per tutti gli altri pazienti è meglio continuare la terapia per 48 settimane (286). L'indicatore migliore di clearance virale è l'assenza persistente di HCV RNA (determinata con dosaggi di HCV RNA qualitativo). L'assenza di HCV RNA 6 mesi dopo la conclusione della terapia è associata con una probabilità inferiore al 10% di recidiva di viremia HCV (287). La diminuzione della carica virale in assenza di clearance non è una prova affidabile di successo della terapia; comunque la mancata riduzione a meno di 400.000 copie/mL dell'HCV RNA è associata ad una probabilità del 100% di persistenza di HCV RNA alla fine del trattamento (286). La Figura 9 schematizza come affrontare il monitoraggio del trattamento con una terapia combinata dei pazienti con HCV.

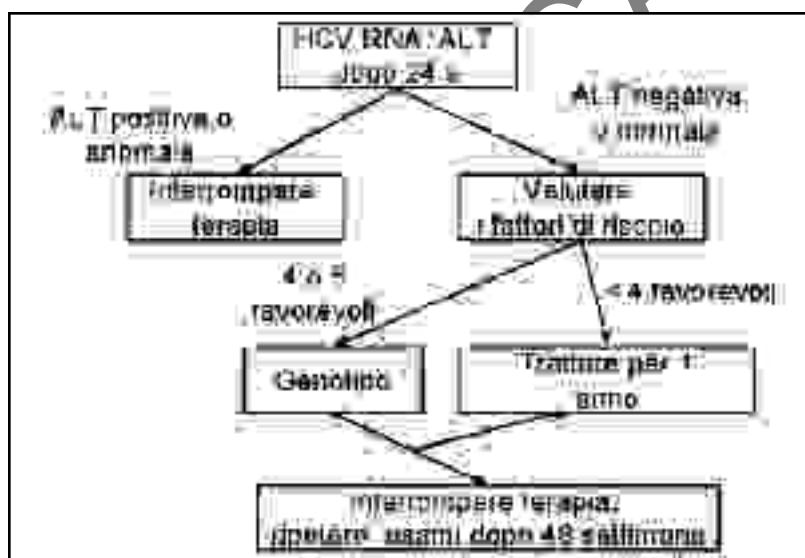


Figura 9. Approccio al trattamento dell'Epatite C- Prima di iniziare la terapia vengono raccolti campioni per HCV RNA (usando un metodo quantitativo lineare fino almeno a 4×10^6 copie/mL) e genotipo; se non esiste la possibilità di congelarli a -70°C per almeno 6 mesi, l'esame deve essere eseguito prima della terapia. Dopo 6 mesi di terapia, devono essere misurati ALT e HCV RNA con un metodo sensibile (limite inferiore di rivelabilità < 1000 copie/mL). La terapia deve essere interrotta se l'ALT rimane elevata e/o HCV RNA rimane dosabile. Nei pazienti che mostrano una risposta, sono usati i fattori rischio (Tabella 16) per stabilire se sono necessari altri 6 mesi di terapia. La terapia può essere interrotta nei pazienti che sono genotipo 2 o 3 e che hanno almeno 3 altri fattori di rischio favorevoli.

Alcuni pazienti non possono assumere la ribavirina. L'unica opzione attuale di trattamento per questi pazienti è la monoterapia con interferone. Dopo questo tipo di terapia, se l'HCV RNA non torna a valori indosabili o se l'ALT non si normalizza dopo 12 settimane di terapia, la probabilità di insuccesso della terapia supera il 95% ed è considerata una ragione per interromperla (288).

La frequenza ottimale di esecuzione degli esami di laboratorio in pazienti con epatite cronica C è nota. La European Association for the Study of the Liver Consensus Conference on Hepatitis C raccomanda che nei pazienti non trattati siano misurati ogni 6 mesi emocromo completo ed enzimi epatici (289). Le complicanze più importanti della terapia con interferone sono depressione, trombocitemia ed ipotiroidismo, mentre l'anemia emolitica è la complicanza principale della terapia con ribavirina. La European Association for the Study of the Liver raccomanda che sia eseguito un emocromo completo ogni settimana durante le prime quattro settimane di terapia e controlli regolari dopo le prime quattro settimane. Raccomanda anche la determinazione del TSH ogni 6 mesi durante la terapia.

Raccomandazioni: Nell'epatite virale gli indicatori virali rappresentano gli indicatori più affidabili di risoluzione dell'epatite (IIB).

La quantificazione dell'HCV RNA e del genotipo sono determinanti importanti della durata della terapia combinata. Per ridurre le spese degli esami, se possibile, si devono raccogliere campioni prima della terapia e si deve conservarli a -70°C in attesa dei risultati della terapia. Se questo non è possibile, l'esame deve essere eseguito prima di iniziare la terapia (IIB, E).

Nei pazienti con HCV trattati con interferone e ribavirina, l'HCV RNA deve essere misurato dopo 24 settimane di terapia per individuare i potenziali *responder*. Se non è analizzato il genotipo e non è eseguito l'HCV RNA ma i campioni sono stati congelati per la loro analisi prima del trattamento, devono essere analizzati quelli con HCV RNA negativi e fattori di rischio favorevoli (IIB, E).

Nei pazienti con HCV trattati con monoterapia con interferone, devono essere misurati HCV RNA qualitativo ed ALT dopo 12 settimane di terapia per individuare i non *responders* (IIB).

In quelli negativi per HCV RNA dopo 24 settimane di terapia, deve essere eseguita un'analisi di HCV RNA con un metodo sensibile (attualmente un metodo qualitativo) 6 mesi dopo la fine della terapia per documentare il persistere della remissione virologica (IIB).

Nei pazienti con HBV non trattati l'HBeAg deve essere monitorato periodicamente; una volta negativo in presenza di anticorpi anti-HBe positivi, l'HBsAg deve essere controllato periodicamente per determinare la clearance virale. In caso di terapia anti-virale, deve essere usato anche l'HBV DNA per documentare la clearance virale (IIB).

Nei pazienti trattati devono essere eseguiti l'emocromo completo ed il conteggio delle piastrine ogni settimana nelle prime 4 settimane ed una volta al mese successivamente. Il TSH deve essere eseguito ogni 3-6 mesi o prima se insorgono sintomi di distiroidismo. L'ALT deve essere misurata almeno ogni mese (IIIB).

L'ALT è l'indicatore migliore di attività infiammatoria, ma è di utilità limitata nel predire il grado di infiammazione e inutile nello stimare la gravità della fibrosi (IIB).

Sezione V.

Cirrosi

La principale conseguenza dell'epatite cronica è la possibile evoluzione in cirrosi, la fase terminale dei processi cicatriziali e rigenerativi del fegato in risposta al danno cronico. I processi cicatriziali producono un aumento della resistenza alla circolazione attraverso la vena porta (che porta sangue dall'intestino al fegato), causando ascite, varici esofagee e aumento del rischio di infezione. La cirrosi può portare ad insufficienza epatica e rappresenta la causa più frequente di trapianto del fegato. Il "gold standard" per la valutazione dei pazienti con epatite cronica è la biopsia epatica, che permette di determinare la gravità del danno.

L'epatite cronica ha due componenti principali: danno infiammatorio e fibrosi. L'estensione dell'infiammazione riflette l'entità del danno attuale mentre l'estensione della fibrosi è più strettamente correlata alla probabilità di sviluppare cirrosi. Le attività plasmatiche delle aminotransferasi non sono correlate al grado di fibrosi e la correlazione tra attività dell'ALT plasmatica (290,291) o concentrazione di HCV RNA (nell'infezione cronica da HCV) (291) ed attività istologica è debole. L'ALT spiega al massimo il 30-50% della variazione nell'attività istologica e vi è una considerevole sovrapposizione nei valori dei pazienti con attività lieve, moderata ed elevata (290, 291). L'attività dell'infiammazione ha una debole correlazione con la velocità di progressione della fibrosi (292).

La fibrosi epatica è associata con la deposizione di numerose proteine nel fegato. Tra le proteine prodotte nel corso della fibrosi vi sono collagene, laminina, elastina e fibronectina ed enzimi prodotti nella sintesi del collagene come la lisil e la prolina idrossilasi. Nel processo di fibrosi sono prodotti anche numerosi proteoglicani come lo ialuronato. La fibrosi è rimossa da numerosi enzimi correlati, denominati metalloproteinasi della matrice; questi enzimi ed i loro inibitori sono prodotti anche nell'epatite cronica. I numerosi studi relativi alla concentrazione plasmatica di proteoglicani, proteine della fibrosi e loro precursori (293,294) hanno mostrato al massimo una debole correlazione tra concentrazione di indicatore ed estensione della fibrosi. La concentrazione riflette il grado di fibrogenesi al momento della raccolta del campione ed esiste una grande sovrapposizione nella concentrazione in presenza di fibrosi di grado diverso.

Nella progressione dall'epatite cronica alla cirrosi, molti risultati di esami di laboratorio di base si modificano. E' stato ripetutamente dimostrato che il

rapporto tra AST e ALT è tipicamente < 1 nei pazienti con epatite cronica (a eccezione di quella alcolica) ma cresce frequentemente oltre 1 con la progressione della cirrosi; la specificità di un rapporto >1 è 75-100%, con una sensibilità di 32-83% (100, 200). In uno studio (220) il rapporto è aumentato anche con l'aumento dello score di fibrosi; questo sembra dovuto ad una riduzione della produzione di ALT da parte del fegato danneggiato (295). Altri esami di routine che predicono la probabilità di cirrosi sono la trombocitopenia e un prolungamento del tempo di protrombina; un indice che impiega queste due variabili con il rapporto AST/ALT ha una sensibilità del 46% ed una specificità del 98% per la cirrosi (100). L'albumina è misurata di solito nei pazienti in cui è sospettata la progressione in cirrosi poiché, anche se non è un indicatore sensibile come altri, è usato come indicatore di gravità nella classificazione di Child-Pugh di cirrosi. L'AFP aumenta con l'aumentare del grado di fibrosi epatica (296), soprattutto nella cirrosi; una concentrazione di AFP superiore a $17.8 \mu\text{g/L}$ ha una sensibilità del 35% ed una specificità del 98.6% e una predittività del valore positivo del 97.7% (297).

Raccomandazioni: La biopsia è l'unico indicatore definitivo di progressione da epatite cronica a cirrosi (IIB)

Gli indicatori di laboratorio di fibrosi devono essere usati solo per ricerca (IIB, E).

Gli indicatori di funzione epatica che possono indicare progressione a cirrosi (rapporto AST/ALT, albumina, tempo di protrombina; conteggio piastrinico) devono essere misurati ogni 3-6 mesi nei pazienti con epatite cronica (IIB).

Sezione VI. Carcinoma epatocellulare

Il cancro primitivo del fegato (carcinoma epatocellulare, HCC) è una grave complicazione tardiva del danno epatico cronico, soprattutto nella cirrosi dovuta a HBV, HCV ed emocromatosi. L'HCC è visto di rado nei pazienti con HCV cronica ed in portatori asintomatici di HBV. È il quinto cancro per diffusione a livello mondiale ed è particolarmente frequente nell'Asia orientale ed in Africa (298). L'incidenza di HCC è aumentata del 70% negli Stati Uniti negli ultimi 20 anni, soprattutto tra i pazienti più giovani (299), e sta aumentando anche in altre parti del mondo (298). Il rischio di sviluppare HCC nella cirrosi da infezione da HBV o HCV cronica è dell'1,5% per anno (300, 301). In uno studio su 448 casi di HCC, il 75% era comparso in pazienti con cirrosi; tuttavia, solo nel 30% dei casi la cirrosi venne riconosciuta clinicamente prima della diagnosi di carcinoma epatocellulare (302). Questi dati suggeriscono che l'attivazione di programmi di screening deve comprendere pazienti con danno epatico cronico e pazienti con diagnosi di cirrosi. Tuttavia, in uno studio il carcinoma epatocellulare si sviluppò in 325 pazienti con epatite cronica grave o cirrosi ed in nessuno tra 800 pazienti con epatite cronica lieve o moderata (303). Poiché i pazienti con ALT normale hanno in genere un quadro biotipico di lieve infiammazione (185, 217, 218), è ragionevole escludere dallo screening le persone senza cirrosi e con ALT normale o un quadro biotipico che non arriva alla epatite grave. Altri fattori di rischio sono il sesso maschile e l'età superiore a 55 anni.

La prognosi dei pazienti con HCC diagnosticato per la comparsa di sintomi è pessima, con pochi pazienti che sopravvivono più di 6 mesi. La diagnosi di tumori di piccole dimensioni consente potenzialmente una resezione curativa e rappresenta la base per considerare l'opportunità di uno screening. La pratica corrente suggerisce la misurazione dell' -fetoproteina (AFP) e lo studio ultrasonografico del fegato ogni 6 mesi (304). L'interpretazione dell'AFP è purtroppo complicata da aumenti intermittenti che si verificano nel 12-13% dei pazienti con HBV o HCV cronica (305), spesso (ma non sempre) associati con aumenti transitori nella concentrazione dell'ALT (306). Un Workshop Consensus Development ha raccomandato lo screening dei portatori cronici di HBsAg almeno una volta l'anno, e preferibilmente due, con la sola AFP, mentre nei pazienti con altri fattori di rischio (cirrosi, anamnesi familiari) deve essere misurata l'AFP ed eseguita l'ultrasonografia (307). Nel danno epatico cronico, un elevato rischio di HCC è presente nei pazienti con

emocromatosi o con cirrosi dovuta a HBV, HCV o abuso alcolico. Altre cause di danno epatico cronico e cirrosi hanno un rischio minore di HCC (308).

Nei paesi occidentali il valore predittivo dell'AFP è basso, spesso tra il 10 ed il 30% e l'AFP presenta una sensibilità compresa tra il 40 e l'80% (309, 310). In 147 pazienti con cirrosi, nessuno dei 30 pazienti con HCC aveva una AFP > 105 µg/L al momento della diagnosi e il 60% aveva una AFP < 20 µg/L. Comunque la frequenza di HCC in pazienti con AFP < 50 µg/L era del 17%, rispetto al 42% di quelli con AFP più alta (310). In un altro studio su 260 pazienti con cirrosi l'HCC si sviluppò nel 26% dei pazienti con un AFP iniziale < 20 µg/L e nel 46% di quelli con concentrazioni più elevate. Inoltre, quelli con un aumento transitorio superiore a 100 µg/L avevano un rischio significativamente maggiore per HCC di quelli in cui l'AFP era costantemente < 20 mg/L (311). Un'analisi decisionale sugli articoli dedicati allo screening di HCC nei pazienti con cirrosi compensata che vivono nei paesi occidentali ha concluso che per pazienti con una probabilità di sopravvivenza a 5 anni dell'85%, lo screening aumenta l'attesa media di vita di 3-9 mesi ad un costo di 26.000-55.000 dollari per anno di vita guadagnato, cifre che si confrontano favorevolmente con quelle dello screening del cancro del colon e della mammella (312). Un'analisi sistematica di tutti gli studi pubblicati concluse che vi sono dati inadeguati per determinare il beneficio di sottoporre a screening per HCC i pazienti con malattia epatica cronica (313). In caso di screening, la frequenza di esecuzione di esami semestrali appare ottimale sulla base dei tempi di raddoppio osservato del HCC osservati che sono intorno a 3-5 mesi (314).

La de- -carbossi protrombina è stata proposta come esame di screening. E' talvolta aumentata nella malattia epatica cronica, ma vi è minore sovrapposizione con i valori nel HCC rispetto all'AFP(315, 316). Livelli elevati sono occasionalmente osservati nelle metastasi epatiche, ma di solito questi aumenti sono minimi (300, 301). La de- -carbossi protrombina appare meno sensibile (50-70%) dell'AFP, ma più specifica. La correlazione tra AFP e de- -carbossi protrombina è scarsa ed alcuni tumori sono rilevati solo dalla de- -carbossi protrombina (315, 316). Anche deficit di vitamina K possono causare aumenti significativi; ripetere l'esame dopo la somministrazione di vitamina K aumenta la specificità (315, 316). Recentemente, un immunodosaggio più sensibile è apparso promettente nella rivelazione di HCC di piccole dimensioni poiché è risultato positivo nel 27% dei casi rispetto al 3% dei metodi disponibili in precedenza (317). I dosaggi per la de- -carbossi protrombina, a differenza di quelli dell'AFP, non sono molto diffusi. Altri esami di laboratorio come le varianti dell'AFP (318) e la cromatografia di affinità con lectina della fosfatasi alcalina (319) sono state valutate in un numero di pazienti

troppo limitato per fare delle raccomandazioni definitive. Uno studio recente ha identificato elevate concentrazioni di forme anomale di GGT in 78 pazienti su 91 con HCC, ma solo nel 2.5% di 116 pazienti con altra patologia epatica (320)

Raccomandazioni: Il beneficio dello screening per il cancro epatocellulare è dubbio nelle popolazioni occidentali (IIB, E).

Lo screening deve essere limitato ai pazienti ad alto rischio (quelli con epatite cronica grave, HBV, HCV o emocromatosi) che sono suscettibili di trattamento del carcinoma epatocellulare nel caso sia riscontrato (IIB, E).

Nello screening la determinazione dell' α -fetoproteina e l'ultrasonografia devono essere eseguiti ad intervalli di almeno 6 mesi (IIB).

Attualmente vi sono pochi dati a supporto dell'impiego di altri esami (IIB).

Bibliografia

1. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-562.
2. Staadatmand F, Stinson FS, Grant BF, Dufour MC. Liver cirrhosis mortality in the United States, 1970-1995.
3. Davis GL, Albright JH, Cook SF, Rosenberg D. Projecting the future healthcare burden from hepatitis C in the United States. *Hepatology* 1998;28:390A.
4. El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999;340:745-750.
5. Kaplan LA. Determination and application of desirable analytical performance goals: the ISO/TC 212 approach. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:479-482.
6. Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:404-405.
7. Westgard JO, Seehafer JJ, Barry PL. European specifications for imprecision and inaccuracy compared with operating specifications that assure the quality required by US CLIA proficiency-testing criteria. *Clin Chem* 1994;40:1228-1232.
8. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:491-500.
9. Skendzel LP, Barnett RN, Platt R. Medically useful criteria for analytic performance of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1985;83:200-205.
10. Lott JA, Tholen DW, Massion CG. Proficiency testing of enzymes. Charting the way toward standardization. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:392-398.
11. Ross JW, Lawson NS. Analytic goals, concentration relationships, and state of the art for clinical laboratory precision. *Arch Pathol Lab Med* 1995;119:495-513.
12. Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST). *Clinical enzymology: a case-oriented approach* 1986:111-138 Year Book Medical Publishers Chicago.

13. Rej R. Measurement of aminotransferases. Part 1. Aspartate aminotransferase. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1984;21:99-106.
14. Price CP, Alberti KGMM. Biochemical assessment of liver function. In: Wright R, Alberti KGMM, Karran S, Millward-Sadler GH, eds. *Liver and biliary disease—pathophysiology, diagnosis, management*. London: WB Saunders, 1979:381-416.
15. Panteghini M. Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem* 1990;23:311-319.
16. Siest G, Henry J, Schiele F, Young DS. Interpretation of clinical laboratory tests: reference values and their biological variation. Foster City, CA: Biomedical Publications, 1985:459pp.
17. Siest G, Schiele F, Galteau M-M, Panek E, Steinmetz J, Fagnani F, Gueguen R. Aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities in plasma: statistical distributions, individual variations, and reference values. *Clin Chem* 1975;21:1077-1087.
18. Cordoba J, O’Riordan K, Dupuis J, Borensztajn J, Blei AT. Diurnal variation of serum alanine transaminase activity in chronic liver disease. *Hepatology* 1999;28:1724-1725.
19. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data, 1988-1991. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116:916-923.
20. Riferimento non presente nella monografia originale
21. Manolio TA, Burke GL, Savage PJ, Jacobs DR, Jr, Sidney S, Wagenknecht LE, et al. Sex- and race-related differences in liver-associated serum chemistry tests in young adults in the CARDIA study. *Clin Chem* 1992;38:1853-1859.
22. Salvaggio A, Periti M, Miano L, Tavanelli M, Mazurati D. Body mass index and liver enzyme activity in serum. *Clin Chem* 1991;37:720-723.
23. Piton A, Poynard T, Imbert-Bismut F, Khalil L, Delattre J, Pelissier E, et al. Factors associated with serum alanine aminotransaminase activity in healthy subjects: consequences for the definition of normal values, for selection of blood donors, and for patients with chronic hepatitis C. MULTIVIRC group. *Hepatology* 1998;27:1213-1219.
24. Nuttall FQ, Jones B. Creatine kinase and glutamic oxoacetic transaminase activity in serum: kinetics of change with exercise and effect of physical conditioning. *J Lab Clin Med* 1968;51:257-261.
25. Dufour DR. Effects of habitual exercise on routine laboratory tests [Abstract]. *Clin Chem* 1998;44(Suppl 6):A136.

26. Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clin Chem* 1981;27:35-38.
27. DiMagno EP, Corle D, O'Brien JF, Masnyk IJ, Go VL, Aamodt R. Effect of long-term freezer storage, thawing, and refreezing on selected constituents of serum. *Mayo Clin Proc* 1989;64:1226-1234.
28. Prasad R, Firkins K, Fiorello J. Stability of AST and ALT assays in Tris buffers. *Clin Chem* 1990;36:131-132.
29. Litin SC, O'Brien JF, Pruett S, Forsman RW, Burritt MF, Bartholomew LG, Baldus WP. Macroenzyme as a cause of unexplained elevation of aspartate aminotransferase. *Mayo Clin Proc* 1987;62:681-687.
30. Mifflin TE, Bruns DE, Wrotnoski U, MacMillan RH, Stallings RG, Felder RA, Herold DA. University of Virginia case conference. Macroamylase, macro creatine kinase, and other macroenzymes. *Clin Chem* 1985;31:1743-1748.
31. Nalpas B, Vassault A, Le Guillou A, Lesgourgues B, Ferry N, Lacour B, Berthelot P. Serum activity of mitochondrial aspartate aminotransferase: a sensitive marker of alcoholism with or without alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1984;4:893-896.
32. Pol S, Nalpas B, Vassault A, Bousquet-Lemercier B, Franco D, Lacour B, et al. Hepatic activity and mRNA expression of aspartate aminotransferase isoenzymes in alcoholic and nonalcoholic liver disease. *Hepatology* 1991;14:620-625.
33. Ludwig S, Kaplowitz N. Effect of serum pyridoxine deficiency on serum and liver transaminases in experimental liver injury in the rat. *Gastroenterology* 1980;79:545-549.
34. Zhou S-L, Gordon RE, Bradbury M, Stump D, Kiang C-L, Berk PD. Ethanol up-regulates fatty acid uptake and plasma membrane expression and export of mitochondrial aspartate aminotransferase in Hep G-2 cells. *Hepatology* 1998;27:1064-1074.
35. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24:58-73.
36. Vanderlinde RE. Review of pyridoxal phosphate and the transaminases in liver disease. *Ann Clin Lab Sci* 1986;16:79-93.
37. Allman MA, Pang E, Yau DF, Stewart PM, Tiller DJ, Truswell AS. Elevated plasma vitamers of vitamin B₆ in patients with chronic renal failure on regular hemodialysis. *Eur J Clin Nutr* 1992;46:679-683.

38. Dybkaer R, for the International Federation of Clinical Expert Panel on Theory of Reference Values and International Committee for Standardization in Haematology Standing Committee on Reference Values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values, part 6. Presentation of observed values related to reference values. *Labmedica* 1988;(Apr/May):27-30.
39. Lott JA, Tholen DW, Massion CG. Determination of reference ranges for serum enzymes via a large interlaboratory survey. *Arch Pathol Lab Med* 1987;111:9-15.
40. Moss DW. Multiple forms of acid and alkaline phosphatases: genetics, expression and tissue modification. *Clin Chim Acta* 1986;161:123-135.
41. Weiss MJ, Ray K, Henthorn PS, Lamb B, Kadesch T, Harris H. Structure of the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene. *J Biol Chem* 1988;263:12002-12010.
42. Clubb JS, Neale FC, Posen S. The behavior of infused placental alkaline phosphatase in human subjects. *J Lab Clin Med* 1965;66:493-507.
43. Moss DW. Physicochemical and pathophysiological factors in the release of membrane-bound alkaline phosphatase from cells. *Clin Chim Acta* 1997;257:133-140.
44. Schaefer R. The mechanism of the increase in the activity of liver alkaline phosphatase in experimental cholestasis: measurement of an increased enzyme concentration by immunochemical titration. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1975;13:277-281.
45. Bayer PM, Hotschek H, Knoth E. Intestinal alkaline phosphatase and the ABO blood group system: a new aspect. *Clin Chim Acta* 1980;108: 81-87.
46. Gordon T. Factors associated with serum alkaline phosphatase level. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:187-190.
47. Young DS. Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests, 2nd ed. Washington, DC: AACC Press, 1997.1285pp
48. Yamada N, Kido K, Hayashi S et al. Characteristics of blood biochemical constituents of pregnant women. *Acta Obstet Gynaec Jpn* 1977; 29: 447-450.
49. Dufour DR. Effects of oral contraceptives on routine laboratory tests [Abstract]. *Clin Chem* 1998;44(Suppl 6):A137.
50. Bowers GN, Jr, McComb RB, Kelley ML. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. *Sel Methods Clin Chem* 1977;8:31-39.

51. Gomez B, Jr, Ardakani S, Ju J, Jenkins D, Cerelli MJ, Daniloff GY, Kung VT. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem* 1995;41:1560-1566.
52. Anciaux ML, Pelletier AG, Attali P, Meduri B, Liguory C, Etienne JP. Prospective study of clinical and biochemical features of symptomatic choledocholithiasis. *Dig Dis Sci* 1986;31:449-453.
53. Sheeman M, Maythorn P. Predictive value of γ -glutamyl transpeptidase in various liver diseases. In: Goldberg DM, Werner M, eds. *Progress in clinical enzymology*. New York: Masson, 1979:184-7.
54. Ratanasavanh D, Tazi A, Gaspart E. Hepatic γ -glutamyl transferase release: effect of bile salt and membrane structure modification. *Adv Biochem Pharmacol* 1982;3:93-103.
55. Itoh S, Nakajima M. Liver γ -glutamyl transferase activity in viral liver disease. *Digestion* 1986;33:121-125.
56. Nemesanszky E, Lott JA. γ -Glutamyltransferase and its isoenzymes: progress and problems. *Clin Chem* 1985;31:797-803.
57. Nilssen O, Helge-Forde O, Brenn T. The Tromso Study - distribution and population determinants of γ -glutamyltransferase. *Am J Epidemiol* 1990;132:318-326.
58. Schiele F, Guilmin A-M, Detienne H, Siest G. γ -Glutamyltransferase activity in plasma: statistical distributions, individual variations, and reference intervals. *Clin Chem* 1977;23:1023-1028.
59. Combes B, Shore GM, Cunningham FG, Walker FB, Shorey JW, Ware A. Serum γ -glutamyl transpeptidase activity in viral hepatitis: suppression in pregnancy and by birth control pills. *Gastroenterology* 1977;72:271-274.
60. Young DS. *Effect of drugs on clinical laboratory tests*, 5th ed 2000:2200pp AACC Press Washington, DC.
61. Moussavian SN, Becker RC, Piepmeyer JL, Mezey E, Bozian RC. Serum γ -glutamyl transpeptidase and chronic alcoholism—influence of alcohol ingestion and liver disease. *Dig Dis Sci* 1985;30:211-214.
62. Moussavian SN, Becker RC, Piepmeyer JL, Mezey E, Bozian RC. Serum γ -glutamyl transpeptidase and chronic alcoholism—influence of alcohol ingestion and liver disease. *Dig Dis Sci* 1985;30:211-214
63. Burrows S, Feldman W, McBride F. Serum γ -glutamyl transpeptidase. Evaluation in screening of hospitalized patients. *Am J Clin Pathol* 1975;64:311-314.

64. Shaw LM, Stromme JH, London JL, Theodorsen L. International Federation of Clinical Chemistry. Scientific Committee, Analytical Section. Expert Panel on Enzymes. IFCC methods for measurement of enzymes. Part 4. IFCC methods for α -glutamyltransferase [(α -glutamyl)-peptide: amino acid α -glutamyltransferase, EC 2.3.2.2]. Clin Chim Acta 1983;135:315f-338f.
65. Chowdhury JR, Wolkoff AW, Chowdhury NR, Arias IM. Hereditary jaundice and disorders of bilirubin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS, eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease, Vol. 2. New York: McGraw-Hill, 1995:2161-2208 pp.
66. Berk PD, Martin JF, Blaschke TF, Scharchmidt BF, Plotz PH. Unconjugated hyperbilirubinemia: physiologic evaluation and experimental approaches to therapy. Ann Intern Med 1975;82:552-570.
67. Bloomer JR, Berk PD, Vergalla J, Berlin NI. Influence of albumin on the extravascular distribution of unconjugated bilirubin. Clin Sci Mol Med 1973;45:517-521.
68. McDonagh AF, Palma AA, Lauff JJ, Wu TW. Origin of mammalian biliprotein and rearrangement of bilirubin glucuronides in vivo in the rat. J Clin Invest 1984;74:763-770.
69. Fevery J, Blanckaert N. What can we learn from analysis of serum bilirubin. J Hepatol 1986;2:113-121.
70. Berk PD, Noyer C. Clinical chemistry and physiology of bilirubin. Semin Liver Dis 1994;14:346-355.
71. Zimmerman HJ. Intrahepatic cholestasis. Arch Intern Med 1979;139:1038-1045.
72. Van Hooftgem P, Fevery J, Blanckaert N. Serum bilirubins in hepatobiliary disease: comparison with other liver function tests and changes in the portobstructive period. Hepatology 1985;5:112-117.
73. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. N Engl J Med 1995;333:1171-1175.
74. Persico P, Persico E, Bakker C et al. Hyperbilirubinemia in subjects with Gilbert syndrome (GS) mutations is determined by the rate of hepatic uptake of organic anions. Hepatology 1999; 30: 501A.
75. Thomsen HF, Hardt F, Juhl E. Diagnosis of Gilbert's syndrome. Scand J Gastroenterol 1981;16:699-703.

76. Barrett PVD. Bilirubinemia and fasting [Letter]. *N Engl J Med* 1970;283:823.
77. Dufour DR. Effects of food ingestion on routine laboratory tests [Abstract]. *Clin Chem* 1998;44(Suppl 6):A136.
78. Carmel R, Wong ET, Weiner JM, Johson CS. Racial differences in serum total bilirubin levels in health and in disease (pernicious anemia). *JAMA* 1985;253:3416-3418.
79. Jhara H, Shino Y, Hashizume N, et al. Effect of light on total and direct bilirubin by an enzymatic bilirubin oxidase method. *J Anal Biol Sci* 1997; 20: 349-354.
80. Doumas BT, Wu T-W, Jendrzeczak B. Delta bilirubin: absorption spectra, molar absorptivity, and reactivity in the diazo reaction. *Clin Chem* 1987;33:769-774.
81. Doumas BT, Wu T-W. The measurement of bilirubin fractions in serum. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1991;28:415-446.
82. Kubasik NP, Mayer TK, Bhaskar AG, Sine HE, D'Souza JP. The measurement of fractionated bilirubin by Ektachem film slides—method validation and comparison of conjugated bilirubin measurements with direct bilirubin in obstructive and hepatocellular jaundice. *Am J Clin Pathol* 1985;84:518-523.
83. Doumas BT, Peters T. Serum and urine albumin: a progress report on their measurement and clinical significance. *Clin Chim Acta* 1997;258:3-20.
84. Dufour DR. Gender related differences in liver function and integrity tests [Abstract]. *Clin Chem* 1998;44(Suppl 6):A137.
85. McGinlay JM, Payne RB. Serum albumin by dye-binding: bromocresol green or bromocresol purple? *Ann Clin Biochem* 1988;25:417-421.
86. Beyer C, Boekhout M, van Iperen H. Bromocresol purple dye-binding and immunoturbidimetry for albumin measurement in plasma or serum of patients with renal failure. *Clin Chem* 1994;40:844-845.
87. Bush V, Reed RG. Bromocresol purple dye-binding methods underestimate albumin that is carrying covalently bound bilirubin. *Clin Chem* 1987;33:821-823.
88. Pascucci MW, Grisley DW, Rand RN. Electroimmunoassay of albumin in human serum: accuracy and long-term precision. *Clin Chem* 1983;29:1787-1790.

89. Ts'ao C, Swedlund J, Neofotistos D. Implications of use of low international sensitivity index thromboplastins in prothrombin time testing. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1183-1187.
90. Taberner DA, Poller L, Thomson JM, Darby KV. Effect of international sensitivity index (ISI) of thromboplastins on precision of international normalised ratios (INR). *J Clin Pathol* 1989;42:92-96.
91. Kovacs MJ, Wong A, MacKinnon K, Weir K, Keeney M, Boyle E, Cruickshank M. Assessment of the validity of the INR system for patients with liver impairment. *Thromb Haemost* 1994;71:727-730.
92. Robert A, Chazouilleres O. Prothrombin time in liver failure: time, ratio, activity percentage, or International Normalized Ratio?. *Hepatology* 1996;24:1392-1394.
93. Blanchard RA, Furie BC, Jorgensen M, Kruger SF, Furie B. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. *N Engl J Med* 1981;305:242-248.
94. Dufour DR, Teot L. Laboratory identification of ischemic hepatitis (shock liver) [Abstract]. *Clin Chem* 1988;34:1287.
95. Fuchs S, Bogomolski-Yahalom V, Paltiel O, Ackerman Z. Ischemic hepatitis: clinical and laboratory observations of 34 patients. *J Clin Gastroenterol* 1998;26:183-186.
96. Singer AJ, Carraccio TR, Mofenson HC. The temporal profile of increased transaminase levels in patients with acetaminophen-induced liver dysfunction. *Ann Emerg Med* 1995;26:49-53.
97. Willner IR, Uhl MD, Howard SC, Williams EQ, Riely CA, Waters B. Serious hepatitis A: an analysis of patients hospitalized during an epidemic in the United States. *Ann Intern Med* 1998;128:111-114.
98. Mendenhall CL. Alcoholic hepatitis. The VA Cooperative Study Group on Alcoholic Hepatitis. *Clin Gastroenterol* 1981;10:417-441.
99. O'Grady JG, Alexander GJM, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989;97:4439-4445.
100. Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol* 1997;92:1302-1304.

101. Baglin T, Luddington R. Reliability of delayed INR determination: implications for decentralized anticoagulant care with off-site blood sampling. *Br J Haematol* 1997;96:431-434.
102. Adcock DM, Kressen DC, Marlar RA. Effect of 3.2% vs. 3.8% sodium citrate on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1997;107:105-110.
103. Cunningham MTA, Johnson GF, Pennell BJ, Olson JD. The reliability of manufacturer-determined, instrument specific international sensitivity index values for calculating the international normalized ratio. *Am J Clin Pathol* 1994;102:128-133.
104. Stevenson KJ, Craig S, Dufty JMK, Taberner DA. System ISI calibration: a universally applicable scheme is possible only when coumarin plasma calibrants are used. *Br J Haematol* 1997;96:435-441.
105. Lassen JF, Kjeldsen J, Antonsen S, Petersen PH, Brandslund I. Interpretation of serial measurements of international normalized ratio for prothrombin times in monitoring oral anticoagulant therapy. *Clin Chem* 1995;41:1171-1176.
106. Poller L. Screening INR deviation of local prothrombin time systems. *J Clin Pathol* 1998;51:356-359.
107. Johnson M, Brigder M. A cross-Canada survey of prothrombin time testing. Does the establishment of local ISI values improve the accuracy of International Normalized Ratio reporting?. *Am J Clin Pathol* 1998;110:683-690.
108. Miyaji H, Ito S, Azuma T, Ito Y, Yamazaki Y, Ohtaki Y, et al. Effects of *Helicobacter pylori* eradication therapy on hyperammonemia in patients with liver cirrhosis. *Gut* 1997;40:726-730.
109. Riferimento non presente nella monografia originale
110. Batschaw ML. Inborn errors of urea synthesis. *Ann Neurol* 1994;35:133-141.
111. Heubi JE, Daugherty CC, Partin JS, Partin JC, Schubert WK. Grade 1 Reye's syndrome—outcome and predictors of progression to deeper coma grades. *N Engl J Med* 1984;311:1539-1542.
112. Stahl J. Studies of the blood ammonia in liver disease—its diagnostic, prognostic, and therapeutic significance. *Ann Intern Med* 1963;58:1-23.
113. Butterworth RF, Giguere JF, Michaud J, Lavoie J, Layrargues GP. Ammonia: key factor in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Neurochem Pathol* 1987;6:1-12.

114. Muting D, Kalk JF, Fischer R, Wuzel H, Reikowski J. Hepatic detoxification and hepatic function in chronic active hepatitis with and without cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1988;33:41-46.
115. McClain CJ, Zieve L, Doizaki WM, Gilberstadt S, Onstad GR. Blood methanetriol in alcoholic liver disease with and without hepatic encephalopathy. *Gut* 1980;21:318-323.
116. Jones EA, Basile AS. The involvement of ammonia with the mechanisms that enhance GABA-ergic neurotransmission in hepatic failure. *Adv Exp Med Biol* 1997;420:75-83.
117. Norenberg MD, Itzhak Y, Bender AS. The peripheral benzodiazepine receptor and neurosteroids in hepatic encephalopathy. *Adv Exp Med Biol* 1997;420:95-111.
118. Chamuleau RAFM, Vogels BAPM. Hyperammonemia without portal systemic shunting does not resemble hepatic encephalopathy. *Adv Exp Med Biol* 1997;420:173-183.
119. Diaz J, Tornel PL, Martinez P. Reference intervals for blood ammonia in healthy subjects, determined by microdiffusion [Letter]. *Clin Chem* 1995;41:1048.
120. Huizenga JR, Tangerman A, Gips CH. Determination of blood ammonia in biological fluids. *Ann Clin Biochem* 1994;31:529-543.
121. Derave W, Bouckaert J, Pannier JL. Gender differences in blood ammonia response during exercise. *Arch Physiol Biochem* 1997;105:203-209.
122. da Fonseca-Wollheim F. Preanalytical increase of ammonia in blood specimens from healthy subjects. *Clin Chem* 1990;36:1483-1487.
123. Davies SM, Szabo E, Wagner JE, Ramsay NK, Weisdorf DJ. Idiopathic hyperammonemia: a frequently lethal complication of bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996;17:1119-1125.
124. Xu SR, Yao EG, Dong ZR, Liu RS, Pan L, Lin FR, et al. Plasma ammonia in patients with acute leukemia. *Chin Med J* 1992;105:713-716.
125. Altunbasak S, Baytok V, Tasouji M, Herguner O, Burgut R, Kayrine L. Asymptomatic hyperammonemia in children treated with valproic acid. *J Child Neurol* 1997;12:461-463.
126. Shepard RL, Kraus SE, Babayan RK, Sirosky MB. The role of ammonia toxicity in the post transurethral prostatectomy syndrome. *Br J Urol* 1987;60:349-351.

127. Ammonia. College of American Pathologists. 325 Waukegan Road, Northfield, IL 60093, Chemistry survey set C-B 1999:73.
128. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *J Infect Dis* 1995;175(Suppl 1):S9-S14.
129. Skinhoj P, Mikkelsen F, Hollinger FB. Hepatitis A in Greenland: importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. *Am J Epidemiol* 1977;105:140-147.
130. Koff RS. Seroepidemiology of hepatitis A in the United States. *J Infect Dis* 1995;171(Suppl 1):S19-S23.
131. Goubau P, Gan Gerven V, Safary A. Effect of virus strain and antigen dose on immunogenicity and reactogenicity of an inactivated hepatitis A vaccine. *Vaccine* 1992;10(Suppl 1):S114-S118.
132. Totos G, Gizaris V, Papaevangelou G. Hepatitis A vaccine: persistence of antibodies 5 years after the first vaccination. *Vaccine* 1997;15:1252-1253.
133. Hollinger FB, Dreesman GR. Hepatitis viruses. Rose NR de Macario EC Folds JD Lane HC Nakamura RM ed. *Manual of clinical laboratory immunology*, 5th ed Washington American Society for Microbiology 1997:702-718 .
134. Lemon SM, Gates NL, Simms TE, Bancroft WH. IgM antibody to hepatitis B core antigen as a diagnostic parameter of acute infection with hepatitis B virus. *J Infect Dis* 1981;143:803-809.
135. Czaja AJ, Shiels MT, Taswell HF, Wood JR, Ludwig J, Chase RC. Frequency and significance of immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in corticosteroid-treated severe chronic active hepatitis B. *Mayo Clin Proc* 1988;63:119-125.
136. Seeff LB, Beebe GW, Hoofnagle JH, Norman JE, Buskell-Bales Z, Waggoner JG, et al. A serologic follow-up of the 1942 epidemic of post-vaccination hepatitis in the United States Army. *N Engl J Med* 1987;316:965-970.
137. Silva AE, McMahon BJ, Parkinson AJ, Sjögren MH, Hoofnagle JH, DeBisceglie AM. Hepatitis B virus DNA in persons with isolated antibody to hepatitis B core antigen who subsequently received hepatitis B vaccine. *Clin Infect Dis* 1998;26:895-897.
138. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Grenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341:22-26.

139. McMahon BJ, Parkinson AJ, Helminiak C, Wainwright RB, Bulkow L, Kellerman-Douglas A, et al. Response to hepatitis B vaccine of persons positive for antibody to hepatitis B core antigen. *Gastroenterology* 1992;103:590-594.
140. Aoki SK, Finegold D, Kuramoto IK, Douville C, Richards C, Randell R, et al. Significance of antibody to hepatitis B core antigen in blood donors as determined by their serologic response to hepatitis B vaccine. *Transfusion* 1993;33:362-367.
141. Foutch PG, Carey WD, Tabor E, Cianflocco AJ, Nakamoto S, Smallwood LA, Gerety RJ. Concomitant hepatitis B surface antigen and antibody in thirteen patients. *Ann Intern Med* 1983;99:460-463.
142. Chernesky MA, Gretch D, Mushahwar IK, Swenson PD, Yarbough PO. Cumitech 18A. Laboratory diagnosis of the hepatitis viruses. Young S, coordinating ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1998.
143. Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover FC, Tenover FC eds. *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. Washington: ASM Press, 1999:1773pp.
144. Hollinger FB, Liang Tj. Hepatitis B virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM eds. *Fields virology*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2000.
145. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998;27:1377-1382.
146. Lorient MA, Marcellin P, Walker F, Boyer N, Degott C, Randrianatoavina I, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. *J Hepatol* 1997;27:251-258.
147. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, et al. Latent hepatitis B virus infection in health individuals with antibodies B hepatitis B core antigen. *Hepatology* 2000; 31: 488-98.
148. Aoyagi K, Ohue C, Iida K, Kimura T, Tanaka E, Kiyosawa K, Yagi S. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin Microbiol* 1999;37:1802-1808.
149. Alter HJ. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology* 1992;15:340-353.

150. Lu RH, Hwang SJ, Chan CY, Chang FY, Lee SD. Quantitative measurement of serum HCV-RNA in patients with chronic hepatitis C: comparison between Amplicor HCV monitor system and branched DNA signal amplification assay. *J Clin Lab Anal* 1998;12:121-125.
151. Barrera JM, Francis B, Ercilla G, Nelles M, Achord D, Darner J, Lee SR. Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA. *Vox Sang* 1995;68:15-18.
152. Barrera JM, Bruguera M, Ercilla MG, Gil C, Celis R, Gil MP, et al. Persistent hepatitis C viremia after acute self-limited posttransfusion hepatitis. *Hepatology* 1995;21:639-644
153. Seeff LB. Mortality and morbidity of transfusion-associated non-A, non-B hepatitis and type C hepatitis: and NHLBI multi-center study [Abstract]. The NHLBI Study Group. *Hepatology* 1994;20:204A.
154. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Post H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single source outbreak in Germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology* 2000; 32: 91-96.
155. Mast AF, Hwang L-Y, Seto D, Nolte FS, Kelly MG, Alter MJ. Perinatal hepatitis C virus transmission: maternal risk factors and optimal timing of diagnosis [Abstract]. *Hepatology* 1999;30:499A.
156. Thomas SL, Newell ML, Peckham CS, Ades AE, Hall AJ. Use of polymerase chain reaction and antibody tests in the diagnosis of vertically transmitted hepatitis C virus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:711-719.
157. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Cohn S, Thomas DL. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology* 1999;29:908-914.
158. Pawlotsky J-M, Lonjon I, Hezode C, Raynard B, Darthuy F, Remire J, et al. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories?. *Hepatology* 1998;27:1700-1702.
- 158a. Ravaggi A, Biasin MR, Infantolino D, Cariani E. Comparison of competitive and non-competitive reverse transcriptiohn-polymerase chain reaction (RT-PCR) for the quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA. *J Virol Methods* 1997;65A:123-129. **Riferimento doppio nella monografia originale**
159. Lunel F, Cresta P, Vitour D, Payan C, Dumont B, Frangeul L, et al. Comparative evaluation of hepatitis C virus RNA quantitation by branched DNA, NASBA, and Monitor assays. *Hepatology* 1999;29:528-535.

160. Davis GL, Lau JY, Urdea MS, Neuwald PD, Wilber JC, Lindsay K, et al. Quantitative detection of hepatitis C virus RNA with a solid-phase signal amplification assay: definition of optimal conditions for specimen collection and clinical application in interferon-treated patients. *Hepatology* 1994;19:1337-1341.
161. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology assays for HCV RNA. *Vox Sang* 1999;76:149-158.
162. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995;15:41-63.
163. Reddy KR, Hoofnagle JH, Tong MJ, Lee WM, Pockros P, Heathcote EJ, et al. Racial differences in response to therapy with interferon in chronic hepatitis C. Consensus Interferon Study Group. *Hepatology* 1999;30:787-793.
164. Forns X, Bukh J. Methods for determining the hepatitis C virus genotype. *J Viral Hepat* 1998;4:1-19.
165. Germer JJ, Rys PH, Thorvilson JN, Pershing DH. Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *J Clin Microbiol* 1999;37:2625-2630.
166. Marshall DJ, Heisler LM, Lyamichev V, Murvine C, Olive DM, Ehrlich GD, et al. Determination of hepatitis C virus genotype in the United States by cleavage fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 1997;35:3156-3162.
167. Pawlotsky JM, Prescott L, Simmonds P, Pellet C, Laurent-Puig P, Labonne C, et al. Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. *J Clin Microbiol* 1997;35:1734-1739.
168. Lau JY, Mizokami M, Kolberg JA, Davis GL, Prescott LE, Ohno, et al. Application of six hepatitis C genotyping systems to sera from chronic hepatitis C patients in the United States. *J Infect Dis* 1995;171:282-289.
169. Rizzetto M, Ponzetto A, Forzani I. Epidemiology of hepatitis delta virus: overview. *Prog Clin Biol Res* 1991;364:1-20.
170. Erker JC, Dessai SM, Schlauder GG, Dawson GJ, Mushawar IK. A hepatitis E variant from the United States: molecular characterization and transmission in cynomolgus macaques. *J Gen Virol* 1999;80:681-690.

171. Yarbough PO, Tam AW, Gabor K, Garza E, Mockli RA, Palings I, et al. Assay development of diagnostic tests for hepatitis E. In: Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Tokyo: Springer-Verlag, 1994:367-370.
172. Mast EE, Alter MJ, Holland PV, Purcell RH. Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group. *Hepatology* 1998;27:857-861.
173. Thomas DL, Yarbough PO, Vlahov D, Tsarev SA, Nelson KE, Saah AJ, Purcell RH. Seroreactivity to hepatitis E virus in areas where the disease is not endemic. *J Clin Microbiol* 1997;35:1244-1247.
174. Ellis G, Goldberg DM, Spooner RJ, Ward AM. Serum enzyme tests in diseases of the liver and biliary tree. *Am J Clin Pathol* 1978;70:248-258.
175. Rozen P, Korn RJ, Zimmerman HJ. Computer analysis of liver function tests and their interrelationship in 347 cases of viral hepatitis. *Isr J Med Sci* 1970;6:67-79. 175a. Hepatitis Surveillance Report No. 56. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1995, p.36.
176. Whitehead MW, Hawkes ND, Hainsworth I, Kingham JGC. A prospective study of the causes of notably raised aspartate aminotransferase of liver origin. *Gut* 1999;45:129-133.
177. Anciaux ML, Pelletier AG, Attali P, Meduri B, Liguory C, Etienne JP. Prospective study of clinical and biochemical features of symptomatic choledocholithiasis. *Dig Dis Sci* 1986;31:449-453.
178. Fortson WC, Tedesco FJ, Starnes EC, Shaw CT. Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *J Clin Gastroenterol* 1985;7:502-505.
179. Mihas AA, Doos WG, Spenny JG. Alcoholic hepatitis—a clinical and pathological study of 142 cases. *J Chronic Dis* 1978;31:461-472.
180. Goldberg S, Mendenhall C, Anderson S, Garcia-Pont P, Kiernan T, Seeff L, et al. VA Cooperative Study on Alcoholic Hepatitis. IV. The significance of clinically mild alcoholic hepatitis—describing the population with minimal hyperbilirubinemia. *Am J Gastroenterol* 1986;81:1029-1034.
181. Stewart JS, Farrow LJ, Clifford RE, Lamb SG, Coghill NF, Lindon RL, et al. A three-year survey of viral hepatitis in West London. *Q J Med* 1978;47:365-384.
182. Lednar WM, Lemon SM, Kirkpatrick JW, Redfield RR, Fields ML, Kel-

- ley PW. Frequency of illness associated with epidemic hepatitis A virus infections in adults. *Am J Epidemiol* 1985;122:226-233.
183. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention, and treatment. *Clin Chem* 1997;43:1500-1506.
184. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;151:599-603.
185. Hoofnagel JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):15S-20S.
186. Seeff LB, Wright EC, Zimmerman HJ, McCollum VA. Cooperative Study of Post-Transfusion Hepatitis, 1969-1974: incidence and characteristics of hepatitis and responsible risk factors. *Am J Med Sci* 1975;270:355-362.
187. Borsch G, Baier J, Glocke M, Nathusius W, Gerhardt W. Graphical analysis of laboratory data in the differential diagnosis of cholestasis: a computer-assisted prospective study. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:509-519.
188. Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. The Irish Hepatology Research Group. *N Engl J Med* 1999;340:1228-1233.
189. Vogt M, Lang T, Frosner G et al. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med* 1999;341:866-870.
190. Gitlin N, Serio KM. Ischemic hepatitis: widening horizons. *Am J Gastroenterol* 1992;87:831-836.
191. Tygstrup N, Ranek L. Assessment of prognosis in fulminant hepatic failure. *Semin Liver Dis* 1986;6:129-137.
192. Harrison PM, O'Grady JG, Keays RT, Alexander GJ, Williams R. Serial prothrombin time as prognostic indicator in paracetamol induced fulminant hepatic failure. *Br Med J* 1990;301:964-968
193. Noskin GA. Prevention, diagnosis, and management of viral hepatitis: a guide for primary care physicians. *Arch Fam Med* 1995;4:923-934.
194. Lemon SM, Brown CD, Brooks DS, Simms TE, Bancroft WH. Specific immunoglobulin M response to hepatitis A virus determined by solid phase radioimmunoassay. *Infect Immun* 1980;28:927-936.

195. Gretch DR, dela Rosa C, Carithers RL, Jr, Wilson RA, Williams B, Corey L. Assessment of hepatitis C viremia using molecular amplification technologies: correlations and clinical implications. *Ann Intern Med* 1995;123:321-329.
196. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, et al. The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 1992;327:1899-1905.
197. London WT, Evans AA. The epidemiology of hepatitis viruses B, C, and D. *Clin Lab Med* 1996;16:251-271.
198. Zimmerman HJ. *Hepatotoxicology: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:789pp.
199. Fry SW, Seeff LB. Hepatotoxicity of analgesics and anti-inflammatory agents. *Gastroenterol Clin North Am* 1995;24:875-905.
200. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology* 1995; 22: 767-773.
- 200a. Johnson RD, O'Connor ML, Kerr RM. Extreme serum elevations of aspartate aminotransferase. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1244-1245.
201. Shilsky ML. Wilson disease: genetic basis of copper toxicity and natural history. *Semin Liver Dis* 1996;16:83-95.
202. Steindl P, Ferenci P, Dienes HP, Grimm G, Pabinger I, Madl C, et al. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology* 1997;113:212-218.
203. Berman DH, Leventhal RI, Gavaler JS, Cadoff EM, Van Thiel DH. Clinical differentiation of fulminant Wilsonian hepatitis from other causes of hepatic failure. *Gastroenterology* 1991;100:1129-1134.
204. Crapper RM, Bhathal PS, Mackay IR, Frazer IH. "Acute" autoimmune hepatitis. *Digestion* 1986;34:216-225.
205. Amontree JS, Stuart TD, Bredfeldt JE. Autoimmune chronic active hepatitis masquerading as acute hepatitis. *J Clin Gastroenterol* 1989;11:303-307.
206. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993;18:998-1008.
207. Horwitz CA, Burke MD, Grimes P, Tombers J. Hepatic function in mononucleosis induced by Epstein-Barr virus and cytomegalovirus. *Clin Chem* 1980;26:243-246.

208. Liaw YF, Chu CM, Su IJ, Huang MJ, Lin DY, Chang-Chien CS. Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1983;84:216-219.
209. Yuki N, Hayashi N, Moribe T, Matsushita Y, Tabata T, Inoue T, et al. Relation of disease activity during chronic hepatitis C infection to complexity of hypervariable region 1 quasispecies. *Hepatology* 1997;25:439-444.
210. Tong MJ, el-Farra NS, Crew MI. Clinical manifestations of hepatitis A. Recent experience in a community teaching hospital. *J Infect Dis* 1995;171(Suppl 1):15S-18S.
211. Inglesby TV, Rai R, Astemborski J, Gruskin L, Nelson KE, Vlahov D, Thomas DL. A prospective community-based evaluation of liver enzymes in individuals with hepatitis C after drug use. *Hepatology* 1999;29:590-596.
212. de Franchis R, Meucci G, Vecchi M, Tatarella M, Colombo M, Del Ninno E, et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993;118:191-194.
213. Weiss JS, Gautam A, Lauff JJ, Sundberg MW, Jatlow P, Boyer JL, Seligson D. The clinical importance of a protein-bound fraction of serum bilirubin in patients with hyperbilirubinemia. *N Engl J Med* 1983;309:147-150.
214. Van Hootegem P, Fevery J, Blanckaert N. Serum bilirubins in hepatobiliary disease: comparison with other liver function tests and changes in the postobstructive period. *Hepatology* 1985;5:112-117.
215. Gordon SC, Reddy KR, Schiff L, Schiff ER. Prolonged intrahepatic cholestasis secondary to acute hepatitis A. *Ann Intern Med* 1984;101:635-637.
216. Van Ness MM, Diehl AM. Is liver biopsy useful in the evaluation of patients with chronically elevated liver enzymes? *Ann Intern Med* 1989;111:473-478.
217. Mathurin P, Moussalli J, Cadranet J-F, Thibault V, Charlotte F, Dumouchel P, et al. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C patients with persistently normal alanine aminotransferase activity. *Hepatology* 1998;27:568-572.
218. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR* 1998;47(No. RR-19):1-39.

219. Quinn PG, Johnston DE. Detection of chronic liver disease: costs and benefits. *Gastroenterologist* 1997;5:58-77.
220. Sheth SG, Glamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1998;93:44-48.
221. Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G, Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand J Gastroenterol* 1986;21:109-113.
222. Friedman LS, Dienstag JL, Watkins E, Hinkle CA, Spiers JA, Rieder SV, Huggins CE. Evaluation of blood donors with elevated serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med* 1987;107:137-144.
223. Kundrotas LW, Clement DJ. Serum alanine aminotransferase (ALT) elevation in asymptomatic US Air Force basic trainee blood donors. *Dig Dis Sci* 1993;38:2145-2150.
224. de Franchis R, Meucci G, Vecchi M, Tatarella M, Colombo M, Del Ninno E, et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993; 118: 191-194.
225. McMahon BJ, Christensen C, Gretch D, Williams JL, Sullivan DG, Bruden D, et al. Alanine aminotransferase (ALT) levels over time in anti-HCV-positive persons who are HCV RNA positive compared with persons who are HCV RNA negative but RIBA positive [Abstract]. *Hepatology* 1999;30:358A.
226. Cauza E, Maier-Dobersberger T, Polli C, Kaserer K, Kramer L, Ferenci P. Screening for Wilson's disease in patients with liver diseases by serum ceruloplasmin. *J Hepatol* 1997;27:358-362.
227. Mathiesen UL, Franzen LE, Fryden A, Foberg U, Bodemar G. The clinical significance of slightly to moderately increased liver transaminase values in asymptomatic patients. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:85-91.
228. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997;126:137-145.
229. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CJ, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994;107:1103-1109.
230. Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. *Gastroenterology* 1990;99:1408-1413.
231. McLaren CE, Gordeuk VR, Looker AC, Hasselblad V, Edwards CQ,

- Griffen LM, et al. Prevalence of heterozygotes for hemochromatosis in the white population of the United States. *Blood* 1995;86:2021-2027.
232. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408.
233. Milman N, Albeck MJ. Distinction between homozygous and heterozygous subjects with hereditary haemochromatosis using iron status markers and receiver operating characteristic (ROC) analysis. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:95-98.
234. Witte DL. Mild liver enzyme abnormalities: eliminating hemochromatosis as cause. *Clin Chem* 1997;43:1535-1538.
235. Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999;341:718-724.
236. Adams PC, Kertesz AE, McLaren CE, Barr R, Bamford A, Chakrabarti S. Population screening for hemochromatosis: a comparison of unbound iron binding capacity, transferrin saturation, and C282Y genotyping in 5,211 blood donors. *Hepatology* 2000;31:1160-1164.
237. Bacon BR, Powell LW, Adams PC, Kresina TF, Hoofnagle JH. Molecular medicine and hemochromatosis: at the crossroads. *Gastroenterology* 1999;116:193-207.
238. Witte DL, Crosby WH, Edwards CQ, Fairbanks VG, Mitros FA. Practice guideline development task force of the College of American Pathologists. Hereditary hemochromatosis. *Clin Chim Acta* 1996;245:139-200.
239. Adams PC, Gregor JC, Kertesz AE, Valberg LS. Screening blood donors for hereditary hemochromatosis: decision analysis model based on a 30-year database. *Gastroenterology* 1995;109:177-188.
240. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATP-ase similar to the Menkes gene. *Nat Genet* 1993;5:327-337.
241. Gibbs K, Walshe JM. A study of the caeruloplasmic concentrations found in 75 patients with Wilson's disease, their kindreds, and various control groups. *Q J Med* 1979;48:447-463.
242. Dufour J-F, Kaplan MM. Muddying the water: Wilson's disease challenges will not soon disappear. *Gastroenterology* 1997;113:348-350.

243. Czaja AJ, Carpenter HA, Manns MP. Antibodies to soluble liver antigen, P450II5, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1993;105:1522-1528.
244. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis: evolving concepts and treatment strategies. *Dig Dis Sci* 1995;40:435-456.
245. Czaja AJ, Magrin S, Fabiano C, Fiorentino G, Diquattro O, Craxi A, Pagliaro L. Hepatitis C virus infection as a determinant of behavior in type I autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1995;40:33-40.
246. Czaja AJ, Taswell HF, Rakela J, Rabe D. Duration and specificity of antibodies to hepatitis C virus in chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1992;102:1675-1679.
247. Neuberger J. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1997;350:875-879.
248. Yeaman SJ, Fussey SPM, Danner DJ, James OFW, Mutimer DJ, Bassendine MF. Primary biliary cirrhosis: identification of two major M2 mitochondrial autoantigens. *Lancet* 1988;i:1067-1070.
249. Chazouilleres O, Wendum D, Serfaty L, Montembault S, Rosmordue O, Poupon R. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology* 1998;28:296-301.
250. Lohse AW, zum Buschenfelde KH, Franz B, Kanzler S, Gerken G, Dienes HP. Characterization of the overlap syndrome of primary biliary cirrhosis (PBC) and autoimmune hepatitis: evidence for it being a hepatitis form of PBC in genetically susceptible individuals. *Hepatology* 1999;29:1078-1084.
251. Ponsioen CI, Tytgat GN. Primary sclerosing cholangitis: a clinical review. *Am J Gastroenterol* 1998;93:515-523.
252. Mulder AH, Horst G, Haagsma EB, Limburg PC, Kleibeuker JH, Kallenberg CG. Prevalence and characterization of neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune liver diseases. *Hepatology* 1993;17:411-417.
253. Chapman RW, Cottone M, Selby WS, Shepherd HA, Sherlock S, Jewell DP. Serum autoantibodies, ulcerative colitis, and primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1986;27:86-91.
254. Roozendaal C, Van Milligen de Wit AW, Haagsma EB, Horst G, Schwarze C, Peter HH, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in primary sclerosing cholangitis: defined specificities may be associated with distinct clinical features. *Am J Med* 1998;105:393-399.

255. Carrell RW, Jeppsson JO, Laurell CB, Brennan SO, Owen MC, Vaughan L, Boswell DR. Structure and variation of human α_1 -antitrypsin. *Nature* 1982;298:329-334.
256. Propst T, Propst A, Dietze O, Judmaier G, Braunsteiner H, Vogel W. α_1 -Antitrypsin deficiency and liver disease. *Dig Dis* 1994;12:139-149.
257. Sveger T. The natural history of liver disease in α_1 -antitrypsin deficient children. *Acta Paediatr Scand* 1988;77:847-851.
258. Graziadei IW, Joseph JJ, Wiesner RH, Therneau TM, Batts KP, Porayko MK. Increased risk of chronic liver failure in adults with heterozygous α_1 -antitrypsin deficiency. *Hepatology* 1998;28:1058-1063.
259. Fisher RL, Taylor L, Sherlock S. α_1 -Antitrypsin deficiency in liver disease: the extent of the problem. *Gastroenterology* 1976;71:646-651.
260. Propst T, Propst A, Dietze O, Judmaier G, Braunsteiner H, Vogel W. High prevalence of viral infection in adults with homozygous and heterozygous α_1 -antitrypsin deficiency and chronic liver disease. *Ann Intern Med* 1992;117:641-645.
261. Hodges JR, Millward-Sadler GH, Baarbatis C, Wright R. Heterozygous MZ α_1 -antitrypsin deficiency in adults with chronic active hepatitis and cryptogenic cirrhosis. *N Engl J Med* 1981;304:557-560.
262. Linnen J, Wages J, Jr, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, et al. Molecular clone in disease association of hepatitis G virus: a transfusion transmissible agent. *Science* 1996;271:505-508.
263. Brandhagen DJ, Gross JB, Jr, Poterucha JJ, Charlton MR, Detmer J, Kolberg J, et al. The clinical significance of simultaneous infection with hepatitis G virus in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1000-1005.
264. Hollingsworth RC, Minton EJ, Fraser-Moodie C, Metivier E, Rizzi PM, Irving WL, et al. Hepatitis G infection: role in cryptogenic liver disease and primary liver cancer in the UK. Trent Hepatitis C Virus Study Group. *J Viral Hepat* 1998;4:165-169.
265. Laskus T, Radkowski M, Wang LF, Vargas H, Rakela J. Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. *J Virol* 1997;71:7804-7806.
266. Nishizawa AT, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:92-97.

267. Charlton M, Adjei P, Poterucha J, Zein N, Moore B, Therneau T, et al. TT-Virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 1998;28:839-842.
268. Matsumoto A, Yeo AET, Shih JWK, Tanaka E, Kiyosawa K, Alter HJ. Transfusion-associated TT virus infection and its relationship to liver disease. *Hepatology* 1999;30:283-288.
269. Kanda T, Yokosuka O, Ikeuchi T, Seta T, Kawai S, Imazeki F, Saisho H. The role of TT virus infection in acute hepatitis. *Hepatology* 1999;29:1905-1908.
270. Alter HJ, Conry-Cantilena C, Melpolder J, Tan D, Van Raden M, Herion D, et al. Hepatitis C in asymptomatic blood donors. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):29-33.
- 270a. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Seeff LB, Jones EA, Waggoner JG, Bales ZB. Seroconversion from hepatitis B e antigen to antibody in chronic type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1981;94:744-748. **Riferimento doppio nella monografia originale**
271. Brown SD, Barbara AJ, Lambert T, Wilson DV. Spontaneous loss of HBeAg and development of anti-HBe during long-term follow-up of blood donors found to be HBsAg positive. *Br J Biomed Sci* 1995;52:106-109.
272. Lok AS, Ghany MG, Watson G, Ayola B. Predictive value of aminotransferase and hepatitis B virus DNA levels on response to interferon therapy for chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 1998;5:171-178.
273. Bernard F, Raymond G, Willems B, Villeneuve JP. Quantitative assessment of serum hepatitis B e antigen, IgM hepatitis B core antibody and HBV DNA in monitoring the response to treatment in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 1997;4:265-272.
274. Dienstag JL, Perillo RP, Schiff ER, Bartholomew M, Vicary C, Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995;333:1704-1705.
275. Shobokshi OA, Serebour FE, Skakni L. Hepatitis B surface gene mutants and their emerging role in the efficacy of HBV vaccination programs. *Ann Saudi Med* 1999;19:87-92.
276. Lorient MA, Marcellin P, Walker F, Boyer N, Degott C, Randrianatoavina I, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. *J Hepatol* 1997;27:251-258.

277. Omata M. Treatment of chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1998;339:114-115.
278. Lai CL, Chien RN, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1998;339:61-68
279. Nguyen TT, Sedghi-Vaziri A, Wilkes LB, Mondala T, Pockros PJ, Lindsay KL, McHutchison JG. Fluctuations in viral load (HCV RNA) are relatively insignificant in untreated patients with chronic HCV infection. *J Viral Hepat* 1996;3:75-78.
280. Riferimento non presente nella monografia originale
281. Fanning L. Natural fluctuations of hepatitis C viral load in a homogeneous patient population: a prospective study. *Hepatology* 2000;31:225-229.
282. Pontisso P, Bellati G, Brunetto M, Chemello L, Colloredo G, Di Stefano R, et al. Hepatitis C RNA virus profiles in chronically infected individuals: do they relate to disease activity?. *Hepatology* 1999;29:585-589.
283. Beld M, Penning M, McMorow M, Gorgels J, van den Hoek A, Goudsmit J. Different hepatitis C virus (HCV) RNA load profiles following seroconversion among injecting drug users without correlation with HCV genotype and serum alanine aminotransferase levels. *J Clin Microbiol* 1998;36:872-877.
284. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon α -2b or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1485-1492.
285. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomised trial of interferon α -2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon α -2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *Lancet* 1998;352:1426-1432.
286. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling M-H, Albrecht J. Is an "A la Carte" combination interferon α -2b plus ribavirin regimen possible for first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGO-VIRC Project Group. *Hepatology* 2000;31:211-218.
287. Camma C, Giunta M, Pinzello G, Morabito A, Verderio P, Pagliaro L. Chronic hepatitis C and interferon α : conventional and cumulative meta-analyses of randomized clinical trials. *Am J Gastroenterol* 1999;94:581-595.

288. Management of hepatitis C. NIH Consensus Statement 1997;15:1-41.
289. Consensus statement. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris, 26-28, February 1999. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 1999;30:956-61.
290. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1250-1257.
291. McCormick SE, Goodman ZD, Maydonovitch CL, Sjögren MH. Evaluation of liver histology, ALT elevation, and HCV RNA titer in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1516-1522.
292. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997;349:825-832.
293. Oberti F, Valsesia E, Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Aube C, et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology* 1997;113:1609-1616.
294. Trinchet JC. Clinical use of serum markers of fibrosis in chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22(Suppl 2):89-95.
295. Schmidt E, Schmidt FW. Progress in the enzyme diagnosis of liver disease: reality or illusion. *Clin Biochem* 1990;23:375-382.
296. Goldstein NS, Blue DE, Hankin R, Hunter S, Bayati N, Silverman AL, Gordon SC. Serum α -fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C—relationship with serum alanine aminotransferase values, histologic activity index, and hepatocyte MIB-1 scores. *Am J Clin Pathol* 1999;111:811-816.
297. Bayati N, Silverman AL, Gordon SC. Serum α -fetoprotein levels and liver histology in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1998;93:2452-2456.
298. Bosch FX, Ribes J, Borrás J. The epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis* 1999;19:271-285.
299. El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999;340:745-750.
300. Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, Hadziyannis S, Sanchez-Tapias J, Almasio P, et al. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. *Hepatology* 1995;21:77-82.

301. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-472.
302. Zaman SN, Johnson PJ, Williams R. Silent cirrhosis in patients with hepatocellular carcinoma. Implications for screening in high-incidence and low-incidence areas. *Cancer* 1990;65:1607-1610.
303. Izzo F, Cremona F, Ruffolo F, Palaia R, Parisi V, Curley SA. Outcome of 67 patients with hepatocellular carcinoma detected during screening or 1125 patients with chronic hepatitis. *Ann Surg* 1998;227:513-518.
304. Chalasani N, Said A, Ness R, Hoen H, Lumeng L. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis in the United States: results of a national survey. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2224-2229.
305. Tong MJ, Blatt LM, Kao VW. Screening and surveillance of chronic viral hepatitis patients for hepatocellular carcinoma: a seven year study using serum α -fetoprotein and abdominal ultrasound [Abstract]. *Hepatology* 1999;30:209A.
306. Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Elevations in serum α -fetoprotein in patients with chronic hepatitis B. *Cancer* 1989;64:2117-2120.
307. McMahon BJ, London T. Workshop on screening for hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:916-919.
308. Riegler JL. Preneoplastic conditions of the liver. *Semin Gastrointest Dis* 1996;7:74-87.
309. Pateron D, Ganne N, Trinchet JC, Aurousseau MH, Mal F, Meicler C, et al. Prospective study of screening for hepatocellular carcinoma in Caucasian patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1995;22:708-709.
310. Cottone M, Turri M, Caltagirone M, Parisi P, Orlando A, Fiorentino G, et al. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with Child's A cirrhosis: an 8 years prospective study by ultrasound and α -fetoprotein. *J Hepatol* 1994;21:1029-1034.
311. Oka H, Tamori A, Kuroki T, Kobayashi K, Yamamoto S. Prospective study of α -fetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994;19:61-66.
312. Sarasin FP, Giostra E, Hadengue A. Cost-effectiveness of screening for detection of small hepatocellular carcinoma in western patients with Child-Pugh class A cirrhosis. *Am J Med* 1996;101:422-434.

313. Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998;27:273-278.
314. Sheu JC, Sung JL, Chen DS, Yang PM, Lai MY, Lee CS, et al. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *Gastroenterology* 1985;89:259-266.
315. Fujiyama S, Morishita T, Hashiguchi O, Sato T. Plasma abnormal prothrombin (des- γ -carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1621-1628.
316. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, et al. Des- γ -carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984;310:1427-1431.
317. Nomura F, Ishijima M, Kuwa K, Tanaka N, Nakai T, Ohnishi K. Serum des- γ -carboxy prothrombin levels determined by a new generation of sensitive immunoassays in patients with small-sized hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999;94:650-654.
318. Shiraki K, Takase K, Tameda Y, Hamada M, Kosaka Y, Nakano T. A clinical study of lectin-reactive α -fetoprotein as an early indicator of hepatocellular carcinoma in the follow-up of cirrhotic patients. *Hepatology* 1995;22:802-807.
319. Lu Y, Lu Q, Chen HL. Diagnosis of primary liver cancer using lectin affinity chromatography of serum alkaline phosphatase. *J Exp Clin Cancer Res* 1997;16:75-80.
320. Yao DF, Huang ZW, Chen SZ, Huang JF, Lu JX, Xiao MB, Meng XY. Diagnosis of hepatocellular carcinoma by quantitative detection of hepatoma-specified bands of serum α -glutamyl transferase. *Am. J. Clin. Pathol.* 1998; 110:743-749.

Appendice

Ringraziamenti

Aziende sponsor

La produzione e la pubblicazione di queste linee guida (Edizione inglese) è stata sostenuta da finanziamenti di:

Abbott Diagnostics
Diasorin, Inc
Bayer Corporation, Diagnostic Division (ex Chiron Diagnostics)
Innogenetics, Inc.
Ortho-Clinical Diagnostics

Collaboratori

Le seguenti persone hanno sottoposto a revisione le linee guida a stadi diversi della loro preparazione ed hanno fornito utili commenti e modifiche: Miriam Alter, Henry C Bodenheimer, Thomas D Boyer, Max A Chernesky, Gary L Davis, Jean C Edmond, Stuart C Gordon, Norman D Grace, Lawrance D Kaplan, Jacob Korula, Karen Lindsay, Brian J McMahon, James R Spivey, Thomas A Shaw-Stiffel e Myron Warshaw. Gli autori ringraziano particolarmente F Blaine Hollinger e Donald Jensen per le numerose revisioni del manoscritto e i loro numerosi suggerimenti.

Commenti particolari sono stati fatti dalle seguenti persone nel corso di una discussione al Meeting annuale dell'AACC: Ed Ashwood, Bill Brock, Thomas Burgess, Jack Goldberg, Ajit Golwkar, Neal Greenberg, Michael Heinz, Richard Horowitz, Graham Johns, Ronald Lee, Steve Lobell, Greg Post, Phil Rosenthal, Norbert Tietz, Mark Walter, Earl Weissman, William Winter e Jeffery Young.

Indice

Editoriale	pag. 3
Introduzione	» 5
Sezione I	»
Linee Guida sulle performance degli esami di laboratorio per la funzionalità ed il danno epatico	» 7
Sezione II	
Indicatori sierologici di epatite e diagnostica molecolare	» 29
Sezione III	
Danno epatico acuto	» 38
Sezione IV	
Danno epatico cronico	» 48
Sezione V	
Cirrosi	» 64
Sezione VI	
Carcinoma epatocellulare	» 66
Bibliografia	» 69
Appendice	» 96
Indice	» 97

Caleidoscopio

Italiano

... il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

1. Rasso S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rasso S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rasso S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rasso S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rasso S.: *L'obesita'*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P., Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali del - l'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D., Girelli M.E., Zanatta G.P., Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimologico e fluorimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rasso S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.

31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnassi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Caffero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni oppor-tunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriagonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzato M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterin nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Basaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNAe la virulenza batterica*. Gennaio '92.

68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa*. Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Info - citi B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptococchi beta emolitici di gruppo B (SGB)*. Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodel - lamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*. Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori*. Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P., Romano L.: *Im - munoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da principi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella dia - gnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*. Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101. Cogato I., Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.

102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale*. Maggio '96.
103. Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giugno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative*. Ottobre '96.
106. Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.
107. Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108. Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109. Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110. Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.
111. Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112. Palleschi G., Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina*. Maggio '97.
113. Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114. Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115. Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116. Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117. Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.
118. Bartoli E.: *Le glomerulonefriti acute*. Gennaio '98.
119. Bufi C., Tracanna M.: *Computerizzazione della gara di Laboratorio*. Febbraio '98.
120. National Academy of Clinical Biochemistry: *Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide*. Marzo '98.
121. Fava G., Rafanelli C., Savron G.: *L'ansia*. Aprile '98.
122. Cinco M.: *La Borreliosi di Lyme*. Maggio '98.
123. Giudice G.C.: *Agopuntura Cinese*. Giugno '98.
124. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (I)*. Luglio '98.
125. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Basofili*. Settembre '98.
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: *Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo I*. Novembre '98.
127. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (II)*. Dicembre '98.
128. Muzi P., Bologna M.: *Tecniche di immunoistochimica*. Gennaio '99.
129. Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: *Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivirali*. Febbraio '99.
130. Castello G., Silvestri I.: *Il linfocita quale dosimetro biologico*. Marzo '99.
131. Aiello V., Caselli M., Chiamenti C.M.: *Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - correlata*. Aprile '99.
132. Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: *Medicina Termale e Malattie Reumatiche*. Maggio '99.
133. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Eosinofili*. Giugno '99.
134. Fusco A., Somma M.C.: *NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*. Luglio '99.
135. Chieffi O., Bonferraro G., Fimiani R.: *La menopausa*. Settembre '99.

136. Giglio G., Aprea E., Romano A.: *Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi*. Ottobre '99.
137. Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: *Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati*. Novembre '99.
138. Giovanella L.: *Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica*. Dicembre '99.
139. Paladino M., Cerizza Tosoni T.: *Umanizzazione dei Servizi Sanitari: il Case Management*. Gennaio 2000.
140. La Vecchia C.: *Come evitare la malattia*. Febbraio 2000.
141. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Cellule dendritiche*. Marzo 2000.
142. Dammacco F.: *Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (I)*. Aprile 2000.
143. Dammacco F.: *Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (II)*. Maggio 2000.
144. Croce E., Olmi S.: *Videolaparoscopia*. Giugno 2000.
145. Martelli M., Ferraguti M.: *AllergoGest*. Settembre 2000.
146. Giannini G., De Luigi M.C., Bo A., Valbonesi M.: *TTP e sindromi correlate: nuovi orizzonti diagnostici e terapeutici*. Gennaio 2001.
147. Rassu S., Manca M.G., Pintus S., Cigni A.: *L'umanizzazione dei servizi sanitari*. Febbraio 2001.
148. Giovanella L.: *I tumori della tiroide*. Marzo 2001.
149. Dessì-Fulgheri P., Rappelli A.: *L'ipertensione arteriosa*. Aprile 2001.
150. The National Academy of Clinical Biochemistry: *Linee guida di laboratorio per lo screening, la diagnosi e il monitoraggio del danno epatico*. Settembre 2001.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 19, numero 150

Direttore Responsabile

Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464
Tel. mobile 0338 2202502
E-mail: sergio.rassu@medicalsistemas.it
sergiorassu@libero.it

Responsabile Ufficio Acquisti

Giusti Cunietti

EDITORE



Consulenti di Redazione

Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione

Carmela Tiberti

Servizio Abbonamenti

Maria Grazia Papalia
Flavio Damarciasi



Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)

Tel. (010) 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);

Telefax 010/8340310- 809070.

Internet URL: <http://www.medicalsistemas.it>

La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Caleidoscopio Illustrato, Caleidoscopio Letterario, Giornale della Associazione per l'Automazione del Laboratorio (Ed. Italiana), Guida Pratica Immulite[®], Journal of Clinical Ligand Assay (Ed. Italiana), Pandora, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa

Tipolitografia ATA
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.
Tel. 010/513120 - Fax 010/503320

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Settembre 2001

Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:

"L'ECO DELLASTAMPA"

Via Compagnoni, 28 - Milano