

## Aumentare i tassi di risposta al trattamento antipertensivo: la terapia combinata a dose fissa lercanidipina/enalapril

### To improve the response rate to antihypertensive treatment: the fixed-dose combination with lercanidipine/enalapril

#### Summary

Although many efforts paid to prevention and treatment of the hypertension, mortality and morbidity hypertension-related is still unacceptably high. This is largely due to the difficulty in maintaining the blood pressure values strictly below the goal recommended by guidelines. As confirmed by recent intervention trials, more than half of hypertensive patients treated with a single drug regimen not adequately controls its blood pressure. On this base, current guidelines have recommended the use of combination therapy as first-line treatment in high or very high risk patients or when blood pressure is above the goal of 20/10 mm Hg ( $\geq 160/100$  mmHg). In these patients blocking two or more blood pressure regulatory systems provides a more effective reduction in blood pressure with a parallel reduction of cardiovascular events. Calcium Channel Blockers (CCBs) and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitors (ACE-I) administered in combination can complement each other in lowering blood pressure. Recently a fixed-dose combinations of lercanidipine (10 mg) plus enalapril (20 mg) has been approved in some E.C. countries: here we review both the rationale and the available clinical data for the use of this combination in hypertensive patients.

Cosentino ER, Camilli Meletani S, Campomori F, et al. To improve the response rate to antihypertensive treatment: the fixed-dose combination with lercanidipine/enalapril. *Trends Med* 2011; 11(1):13-24.

©2011 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

**Eugenio Roberto Cosentino, Simone Camilli Meletani, Federica Campomori, Giulia Colombo, Beatrice Gerocarni, Alessandro Spighi, Claudio Borghi**

Dipartimento di Medicina Interna, Invecchiamento e Malattie Nefrologiche dell'Università di Bologna

**Key words:**  
hypertension  
response rate  
combination  
fixed dose  
enalapril  
lercanidipine

✉ **Eugenio Roberto Cosentino**  
Dipartimento di Medicina Interna, Invecchiamento e Malattie Nefrologiche Policlinico "S. Orsola-Malpighi"  
Via Massarenti, 9  
40138 Bologna -BO-

Al fronte dei numerosi progressi ottenuti nella gestione del paziente iperteso e delle vaste campagne di sensibilizzazione per la prevenzione primaria nelle fasce a rischio, l'ipertensione continua a rimanere di gran lunga la prima causa di morte cardiovascolare nei Paesi industrializzati<sup>1-3</sup>. Nonostante ciò nessuna altra patologia si è giovata di uno spiegamento di risorse analoghe nelle tre decadi fra il 1970 ed il 2000, sia a livello di agenzie governative che di istituti di ricerca, insinuando il fondato sospetto che non tutte le indicazioni contenute nei numerosi documenti di consenso abbiano avuto completa ricaduta nella pratica clinica quotidiana. In sintesi, se molto è stato fatto molto rimane ancora da fare per *colmare il gap fra linee gui-*

*da e pratica clinica*<sup>4,5</sup>. Per valutare quali siano le aree di implementazione è utile osservare il "problema ipertensione" da diverse angolazioni<sup>6-8</sup>, tenendo conto di quattro indicatori di outcome:

- 1) quali sono i tassi di prevalenza dell'ipertensione nella popolazione generale;
- 2) quanti sono gli ipertesi trattati;
- 3) quanti di questi raggiungono il goal previsto per la rispettiva fascia di rischio;
- 4) quali sono le barriere affinché tutti gli ipertesi siano trattati in modo coerente con le linee guida.

Poiché il goal pressorio varia in relazione al rischio cardiovascolare individuale (maggiore è il rischio più bassi devono essere i valori pressori) e, come hanno

**Tabella 1.** Tassi di prevalenza e pazienti trattati con antipertensivi in USA ed Europa. (Dati da Wolf-Maier K 2003<sup>15</sup>, Egan BM 2003<sup>17</sup>; Giampaoli S et al 2003<sup>16</sup>).

Regione	Prevalenza (%)	Trattati (%)	<140/90 mmHg
USA	27.8	52.5	40.6
Europa	44.2	26.8	—
Italia	37.7	32.0	30.7
Spagna	46.8	26.8	—
Germania	55,3	26.0	—

dimostrato le Linee Guida, non tener conto dei diversi obiettivi pressori significa lasciare esposti i pazienti ad un *rischio cardiovascolare residuo, ovvero ad un'eccedenza di eventi cardiovascolari evitabili*, è necessario tenere sempre presente quali sono gli obiettivi fissati per ciascun gruppo di ipertesi<sup>9,10</sup>. In questo contesto noi faremo riferimento alle Linee Guida americane del 2003, ai due documenti europei più recenti, le Linee Guida ESC/ESH del 2007 e del 2009, ed allo specifico documento dell'America Society of Hypertension del 2010 che si occupa espressamente di terapia combinata dell'ipertensione<sup>11-14</sup>.

## L'ipertensione nel 2010

### I dati di popolazione

Dati epidemiologici condotti in USA ed Europa indicano che i tassi di ipertensione sono, fra la

razza bianca, pressappoco simili nelle varie aree geografiche anche se con punte regionali di prevalenza probabilmente correlate a fattori concomitanti, quali l'obesità, l'età media, etc (tabella 1).

Questi dati, abbinati alla recentissima survey condotta nella decade 1999/2008 per verificare la prevalenza, i tassi di trattamento ed il controllo dell'ipertensione nella popolazione americana, ci dicono che a distanza di circa 10 anni dal rilevamento evidenziato nella tabella 1, è stato solo parzialmente raggiunto l'obiettivo prefissato nel 2003 di arrivare a tenere entro il 2010 sotto corretto controllo pressorio almeno il 50% dei trattati<sup>17,18</sup>. Per quanto riguarda l'Italia, i dati esposti nella tabella 1 sono stati purtroppo confermati dal rilevamento dell'Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare, che nel 2003 aveva individuato una prevalenza di ipertensione

nella popolazione generale pari al 38%: è interessante notare che di questi, il 27% era inconsapevole della malattia<sup>16</sup>. Infine ancora più drammatico appare il dato relativo al controllo pressorio: solo il 30.7% aveva raggiunto valori <140/90 mmHg. Ciò significa che su 100 ipertesi solo 37.7 erano trattati, e di questi solo 1/3 raggiungevano un valore di sicurezza (<140/90 mmHg). Questo valore generico di PA non sarebbe stato adeguato se i pazienti fossero stati stratificati per patologia ed a ciascun gruppo di rischio fosse stato assegnato il suo specifico obiettivo pressorio (diabetici <130/80, nefropatici <125/75, etc). *Inoltre, se si considera che nel periodo del rilevamento (anno 2003) le Linee Guida erano meno stringenti di quelle attuali (tabelle 2 e 3), la percentuale di pazienti con controllo pressorio ottimale sarebbe stata ancora più bassa.* Questi dati spiegano la ragione per cui ancora oggi

**Tabella 2.** Classificazione della pressione arteriosa nella popolazione generale. (Dati da Mancia G 2007<sup>12</sup>).

Valore (mmHg)	Classificazione
PAS=120-129    PAD=80-84	Ottimale
PAS=129-139    PAD=85-89	Subottimale (borderline)
PAS=140-159    PAD=90-99	Iipertensione di grado 1 (lieve)
PAS=160-179    PAD=100-109	Iipertensione di grado 2 (moderata)
PAS≥180        PAD≥110	Iipertensione di grado 3 (severa)

Legenda: PAS=Pressione Arteriosa Sistolica; PAD=Pressione Arteriosa Diastolica.

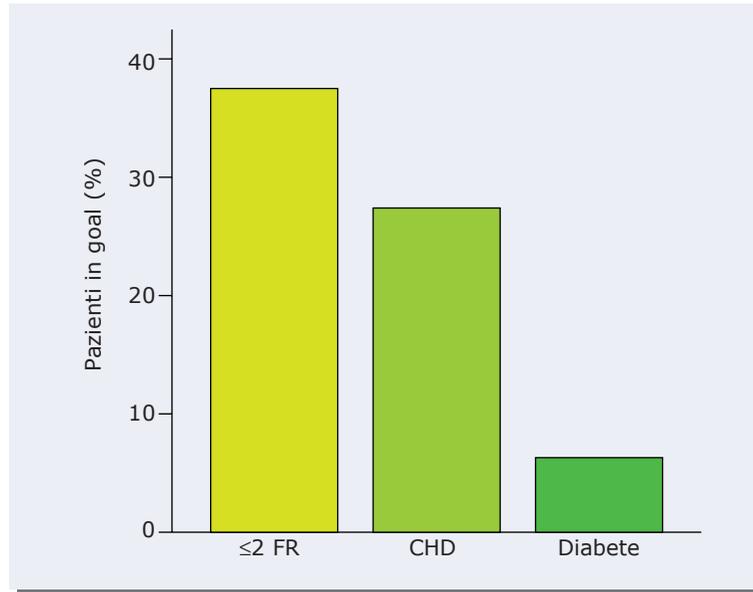
tanti eventi cardiovascolari sono legati all'ipertensione. In sintesi, non tutti i pazienti ipertesi sono trattati e di quelli trattati pochi raggiungono l'obiettivo fissato dalle Linee Guida per la loro categoria di rischio.

La tabella 2 pone solo le definizioni dei vari gradi di ipertensione ma non correla i valori pressori ottimali alla presenza di eventuali fattori di rischio, ovvero al rischio cardiovascolare globale di quel particolare paziente. Un valore di 135/85 non richiede alcun intervento farmacologico se il soggetto non presenta alcun fattore di rischio, ma è elevato e richiede trattamento farmacologico immediato se il paziente presenta insufficienza renale. Qualora si correlino le comorbidità, ovvero il rischio cardiovascolare globale con i valori desiderabili, si ottiene la tabella 3.

### I dati degli studi di intervento

Con gli antipertensivi in monoterapia attualmente utilizzati la riduzione attesa dei valori pressori si aggira mediamente intorno a 9-10 mmHg per la pressione arteriosa sistolica (PAS) e 5-6 mmHg per la pressione arteriosa diastolica (PAD), indipendentemente dalla classe. Questo dato è ben evidente nella meta-analisi di Law che ha valutato gli effetti ottenuti da varie classi di

**Figura 1.** Percentuale di pazienti in target in relazione al rischio cardiovascolare basale calcolato sulla base delle comorbidità. (Dati da Barrios 2008<sup>21</sup>).



antipertensivi in 354 studi clinici randomizzati per complessivi 40.000 pazienti trattati, rilevando riduzioni medie di 9.1/5.5 mmHg, con variazioni di efficacia modeste fra le varie classi<sup>19</sup>. Ciò significa che un paziente con valori di pressione arteriosa di 150/95 mmHg posto in monoterapia antipertensiva avrebbe poche probabilità di raggiungere il suo valore pressorio ottimale *anche in assenza di fattori di rischio* (<140/90 mmHg) e pochissime probabilità se portatore di più di 2 FR (<130/85). Le difficoltà a portare il paziente a target sussistono anche ne-

gli studi clinici controllati, nei quali i pazienti arruolati sono sotto stretto controllo medico e la compliance è sicuramente maggiore rispetto alla pratica clinica. Nello studio ALLHAT solo il 26% dei pazienti del braccio in trattamento con monoterapia era a target pressorio, nonostante al momento dello studio l'obiettivo previsto dalle Linee Guida per i pazienti diabetici (36% degli inclusi) fosse <140/90 mmHg e non <130/80, come previsto dalle attuali Linee Guida<sup>20</sup>. Se ai pazienti di quello studio fossero state applicate le Linee Guida ESC/ESH 2007 e successive, meno di un quinto dei trattati avrebbe raggiunto il suo obiettivo pressorio. In figura 1 sono riportati i tassi di risposta al trattamento antipertensivo registrati da Barrios *et al.* in vari studi clinici dopo stratificazione dei pazienti per comorbidità.

La difficoltà a raggiungere gli obiettivi pressori è stata osservata anche nello studio LIFE, dove il 90% dei pazienti che pre-

**Tabella 3.** Valori pressori ottimali in relazione al rischio cardiovascolare globale.

Fattori di rischio (FR)	Valore (mmHg)
Nessuno	<140/90
1-2 FR	<135/85
≥3 FR o DM o malattia cardiovascolare <sup>1</sup>	<130/85
Insufficienza renale ± DM <sup>2</sup>	<125/75

DM=diabete mellito; <sup>1</sup>Pregresso infarto, ictus, vasculopatia periferica; <sup>2</sup>proteinuria >1 g/die

sentavano valori pressori basali pari a 175/98 mmHg assumevano almeno 2 diversi farmaci antipertensivi per essere portati all'obiettivo fissato nel disegno dello studio ( $<140/90$  mmHg)<sup>22</sup>. In questo trial il 15% dei pazienti assumeva una combinazione di  $\geq 3$  farmaci per raggiungere il valore prefissato. Sulla base di questi riscontri si può affermare che la monoterapia si dimostra risolutiva in percentuali elevate di pazienti solo quando il delta pressorio rispetto al valore desiderabile è basso ( $<10/5$  mmHg), una condizione che probabilmente si verifica solo nella prevenzione primaria di soggetti a basso rischio. Viceversa, in una percentuale maggiore di pazienti ipertesi è necessario utilizzare la terapia combinata sin dall'inizio, come peraltro suggerito dalle Linee Guida ESC/ESH più recenti per pazienti con delta pressorio  $>20/10$  mmHg.

### Razionale della terapia combinata

Le basi teoriche per il trattamento combinato con due diversi antipertensivi sono numerose e

forti. Per quanto la pressione arteriosa sia determinata da tre soli fattori, la volemia (in gran parte dipendente dall'escrezione renale del sodio), la performance cardiaca e le resistenze vascolari (tono simpatico, RAAS, etc), i meccanismi che controllano questi 3 fattori sono numerosi e su ciascuno di essi è possibile intervenire con una specifica classe farmacologica. Ne consegue che l'ipertensione, *facendo generalmente leva su più fattori*, è difficilmente controllabile utilizzando un solo farmaco. Inoltre, dopo pochi giorni dall'assunzione di un qualunque antipertensivo, il sistema cardiocircolatorio evoca una risposta compensatoria che tende a *ripristinare i valori basali (risposta controregolatoria)*. Conseguentemente, farmaci pur potenti e mirati perdono parte della loro efficacia in conseguenza della risposta controregolatoria.

Questo effetto è ben evidente qualora si comparino le riduzioni pressorie al variare della dose: indipendentemente dalla classe farmacologica, al raddoppio della dose minima efficace corrisponde una riduzione media dei

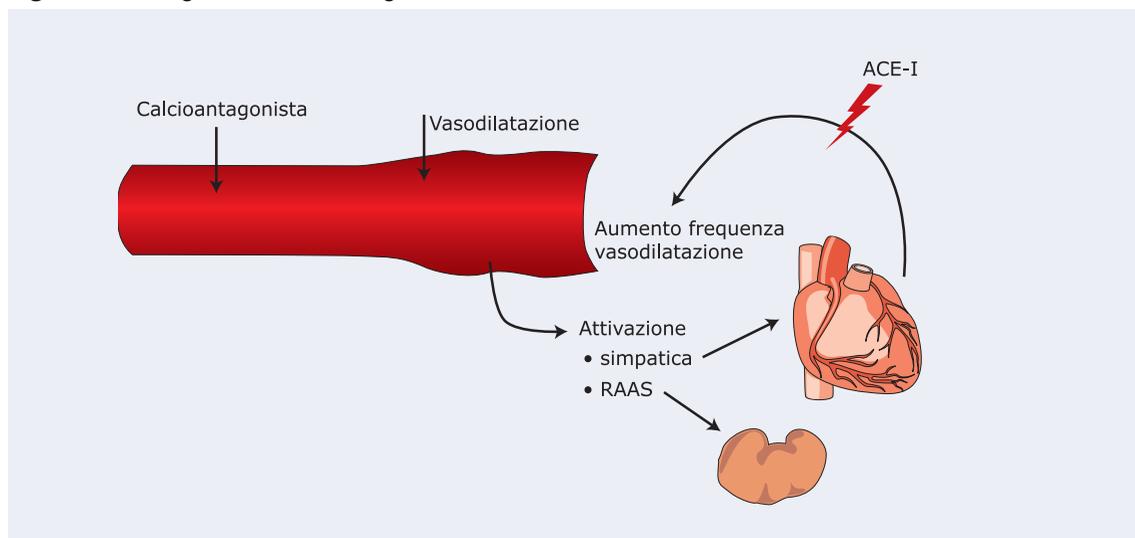
valori pressori assai modesta (15-25%), che si riduce ulteriormente ai successivi raddoppi, fino a raggiungere un effetto soglia oltre il quale ulteriori incrementi della dose sono irrilevanti ai fini dell'efficacia. Purtroppo, assai diverso anche se non lineare è invece l'andamento della curva dose/eventi avversi<sup>23,24</sup>. In conseguenza della complementarità, la terapia combinata produce evidenti vantaggi classificabili in cinque tipi:

1. incrementa l'efficacia pressoria;
2. agisce più rapidamente nel raggiungimento del target;
3. porta in target anche i pazienti a rischio elevato;
4. riduce l'incidenza di eventi avversi;
5. aumenta l'aderenza al trattamento.

### 1-Aumento della risposta

La somministrazione di due o più farmaci con diverso meccanismo d'azione non solo interferisce in più punti dell'omeostasi pressoria ma, se la scelta delle molecole è oculata, *si può ridurre con il secondo farmaco l'effetto controregolatorio del primo, e vice-*

**Figura 2.** Sinergia fra calcio-antagonista ed ACE-inibitore.



versa. Si tratta di un *effetto complementare* piuttosto che sommatorio. Un esempio tipico di complementarità è quella che si ha fra un farmaco calcio-antagonista (CA) ed un ACE-inibitore (ACE-I). Notoriamente i CA inducono, in conseguenza dell'effetto vasodilatatorio, attivazione simpatica con aumento della frequenza; in assenza dell'ACE-inibitore questo effetto può ridurre l'efficacia pressoria. L'aggiunta dell'ACE-inibitore, smorzando il tono simpatico e l'asse renina-angiotensina-aldosterone (RAAS), consente la massima efficacia del calcio-antagonista, a cui si sommano i benefici propri dell'ACE-inibitore (figura 2).

## 2-Rapidità della risposta

Per decenni il trattamento antipertensivo si è basato su un principio di prudenza, caratterizzato da bassa dose iniziale e titolazione lenta nel tempo (*"start low, go slow"*), fino a raggiungimento dell'obiettivo che, con questo approccio, può richiedere anche settimane. Benché questa modalità di trattamento riduca il rischio di episodi ipotensivi e "accompagna" il paziente verso alcuni eventi avversi tipici di una riduzione pressoria troppo rapida (astenia, vertigine, etc), numerosi studi di intervento hanno dimostrato che la latenza fra l'inizio del trattamento ed il raggiungimento dei valori desiderati è gravato da un eccesso di eventi clinici, sicché un rapido raggiungimento dei livelli pressori ottimali si associa ad una significativa riduzione degli eventi. Questo aspetto è risultato evidente in una sub-analisi del VALUE, nel quale si è registrata una maggiore riduzione degli eventi a 5 anni nel braccio che raggiungeva il target prefissato più rapidamen-

te rispetto alla controparte, a parità di valori pressori raggiunti ed indipendentemente dal tipo di antipertensivo usato<sup>25</sup>. Sulla base di questi dati, il rapido raggiungimento del target costituisce oggi uno degli end-point dei trial di intervento e deve essere perseguito soprattutto nei soggetti a rischio elevato. In questo contesto l'uso combinato di più farmaci antipertensivi si è dimostrato *più rapido* della monoterapia nel raggiungere i livelli prefissati. In un recente trial canadese sono stati valutati i tassi di raggiungimento del target perseguendo due diverse strategie: quella convenzionale, con monoterapia a scalare ed eventuale aggiunta di un secondo farmaco in caso di fallimento, verso l'inizio con la terapia combinata a dose fissa in singola compressa (ACE-I/HCTZ o ARB/HCTZ), dove l'ACE-I ed il sartano (ARB) erano le stesse molecole utilizzate alla stessa dose per la monoterapia a scalare<sup>26</sup>. A sei mesi solo il 53% dei pazienti in monoterapia era

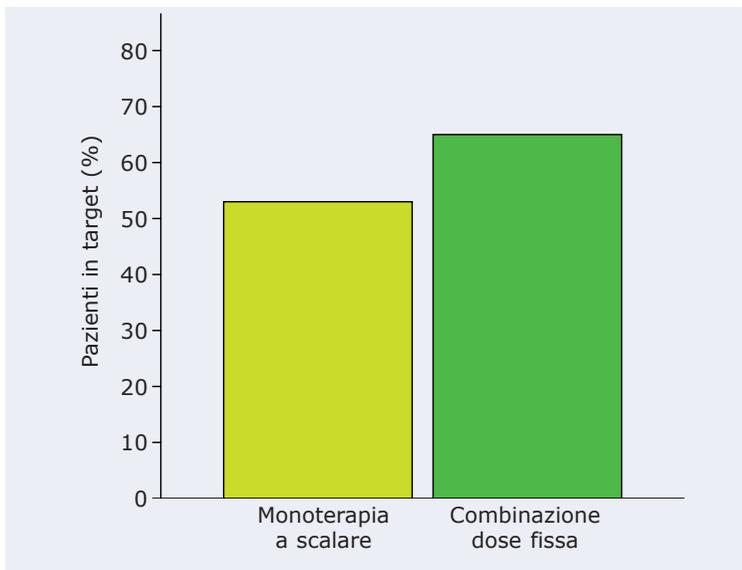
in target, contro il 65% dei pazienti che avevano iniziato direttamente con la combinazione (figura 3).

## 3-Necessità nei pazienti ad alto rischio

Uno stretto controllo pressorio nei pazienti con pregressa malattia cerebro- e cardiovascolare o con diabete mellito di tipo II è necessario per ridurre l'incidenza di nuovi eventi; inoltre, nei pazienti con insufficienza renale cronica (IRC) ed albuminuria, un rigido e precoce controllo pressorio non solo riduce il tasso di eventi ma rallenta la progressione della nefropatia<sup>27-29</sup>. Questi benefici sono acquisiti dalla letteratura da oltre quindici anni e costituiscono parte integrante sia di documenti generali di consenso per il controllo dell'ipertensione sia di Linee Guida specificamente indirizzate a particolari sottogruppi con comorbidità, come il diabete o l'IRC<sup>13,30,31</sup>.

Più recente ed intrigante sotto il profilo speculativo è invece

**Figura 3.** Pazienti in target pressorio dopo sei mesi dall'inizio del trattamento: monoterapia verso terapia combinata a dose fissa. (Dati da Feldman RD 2009<sup>26</sup>).



l'acquisizione che un rigido controllo pressorio applicato nelle fasi precoci della malattia diabetica è in grado di ridurre l'incidenza di nuovi casi di diabete: nel recente studio di Izzo *et al* è stato possibile verificare un'incidenza di nuovi casi di diabete dopo 3.4 anni di follow-up medio pari all'8% per i pazienti con PA > 140/90 mmHg (41% del totale inclusi) contro il 4% dei pazienti in goal (PA ≤ 140/90 mmHg), a parità di altri trattamenti e fattori di rischio<sup>32</sup>. In altre parole, i pazienti con ipertensione non controllata hanno, oltre ad un maggior rischio cardiovascolare, anche un rischio pressoché doppio di sviluppare diabete.

#### 4-Riduzione degli eventi avversi

##### Eventi avversi generali

La somministrazione di due farmaci antipertensivi con diverso meccanismo d'azione consente di utilizzare dosaggi più bassi di entrambi e, poiché per la maggior parte delle molecole alcuni degli eventi avversi sono dose-dipendenti, è possibile ridurre sensibilmente la loro incidenza.

##### Eventi avversi specifici

Inoltre, se la scelta delle due molecole è opportunamente studiata, è possibile ridurre specifici eventi avversi dell'una grazie ad una o più azioni contrapposte dell'altra, ciò indipendentemente dal dosaggio. Per esempio, la comparsa di edemi declivi è un effetto dose-dipendente tipico dei CA diidropiridinici, ed è dipendente dall'aumento della pressione intracapillare, a sua volta conseguenza della riduzione selettiva del tono arteriolare precapillare: in questi casi l'associazione di un ACE-inibitore ad un CA determina un'incidenza di edemi assai minore di quel-

la che si osserverebbe utilizzando lo stesso CA al dosaggio più basso. Ciò significa che la riduzione dell'evento è correlata sia alla possibilità di somministrare una dose più bassa sia ad un effetto benefico selettivo del secondo farmaco. Nel caso in questione è possibile dimostrare che l'ACE-I, vasodilatando sia il letto arterioso sia i vasi di capacitanza venosa, contribuisce *per se* a ridurre la formazione di edemi<sup>33,34</sup>.

#### 5-Aumentata aderenza al trattamento

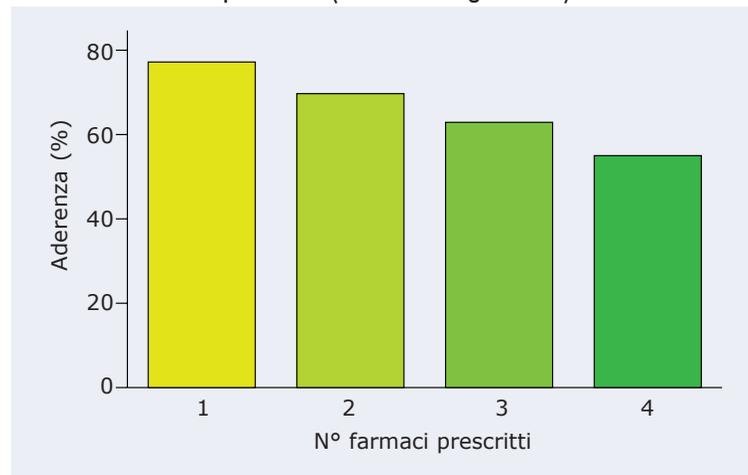
La capacità di aderire alla terapia prescritta per molti anni è una delle limitazioni più importanti al raggiungimento del successo clinico e, da questo punto di vista, l'aggiunta di ogni nuovo farmaco rende la *compliance* più difficile. Nel paziente iperteso il trattamento deve essere considerato quasi sempre *a vita* e molto spesso si inserisce in protocolli terapeutici complessi su pazienti anziani. In questi casi la riduzione del numero di compresse diventa un imperativo: come dimostrato da una *survey* su una vasta popolazione di ipertesi, l'aderenza alla terapia antipertensiva si riduceva in propor-

zione al numero di farmaci prescritti: poco meno dell'80% dei pazienti assumeva con regolarità un solo farmaco, ma questa quota si riduceva a poco meno del 60% se i farmaci da assumere quotidianamente erano quattro (figura 4). Questa "*complicanza terapeutica*" può essere evitata utilizzando una singola compressa contenente due o più principi attivi a dosi fisse.

#### Quale associazione utilizzare

La terapia combinata pone ovviamente due quesiti: 1) quali farmaci combinare; 2) in che modo usare la combinazione. Con riferimento al secondo quesito, salvo casi rari, l'associazione a dose fissa in compressa unica è vantaggiosa per i motivi di aderenza e semplicità prima menzionati. Per quanto riguarda quali molecole combinare la scelta deve basarsi su meccanismi d'azione complementari, con possibilità di *interferenze positive fra i due componenti*. Al contrario, alcune associazioni sono sconsigliabili in generale ed in alcuni pazienti in particolare. Nelle recenti Linee Guida del-

**Figura 4.** Aderenza al trattamento antipertensivo in relazione al numero di farmaci prescritti. (Dati da Fung 2007<sup>35</sup>).



l'American Society of Hypertension (ASH), espressamente dedicate alla terapia combinata, le possibili combinazioni delle sei classi di antipertensivi oggi utilizzate sono suddivise in tre gruppi: vantaggiose, accettabili, poco efficaci o svantaggiose (tabella 4).

Come si nota dalla tabella le associazioni preferibili e che abbiano mostrato un'evidente superiorità sono solo quattro, mentre quelle accettabili o poco utili sono più numerose. Fra le quattro preferibili vi è l'associazione dei tiazidici con gli inibitori del RAAS (ACE-I e ARB) e di questi ultimi con i calcio antagonisti.

#### **L'associazione lercanidipina/enalapril**

Negli ultimi anni sono state introdotte numerose associazioni a dose fissa, oltre quelle classiche contenenti un diuretico. Fra le più recenti vi è la combinazione di due molecole con provata efficacia e sicurezza: lercanidipina (10 mg) più enalapril (20 mg). Tale associazione è già stata approvata e commercializzata in vari paesi EC ed è stata oggetto di studi clinici *ad hoc*. La lercanidipina è un calcio-an-

tagonista di terza generazione dotato di notevole efficacia e selettività vascolare, utilizzato da solo o in combinazione con altri ipotensivanti in importanti trial che includevano pazienti appartenenti a tutte le fasce di rischio e di età<sup>36-39</sup>. Il farmaco si è dimostrato neutro sull'assetto glucidico e lipidico, con elevata tollerabilità generale anche in pazienti in politerapia e con quadri clinici complessi<sup>21,40-42</sup>.

In studi clinici e sperimentali più recenti la molecola ha mostrato di possedere effetti ancillari, interferendo positivamente con l'infiammazione vascolare e la perossidazione delle lipoproteine, un effetto probabilmente non trascurabile nei soggetti con segni di aterosclerosi e presumibilmente correlato alle proprietà antiossidanti della molecola<sup>43</sup>. Negli studi clinici, le riduzioni pressorie ottenute con lercanidipina sono risultate essere mediamente di circa 8.5-9.5 mmHg per la PAS e di 3.5-4.5 mmHg per la PAD per la dose da 10 mg/die e lievemente maggiori per la dose da 20 mg/die<sup>36,44</sup>.

Enalapril è stato introdotto in terapia nei primi anni '80 ed è stato sottoposto ad un vaglio clinico accurato sia attraverso *trial*

che hanno incluso migliaia di pazienti con le più svariate comorbidità sia attraverso l'uso nella pratica quotidiana su milioni di pazienti, dimostrando elevata efficacia con un basso tasso di eventi avversi<sup>45</sup>. Con le dosi di 10 o 20 mg/die, quelle più frequentemente adottate nella pratica clinica, le riduzioni pressorie attese sono rispettivamente di circa 9-11 mmHg per la PAD e di circa 4-5 mmHg per la PAS<sup>46</sup>. Anche in questo caso, come per tutti gli antipertensivi, al raddoppio della dose corrisponde un modesto incremento dell'efficacia (+15-25%)<sup>47</sup>.

#### **Studi clinici con lercanidipina/enalapril a dose fissa**

La combinazione *fixed-dose* lercanidipina (10 mg) più enalapril (20 mg) è stata giudicata ottimale dopo studi di *dose finding* volti a ricercare la combinazione più efficace fra tre diverse dosi di lercanidipina (5, 10 e 20 mg) e due diverse dosi di enalapril (10 e 20 mg)<sup>48</sup>. Tale combinazione è risultata quella più appropriata in termini di rapporto efficacia/tollerabilità. Essa sembra rispondere a tutti i requisiti teorici dell'associazione ottimale di

**Tabella 4.** Raccomandazioni ASH sulla terapia combinata dell'ipertensione. (Dati da Gradman AH 2010<sup>14</sup>).

Tipo di associazione		
Preferibile	Accettabile	Poco utile/svantaggiosa
ACE-I/diuretico	BB/diuretico	ACE-I/ARB
ARB/diuretico	CA/diuretico	ACE-I/BB
ACE-I/CA	CA/BB	ARB/BB
ARB/CA	RI/Diuretico	CA*/BB
	RI/ARB	AAC/BB
	TZ/KD	

ACE-I=ACE-Inibitore; CA=Calcio-antagonista; CA\*=Calcio-antagonisti non diidropiridinici; ARB=Bloccanti Recettori Angiotensina (sartani) BB=Beta Bloccanti; RI=Inibitore della Renina; TZ=Tiazidico; KD=Diuretico risparmiatore di potassio; AAC=Agenti Azione Centrale (clonidina etc).

due antipertensivi di diversa classe:

- 1) provata efficacia e tollerabilità delle due molecole singole<sup>44,49</sup>;
- 2) neutralità metabolica su omeostasi glucidica e lipidica<sup>4,27,50</sup>;
- 3) meccanismi d'azione sinergici e complementari in termini di efficacia e riduzione degli eventi avversi<sup>51,52</sup>;
- 4) aumento dell'aderenza grazie alla somministrazione di una sola compressa/die<sup>53,54</sup>.

I benefici teorici sono stati successivamente confermati dagli studi *ad hoc* condotti in vari Paesi e in differenti setting clinici.

### Efficacia

La combinazione lercanidipina (10 mg)/enalapril (20 mg) (L/E) si è dimostrata assai più efficace nella riduzione dei valori pressori delle singole molecole a parità di dose, ma anche delle singole molecole a dosaggio più elevato, provando quindi che l'associazione possiede un vantaggio clinico tangibile. La sinergia dei due meccanismi d'azione è apparsa evidente sin dai primi trial: nello studio di Puig *et al* pazienti anziani (60-85 anni) sono stati randomizzati a rice-

vere per 4 settimane ciascuno dei due farmaci alla rispettiva dose o la loro combinazione a dose fissa: questi tre gruppi sono stati quindi comparati al braccio placebo<sup>55</sup>. I risultati dello studio sono sintetizzati in figura 5. È interessante osservare che a fronte di riduzioni di 8.2 e 12.9 mmHg di PAS ottenute rispettivamente con lercanidipina 10 mg/die ed enalapril 20 mg/die, la riduzione ottenuta con la combinazione alle stesse dosi è stata 17.9 mmHg: *un guadagno della combinazione del 118% rispetto alla monoterapia con lercanidipina, e del 38.7% rispetto alla monoterapia con enalapril. Questi incrementi di efficacia non sarebbero stati raggiunti, come prima accennato, neppure quadruplicando le dosi basali dei singoli farmaci.* Conseguentemente, i pazienti in goal pressorio (<140/90) sono risultati il 45% dei trattati con la combinazione a dose fissa, ma solo il 18% ed il 19% di quelli rispettivamente trattati con lercanidipina 10 mg/die o enalapril 20 mg/die.

### Efficacia nel paziente diabetico

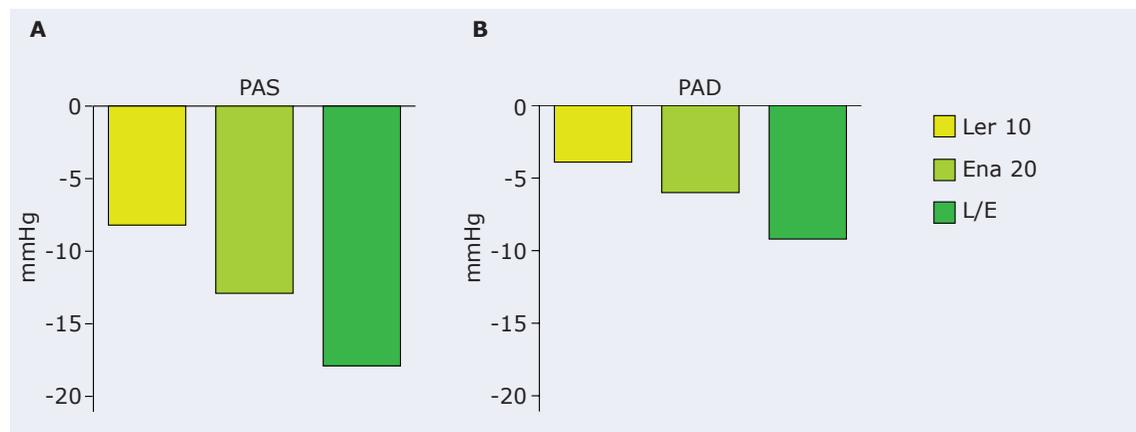
I vantaggi della combinazione sono stati riscontrati anche in

una popolazione di 174 diabetici in trattamento con enalapril 20 mg/die, per i quali era stato fissato un target pressorio di 135/85 mmHg<sup>56</sup>. Dopo 4 settimane, solo 39 pazienti avevano raggiunto l'obiettivo, così i 135 pazienti non responders furono randomizzati a ricevere, in aggiunta ad enalapril, idroclorotiazide 12.5 mg/die (n=66) o lercanidipina 10 mg/die (n=69) per le successive 20 settimane. Al termine dello studio l'associazione lercanidipina (10)/enalapril (20) si è dimostrata sensibilmente più efficace dell'associazione enalapril (20)/HCTZ (12.5), sia in termini di ampiezza della risposta sia in termini di pazienti portati in target (figura 6).

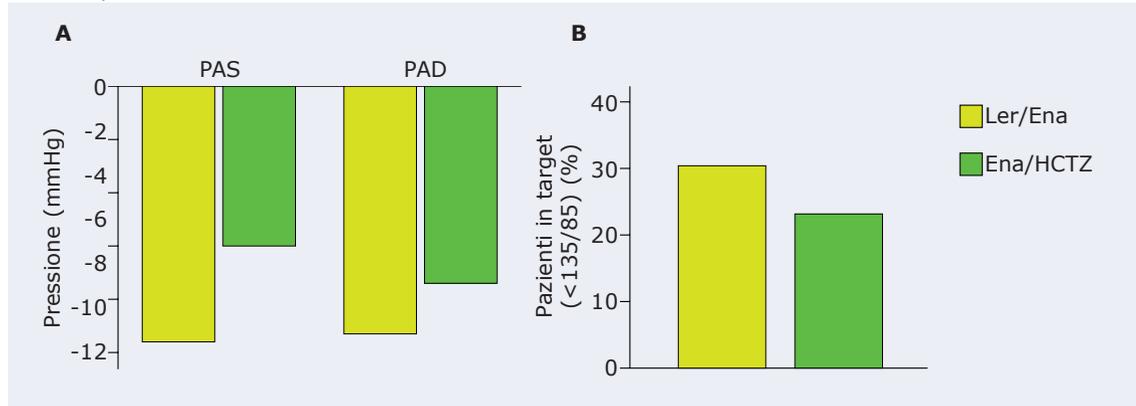
### Profilo di sicurezza

L'associazione a dose fissa si è dimostrata ben tollerata negli studi clinici, con tassi di drop out <5% e approssimativamente sovrapponibili al placebo<sup>57</sup>. In un recente studio retrospettivo condotto su una popolazione di 8.440 pazienti con età media di 62 anni già trattati con altri antipertensivi e non in target è stata valutata sia l'efficacia sia l'incidenza di eventi av-

**Figura 5.** Variazioni rispetto al placebo della pressione ambulatoria media nelle 24 ore registrata con lercanidipina 10 mg/die (Ler), enalapril 20 mg/die (Ena) o la loro combinazione alle stesse dosi (L/E): nel pannello (A) valori PAS, nel pannello (B) valori PAD. (Dati da Puig JG 2007<sup>55</sup>).



**Figura 6.** Efficacia a 20 settimane dell'associazione Ler (10)/Ena (20) vs Ena (20)/HCTZ (12.5) in pazienti diabetici non in target (<135/85 mmHg) con precedente monoterapia con enalapril (20 mg/die). Nel pannello (A) efficacia sui valori pressori, nel pannello (B) pazienti in goal terapeutico. (Dati da Agrawal R 2006<sup>56</sup>).



versi di questa combinazione, con risultati molto favorevoli soprattutto in ordine a questi ultimi (figura 7)<sup>58</sup>.

**Tosse.** L'evento avverso più frequente è risultata la tosse secca legata all'inibizione dell'ACE, uno dei pochi effetti non dose-dipendente di enalapril: complessivamente però la tosse è risultata in un ampio studio di farmacovigilanza assai meno frequente che con la monoterapia (0.5%)<sup>58</sup>.

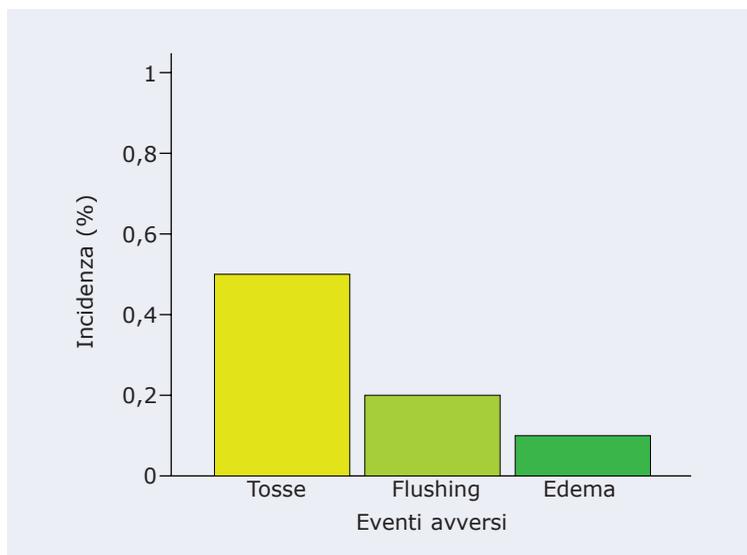
**Edema periferico.** Diversamente dalla tosse l'edema maleolare è un evento dose dipendente ed è ampiamente contro-bilanciato dall'azione di enalapril. Negli studi clinici con lercanidipina edemi sono stati riportati nello 3-5% dei trattati mentre tassi assai più bassi sono stati registrati con l'associazione a dose fissa (0.1-2%), a conferma della complementarità dei meccanismi d'azione delle due molecole<sup>57,58</sup>.

**Altri eventi avversi.** Con riferimento agli eventi avversi meno frequenti delle due molecole, come l'angioedema e l'iperkaliemia, entrambi associati all'inibizione dell'ACE, non vi sono dati provenienti dagli studi che abbiano utilizzato l'associazione *fixed-dose* e si può assumere che l'incidenza sia quella prevista per la molecola singola.

### Impatto sugli eventi e vantaggi economici dell'associazione

Benché non siano ancora disponibili studi clinici che abbiano valutato la riduzione degli eventi cardiovascolari con questa associazione a dose fissa, né con altre simili, è facile prevedere che alla maggior riduzione dei valori pressori associata alla combinazione ed alla percentuale più alta di pazienti "mantenuti long-term al rispettivo target", debba corrispondere la parallela riduzione degli eventi. La riduzione degli eventi può essere facilmente calcolata sulla base di dati certi e già oggi disponibili. Per quantificare la riduzione degli eventi è sufficiente moltiplicare la riduzione incrementale dei valori pressori ottenuta con

**Figura 7.** Incidenza delle principali reazioni avverse registrate in pazienti trattati con la combinazione lercanidipina/enalapril. (Dati da Rump LC 2010<sup>58</sup>).



l'associazione, per il numero di pazienti beneficiati da tale riduzione. Poiché è nota la riduzione degli eventi clinici associata a ciascuna riduzione incrementale (tabella 5) si può con buona approssimazione ottenere il valore dei benefici ottenibili in termini di mortalità ed eventi. Se si assume come base di partenza lo studio di Puig prima riportato, l'associazione lercanidipina 10/enalapril 20 determina una riduzione incrementale della PAS rispetto alla monoterapia con enalapril 20 mg/die di 5 mmHg (da 12.9 a 17.9 mmHg) e di 9.7 mmHg rispetto alla monoterapia con lercanidipina 10 mg/die (da 8.2 a 17.8 mmHg)<sup>55</sup>. Poiché ad una riduzione di 5 mmHg corrisponde la riduzione degli eventi riportata in tabella 5, si può assumere che su una coorte di 100 pazienti fuori target con la precedente terapia a base di enalapril, l'uso per almeno 5 anni della combinazione a dose fissa lercanidipina/enalapril salvi 14 decessi per ictus e 9 decessi per infarto. A questi eventi vanno aggiunti

**Tabella 5.** Riduzione del numero di eventi in relazione alla riduzione dei valori pressori. (Dati da Whelton PK et al 2002<sup>59</sup>).

Riduzione PAS (mmHg)	Riduzione assoluta della mortalità (%)	
	Coronarica	Ictus
2	4	6
5	9	14

quelli non fatali, che richiedono il trattamento cronico del sovrappeso. I costi risparmiati sono evidentemente ingenti. Risparmi ancora maggiori si ottengono se la terapia combinata sostituisce la monoterapia con lercanidipina, verso la quale il delta è pari a 9.7 mmHg.

### Prospettive e conclusioni

Numerosi studi di intervento hanno dimostrato in modo forte e coerente che il mancato raggiungimento del target pressorio peggiora la prognosi a medio-lungo termine del paziente iperteso e che il rischio di eventi cardiovascolari è proporzionale alle comorbidità. Ne consegue

che maggiore è il rischio cardiovascolare basale più stretto deve essere il controllo pressorio. Nei pazienti ad alto rischio diventa quindi difficile portare in target percentuali elevate di trattati. L'associazione di più farmaci antipertensivi diventa in questi casi una scelta obbligata, così come lo è quando il delta pressorio fra valore basale e valore desiderabile è >20/10 mmHg. Seguendo le conclusioni delle recentissime Linee Guida ASH sulla terapia di associazione, questa *“dovrebbe essere adottata sistematicamente, preferendo le associazioni complementari; inoltre l'uso dell'associazione a dose fissa in singola compressa è da preferire ai due farmaci singoli, fatte salve indicazioni e necessità diverse”*<sup>14</sup>. **TiM**

### Bibliografia

1. **Fields LE, Burt VL, Cutler JA, et al.** The burden of adult hypertension in the United States 1999 to 2000 a rising tide. *Hypertension* 2004; 44:398-404.
2. **Chiong JR.** Controlling hypertension from a public health perspective. *Int J Cardiol* 2008; 127:151-156.
3. **Campbell NR, Khan NA, Hill MD, et al.** Canadian Hypertension Education Program. 2009 Canadian Hypertension Education Program recommendations: the scientific summary—an annual update. *Can J Cardiol* 2009; 25:271-277.
4. **Andrade SE, Gurwitz JH, Field TS, et al.** Hypertension management: The care gap between clinical guidelines and clinical practice. *Am J Manag Care* 2004; 10:481-486.
5. **Calhoun DA, Jones D, Textor S, et al; American Heart Association Professional Education Committee.** Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation* 2008; 117:e510-e526.
6. **Berlowitz DR, Ash AS, Hickey EC, et al.** Inadequate management of blood pressure in a hypertensive population. *N Engl J Med* 1998; 339:1957-1963.
7. **Cabana MD, Rand CS, Powe NR, et al.** Why don't physicians follow clinical practice guidelines? A framework for improvement. *JAMA* 1999; 282:1458-1465.
8. **Cushman WC, Basile J.** Achieving blood pressure goals: why aren't we? *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2006; 8:865-872.
9. **Grant RW, Cagliero E, Dubey AK, et al.** Clinical inertia in the management of Type 2 diabetes metabolic risk factors. *Diabet Med* 2004; 21:150-155.
10. **Hackam DG, Khan NA, Hemmelgarn BR, et al;** Canadian Hypertension Education Program. The 2010 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: part 2 - therapy. *Can J Car-*

- diol 2010; 26:249-258.
11. **Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al**; Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42:1206-1252.
  12. **Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al**. ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens* 2007; 25:1751-1762.
  13. **Mancia G, Laurent S, Agabati-Rosei E, et al**. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *J Hypertens* 2009; 27:2121-2158.
  14. **Gradman AH, Basile JN, Carter BL**; American Society of Hypertension Writing Group. Combination therapy in hypertension. *J Am Soc Hypertens* 2010; 4:42-50.
  15. **Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR, et al**. Hypertension Prevalence and Blood Pressure Levels in 6 European Countries, Canada, and the United States. *JAMA* 2003; 289:2363-2369.
  16. **Giampaoli S, Vescia MF, Giaggioli A, et al**. Prevalenza dell'ipertensione arteriosa nella popolazione italiana. *Bollettino Epidemiologico Nazionale ISS* 2002; 15 (9); Accessed 23/06/2010 at [http://www.epicentro.iss.it/ben/pre\\_2002/settembre02/ipertensione%20arteriosa\\_OEC/](http://www.epicentro.iss.it/ben/pre_2002/settembre02/ipertensione%20arteriosa_OEC/)
  17. **Egan BM, Basile JN**. Controlling blood pressure in 50% of all hypertensive patients: an achievable goal in the Healthy People 2010 Report? *J Investig Med*. 2003; 51:373-385.
  18. **Egan BM, Zhao Y, Axon RN**. US trends in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension, 1988-2008. *JAMA* 2010; 303:2043-2050.
  19. **Law MR, Wald NJ, Morris JK, et al**. Value of low dose combination treatment with blood pressure lowering drugs: analysis of 354 randomised trials. *BMJ* 2003; 326:1427-1435.
  20. **ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group**. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: the Antihypertensive and Lipid-lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA* 2002; 288:2981-2997.
  21. **Barrios V, Escobar C, de la Figuera M, et al**. A. High doses of lercanidipine are better tolerated than other dihydropyridines in hypertensive patients with metabolic syndrome: results from the TOLERANCE study. *Int J Clin Pract* 2008; 62:723-728.
  22. **Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, et al**. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. *Lancet* 2002; 359:995-1003.
  23. **Myers MG**. A dose-response study of perindopril in hypertension: effects on blood pressure 6 and 24 h after dosing. Perindopril Multicentre Dose-Response Study Group. *Can J Cardiol* 1996; 11:1191-1196.
  24. **Sica DA, Gehr TW**. Current Concepts of Pharmacotherapy in Hypertension: Clinical Implications of the Dose Response Relationship of Antihypertensive Medication in the Treatment of Hypertension. *J Clin Hypertens* 1999; 1:72-76.
  25. **Weber MA, Julius S, Kjeldsen SE, et al**. Blood pressure dependent and independent effects of antihypertensive treatment on clinical events in the VALUE Trial. *Lancet* 2004; 363:2049-2051.
  26. **Feldman RD, Zou GY, Vandervoort MK, et al**. A simplified approach to the treatment of uncomplicated hypertension: a cluster randomized, controlled trial. *Hypertension* 2009; 53:646-653.
  27. **Marre M, Chatellier G, Leblanc H, et al**. Prevention of diabetic nephropathy with enalapril in normotensive diabetics with microalbuminuria. *BMJ* 1988; 297:1092-1095.
  28. **Ravid M, Brosh D, Levi Z, et al**. Use of enalapril to attenuate decline in renal function in normotensive, normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1998; 128 (12 Pt 1):982-988.
  29. **Yusuf S, Teo KK, Pogue J, et al**. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* 2008; 358:1547-1559.
  30. **Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI)**. K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(5 Suppl 1):S1-S290.
  31. **Position Statement**. Treatment of hypertension in adults with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26:S80-S82.
  32. **Izzo R, deSimone G, Chinali M, et al**. Insufficient control of blood pressure and incident diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:845-850.
  33. **Weir MR**. The effects of enalapril on blood pressure, renal hemodynamics, and renal function. *Clin Ther* 1989; 11:685-700.
  34. **Gojanovic B, Feihl F, Liaudet L, et al**. Concomitant calcium entry blockade and inhibition of the renin-angiotensin system: a rational and effective means for treating hypertension. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2008; 9:1-9.
  35. **Fung V, Huang J, Brand R, et al**. Hypertension treatment in a medicare population: adherence and systolic blood pressure control. *Clin Ther* 2007; 29:972-984.
  36. **Bang LM, Chapman TM, Goa KL**. Lercanidipine : a review of its efficacy in the management of hypertension. *Drugs* 2003; 63:2449-2472.
  37. **Meredith PA**. Lercanidipine: a novel lipophilic dihydropyridine calcium antagonist with long dura-

- tion of action and high vascular selectivity. *Expert Opin Investig Drugs* 1999; 8:1043-1062.
38. **Millar-Craig M, Shaffu B, Greenough A, et al.** Lercanidipine vs lacidipine in isolated systolic hypertension. *J Hum Hypertens* 2003; 17:799-806.
  39. **Romito R, Pansini MI, Perticone F, et al.** Comparative effect of lercanidipine, felodipine, and nifedipine GITS on blood pressure and heart rate in patients with mild to moderate arterial hypertension: the Lercanidipine in Adults (LEAD) Study. *J Clin Hypertens* 2003; 5:249-253.
  40. **Robles NR, Ocon J, Gomez CF, et al.** Lercanidipine in patients with chronic renal failure: the ZAFRA study. *Ren Fail* 2005; 27:73-80.
  41. **Acanfora D, Gheorghide M, Trojano L, et al.** A randomized, double-blind comparison of lercanidipine 10 and 20 mg in patients with stable effort angina: clinical evaluation of cardiac function by ambulatory ventricular scintigraphic monitoring. *Am J Ther* 2004; 11:423-432.
  42. **Viviani GL.** Lercanidipine in type II diabetic patients with mild to moderate arterial hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 40:133-139.
  43. **Martínez ML, Lopes LF, Coelho EB, et al.** Lercanidipine reduces matrix metalloproteinase-9 activity in patients with hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47:117-122.
  44. **Barrios V, Navarro A, Esteras A,** for the Investigators of ELYPSE Study (Eficacia de Lercanidipino y su Perfil de Seguridad). Antihypertensive efficacy and tolerability of lercanidipine in daily clinical practice. The ELYPSE Study. Eficacia de Lercanidipino y su Perfil de Seguridad. *Blood Press* 2002; 11:95-100.
  45. **Bajaj AK.** Enalapril: a second-generation angiotensin converting enzyme inhibitor. *Am J Med Sci* 1988; 296:332-335.
  46. **Bental T, Lishner M, Lalkin A, et al.** Comparison of enalapril to captopril by 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. *J Clin Pharmacol* 1997; 37:514-519.
  47. **Girvin B, McDermott BJ, Johnston GD.** A comparison of enalapril 20 mg once daily versus 10 mg twice daily in terms of blood pressure lowering and patient compliance. *J Hypertens* 1999; 17:1627-1631.
  48. **Recordati SpA.** A multicenter, randomized, parallel group double blind trial to determine the optimal dose combinations of lercanidipine and enalapril in comparison to each component administered alone and to evaluate the efficacy and safety of the combinations in mild to moderate hypertension CPL2-008). Milan Recordati SpA 2000 Dec 21 (Data on file).
  49. **Chrysant SG.** Using fixed-dose combination therapies to achieve blood pressure goals. *Clin Drug Investig* 2008; 28:713-734.
  50. **Davies RO, Irvin JD, Kramsch DK, et al.** Enalapril worldwide experience. *Am J Med* 1984; 77 (2A):23-35.
  51. **Dezii CM.** A retrospective study of persistence with single-pill combination therapy vs. concurrent two-pill therapy in patients with hypertension. *Manage Care* 2000; 9 (9 Suppl):2-6.
  52. **Gradman AH, Acevedo C.** Evolving strategies for the use of combination therapy in hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2002; 4:343-349.
  53. **Oliveria SA, Lapuerta P, McCarthy BD, et al.** Physician related barriers to the effective management of uncontrolled hypertension. *Arch Intern Med* 2002; 162:413-420.
  54. **Sica DA.** Rationale for fixed-dose combinations in the treatment of hypertension: the cycle repeats. *Drugs* 2002; 62:243-262.
  55. **Puig JG, Calvo C, Luurila O, et al.** Lercanidipine, enalapril and their combination in the treatment of elderly hypertensive patients: placebo-controlled, randomized, crossover study with four ABPM. *J Hum Hypertens* 2007; 21:917-924.
  56. **Agrawal R, Marx A, Haller H.** Efficacy and safety of lercanidipine versus hydrochlorothiazide as add-on to enalapril in diabetic populations with uncontrolled hypertension. *J Hypertens* 2006; 24:185-192.
  57. **Hair PI, Scott LJ, Perry CM.** Fixed-doses combination lercanidipine/enalapril. *Drugs* 2007; 67:95-106.
  58. **Rump LC.** Efficacy and tolerability of the fixed lercanidipine-enalapril combination in the treatment of patients with essential hypertension. *Arzneimittelforschung* 2010; 60:124-130.
  59. **Whelton PK, He J, Appel LJ, et al.** Primary prevention of hypertension: Clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. *JAMA* 2002; 288:1882-1888.

# Microbiology and *Virology*

## Editors

### Dr. Alessandro Camporese

Direttore Struttura Complessa di Microbiologia e Virologia  
Azienda Ospedaliera "S.M. degli Angeli", Pordenone

### Dr. Paolo Lanzafame

Direttore U.O. Microbiologia e Virologia  
Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari - Provincia Autonoma di Trento  
Ospedale Santa Chiara, Trento

### Dr. Roberto Rigoli

Direttore U.O. Microbiologia  
Ospedale di Treviso

Nuove frontiere analitiche in microbiologia e virologia . . . . .	27
<i>A. Camporese</i>	
Fascite necrotizzante da <i>Vibrio cholerae</i> in paziente HIV <sup>+</sup> e cirrosi HCV <sup>+</sup> da contatto in acque marine . . . . .	33
<i>P. Lanzafame, M. Gaino, P. Ober, D. Antolini, N. Dorigoni, C. Paternoster, L. Guella, I. Caola</i>	
Finalità e contenuti del progetto Eucast-Nord Est: progetto pilota per l'applicazione delle linee guida europee nei laboratori italiani? . . . . .	37
<i>R. Rigoli, M. De Pieri</i>	

