

Programma/Contenuti BIOCHIMICA CLINICA
scienze infermieristiche II anno – aa 2017-18
BIO 12

- Introduzione al corso (definizione di biochimica clinica, tipologia degli esami di laboratorio; routine, urgenze, profili biochimici, protocolli diagnostici).
- Aspetti generali dei test di laboratorio (variabilità analitica e variabilità biologica, errori di misura, valori di riferimento, livelli decisionali, test di screening, sensibilità, specificità e valore predittivo), tipologia dei campioni biologici e relative modalità di prelievo, trattamento e conservazione. La fase pre-analitica e post-analitica delle indagini di laboratorio
- Biochimica clinica
Proteine plasmatiche. Lipidi e lipoproteine plasmatiche.
Esplorazione del metabolismo glicidico.
Composti azotati non proteici (urea, ammoniaca, acido urico, bilirubina). Enzimi e altre proteine come marcatori di funzione e di lesione d'organo(fegato, rene, miocardio). Biochimica clinica degli ormoni. Marcatori tumorali circolanti. Ricambio idroelettrolitico fosfocalcico e del ferro. Meccanismi dell'emostasi.

Testi di riferimento

Medicina di laboratorio - La diagnosi della malattia nel laboratorio clinico

Autori: M. Laposata

Editore: *Piccin*

Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio

Autori: M. Ciaccio, G. Lippi

Editore: *Edises*

Biochimica con Aspetti Clinici

Autori: T. M. Devlin

Editore: *Edises*

biochimica clinica

- Valuta i livelli di metaboliti che possano avere importanza clinico/diagnostica
- a questo scopo si analizzano i fluidi corporei valutando l'omeostasi dell'organismo
- Utilizzo di diverse tecniche diagnostiche



Definizione di **Medicina di Laboratorio**


La Medicina di Laboratorio è una scienza clinica applicata che studia con metodi chimici, fisici e biologici le alterazioni dell'organismo nello stato di malattia, ricavando da campioni biologici provenienti dal paziente dati, qualitativi o quantitativi numerici, che consentano al medico di ottenere informazioni utili a scopo diagnostico, terapeutico, preventivo, prognostico e riabilitativo


Sinonimi

 **Patologia clinica**, **Medicina di Laboratorio** e **Biologia medica** o **Biologia clinica** sono termini disciplinari equivalenti il cui utilizzo riflette il dibattito culturale-scientifico specifico di singoli paesi

- ◆ Infatti il termine "Patologia clinica" viene utilizzato nel mondo anglosassone (USA, Inghilterra e Irlanda) e in Italia per descrivere le attività e competenze del Medico di Laboratorio, mentre in Germania è preferito il termine "Medicina di Laboratorio" e in Francia e nei paesi francofoni si preferisce il termine "Biologia medica o clinica"

Ulteriori specializzazioni

-  ◆ Negli USA l'*American Board of Pathology (ABP)* certifica i medici specialisti all'esercizio della professione. Sono rilasciati certificati all'esercizio congiunto della Anatomia patologica e della Patologia clinica o certificati all'esercizio della singola specialità
- ◆ L'ABP certifica inoltre l'esercizio di sotto-specialità; a titolo esemplificativo vengono rilasciati certificati per Medico legale, Neuropatologo, Medico trasfusionista e Biochimico clinico

 La Biochimica clinica è quell'area della Medicina di Laboratorio che studia con metodi chimici / biochimici i liquidi corporei

Suddivisione organizzazione teorica della **Medicina di Laboratorio**

- *Anatomia patologica*
- *Biochimica clinica*
- *Microbiologia clinica*
- *Patologia clinica*

Paziente

Medico

Quesito

diagnostico

LABORATORIO

Fase post-analitica

Equipe di laboratorio

Fase analitica

Fase pre-analitica

**Supporto in
ambito
diagnostico-
terapeutico**

Medico

Paziente

SCOPI PRINCIPALI DELLA DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

1. **Diagnosi:** *a causa di un sospetto il medico si rivolge al laboratorio per ricevere conferma. Alla conferma della diagnosi seguirà necessariamente la determinazione della corretta terapia.*
2. **Monitoraggio della terapia:** *alla conferma della diagnosi e individuazione della corretta terapia il laboratorio entra in gioco nel monitoraggio della terapia valutando se i metaboliti che hanno determinato il sospetto nel medico si sono normalizzati.*
3. **Prognosi:** *attraverso la prognosi si può valutare l'entità della malattia e la capacità dell'individuo di guarirne.*
Estremamente importanti, ad esempio, a livello della compartimentazione cellulare sono la distribuzione degli elettroliti e delle proteine.
4. **Screening:** *determinare all'interno di una popolazione sana quella frazione di popolazione a rischio di contrarre o sviluppare determinata malattia*

Il campione

Definizione di **campione biologico da esaminare**

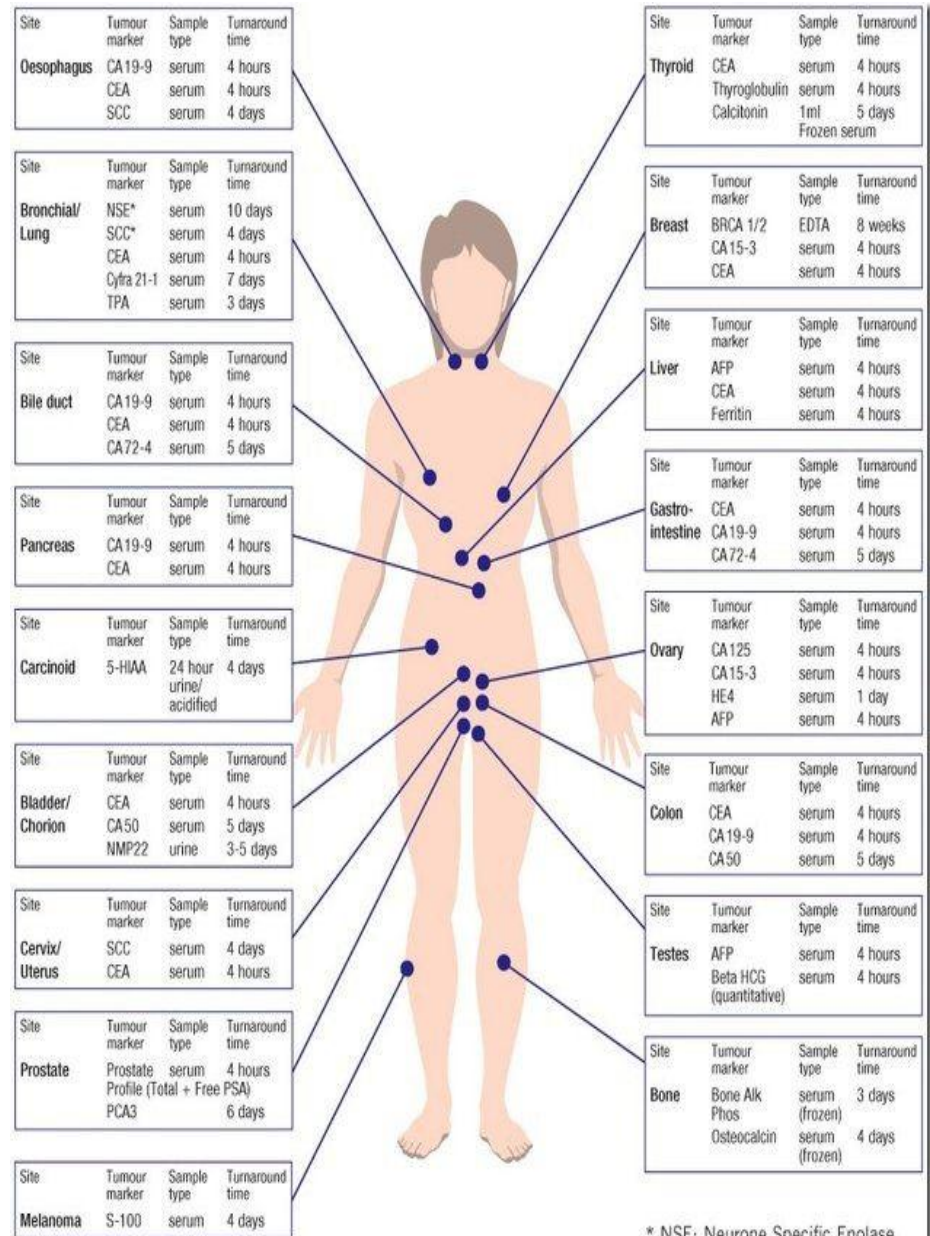
Sono oggetto degli esami di laboratorio (test, indagini, analisi) i liquidi o i tessuti biologici che costituiscono i sistemi dai quali ricavare informazioni

I liquidi o tessuti prelevati dal paziente sono definiti campioni e su questi il laboratorio esegue il dosaggio dei vari costituenti, o analiti, secondo la richiesta che perviene dal clinico

1.3.1. ESEMPI DI CAMPIONE ANALIZZABILE



- sangue
- urine
- feci
- liquido sinoviale
- liquor cefalo-rachidiano
- liquido amniotico
- latte
- liquidi biologici speciali (ascitico, pleurico, bronchiale, intestinale, peritoneale)
- lacrime
- sudore
- succo gastrico
- saliva
- succo duodenale
- liquido seminale
- villi coriali
- biopsie



* NSE: Neurone Specific Enolase
 SCC: Squamous Cell Carcinoma

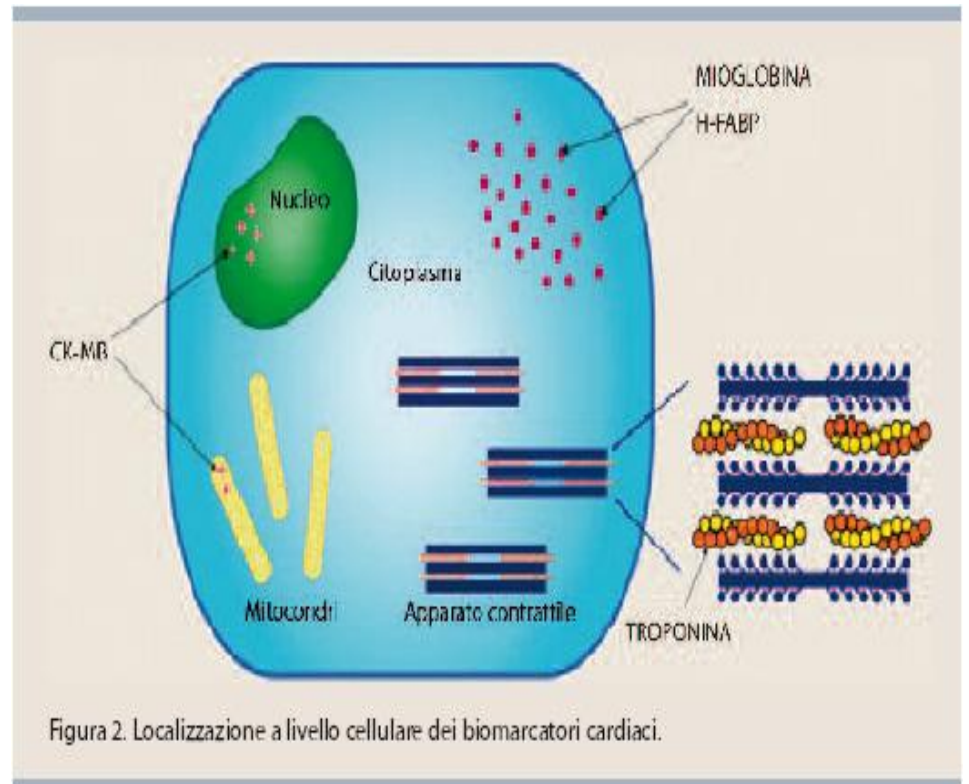
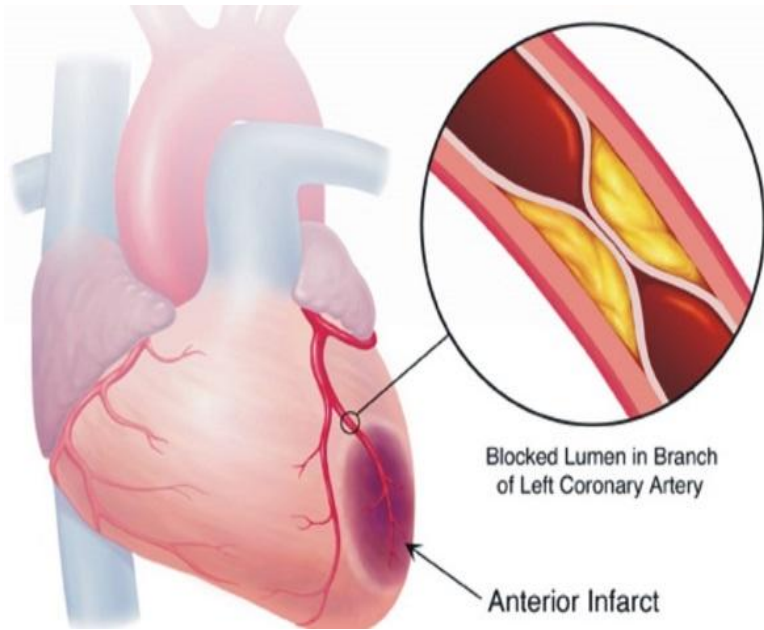
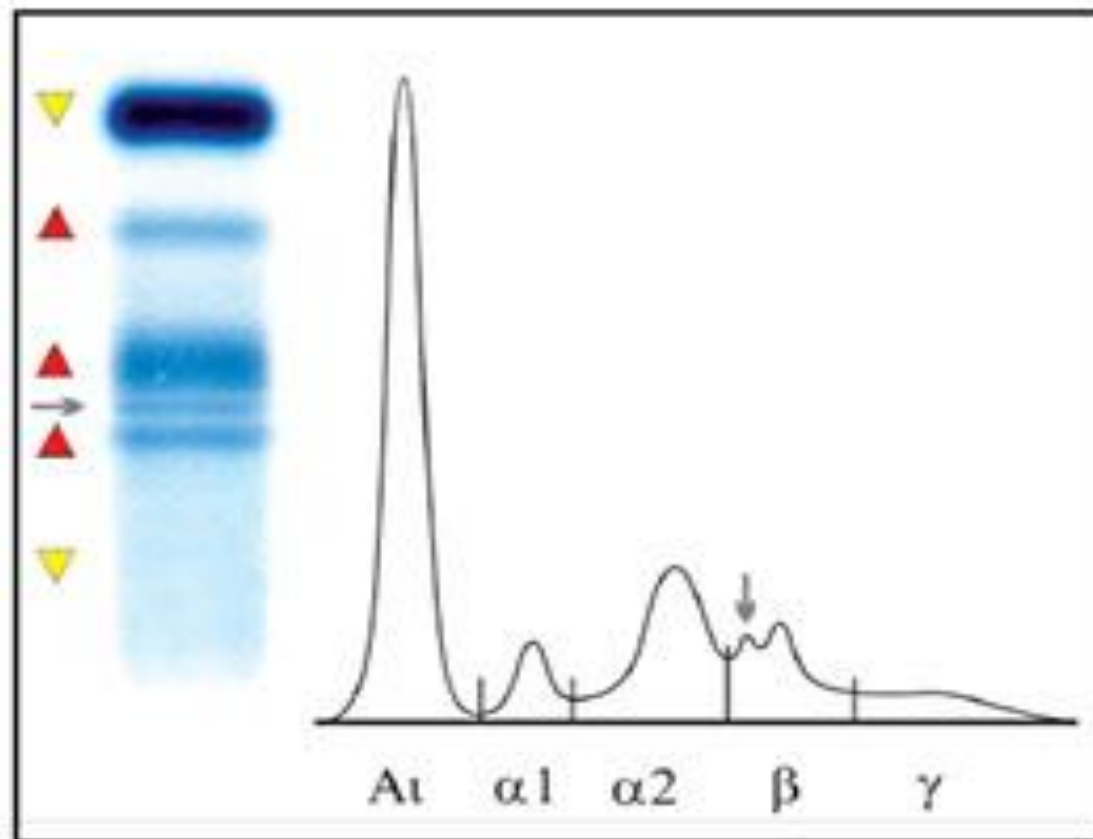
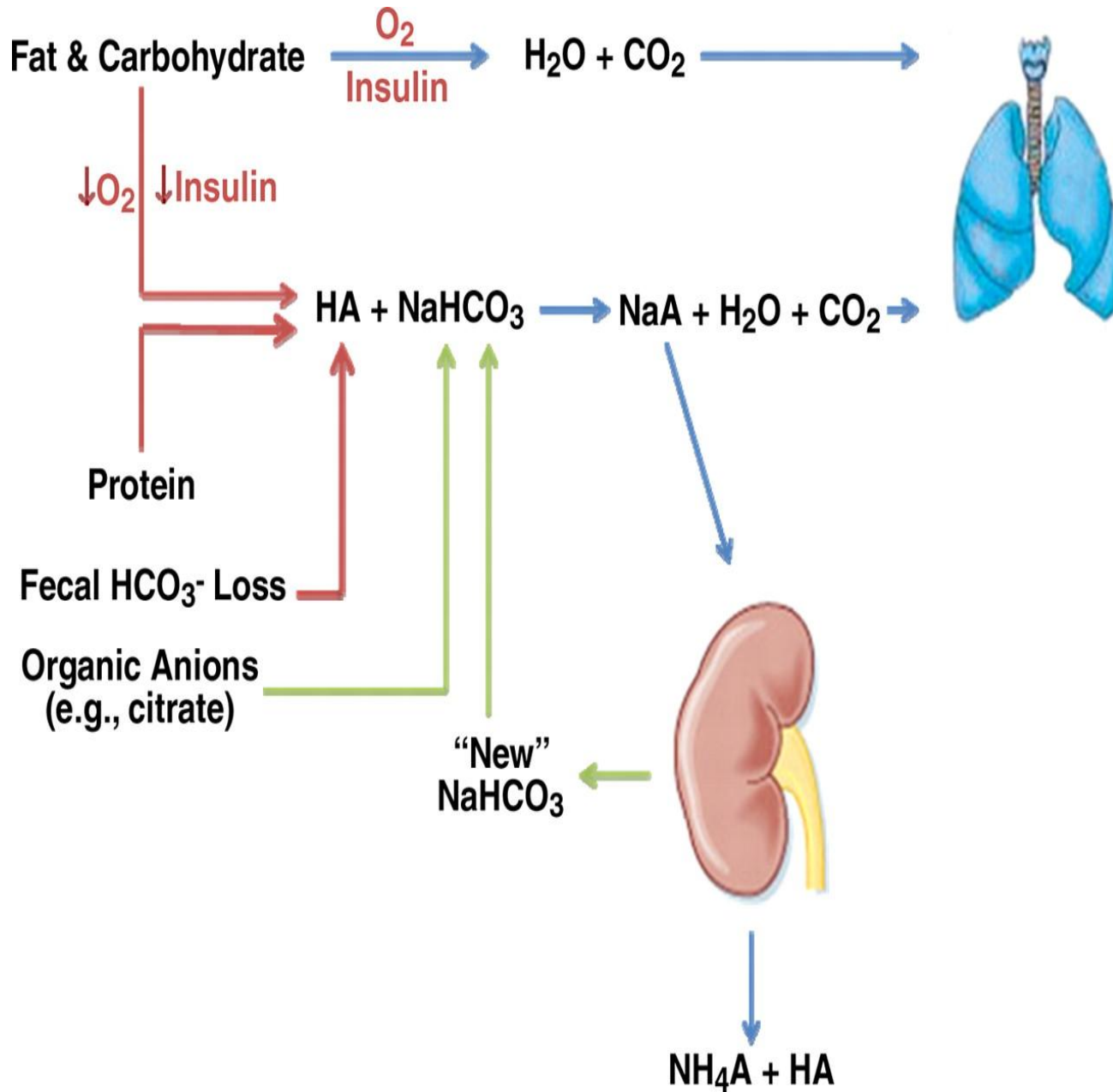
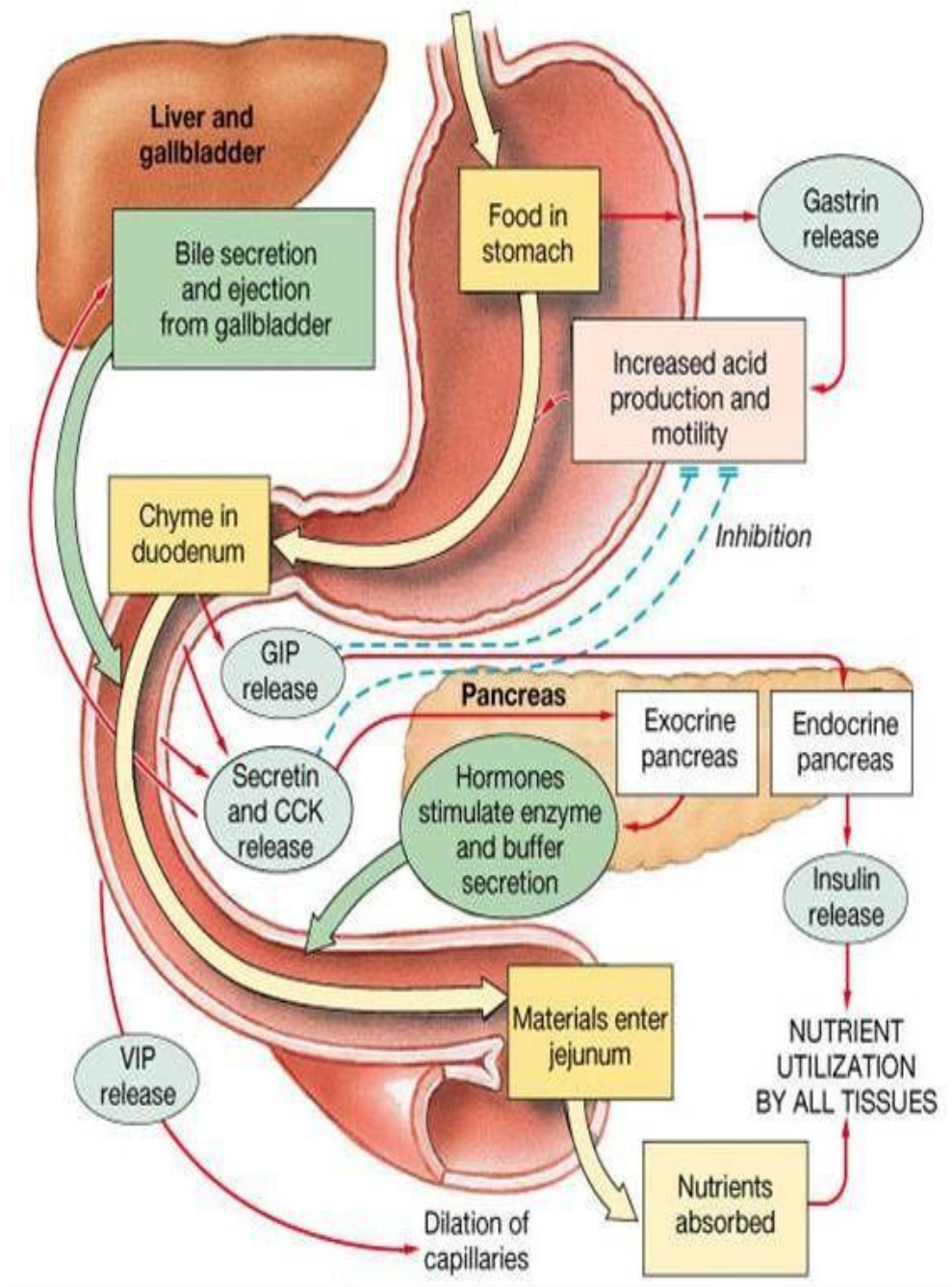


Figura 2. Localizzazione a livello cellulare dei biomarcatori cardiaci.



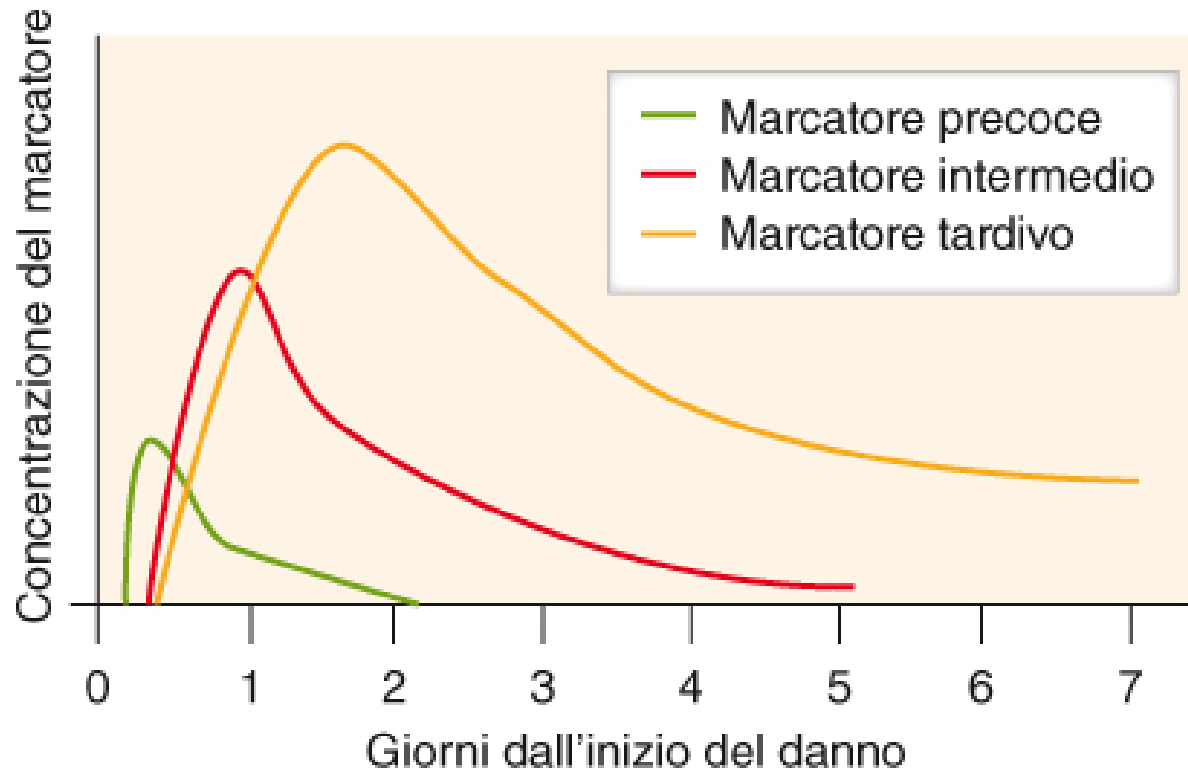
Sindrome nefrotica





PRINCIPALI ENZIMI DI IMPORTANZA CLINICA

Enzima (sigla)	Principale origine dell'enzima presente nel sangue	Principali applicazioni cliniche
Alanina amminotransferasi (ALT)	Fegato	Danno epatico parenchimale
Amilasi (AMY)	Ghiandole salivari, pancreas	Malattie pancreatiche
Aspartato amminotransferasi (AST)	Cuore, fegato, muscolo scheletrico, eritrociti	Danno epatico parenchimale
Creatinchinasi (CK)	Muscolo scheletrico, cuore	Malattie muscolari
γ -glutammitransferasi (GGT)	Fegato, pancreas, rene	Danno epatobiliare
Fosfatasi alcalina (ALP)	Fegato, osso, mucosa intestinale, placenta	Danno epatobiliare, malattie ossea
Lattato deidrogenasi (LDH)	Cuore, eritrociti, linfonodi, muscolo scheletrico, fegato	Anemie emolitiche e megaloblastiche, leucemia e linfomi, neoplasie
Lipasi pancreatici	Pancreas	Malattie pancreatiche



ESEMPI DI FINESTRE DIAGNOSTICHE RELATIVE ALLA TIPOLOGIA
DI RILASCIO ACUTO DI UN MARCATORE

CRITERI PER LA TOSSICITA' EPATICA INDOTTA DA FARMACI BASATI SUI DATI ENZIMATICI

Tipo di danno	Alanina amminotransferasi (ALT)	Fosfatasi alcalina (ALP)	Rapporto ALT/ALP
Epatocellulare	$>2 \times \text{LSR}$	$<\text{LSR}$	≥ 5
Colestatico	$<\text{LSR}$	$>2 \times \text{LSR}$	≤ 2
Misto	$>2 \times \text{LSR}$	$>2 \times \text{LSR}$	2-5

*I valori di enzima sono espressi come multipli del limite superiore di riferimento (LSR) nel siero.

Prelievo del campione di sangue venoso

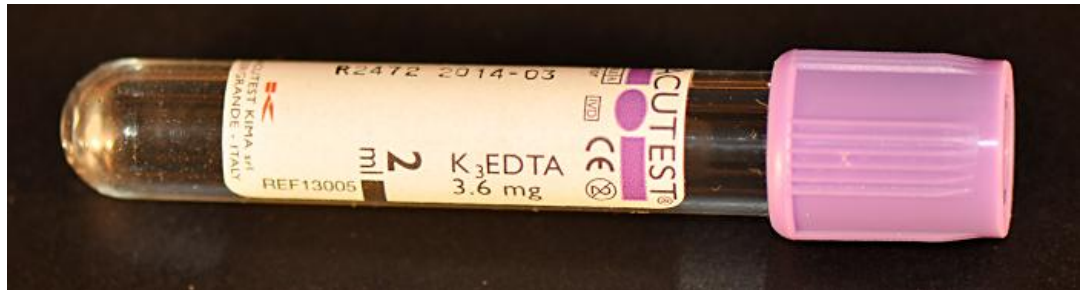
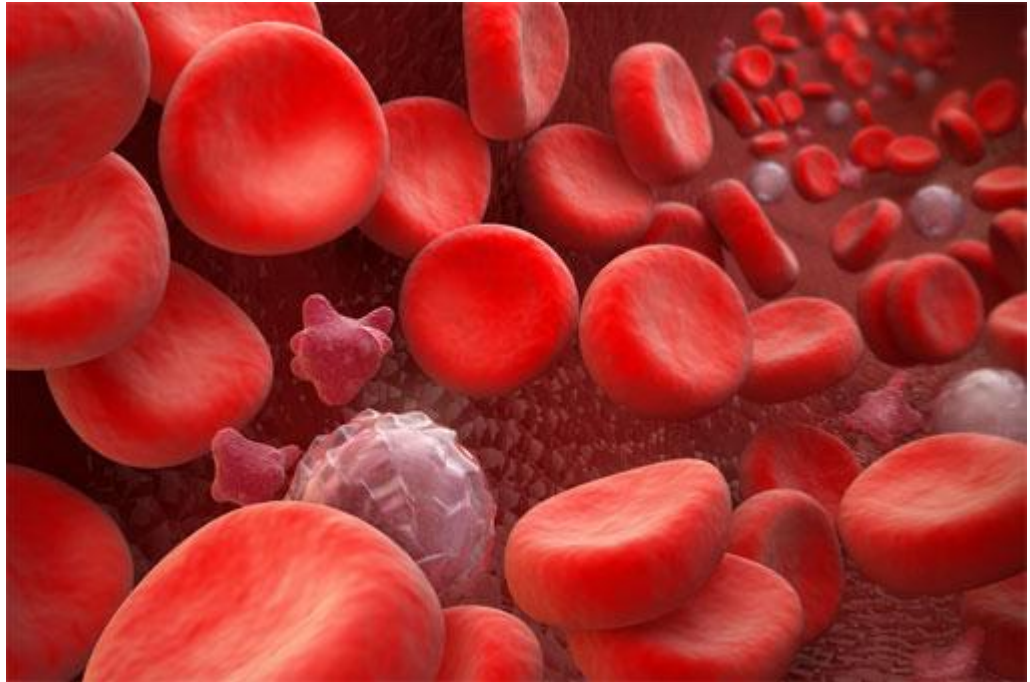
- *al mattino a digiuno (almeno 8 ore) per una migliore standardizzazione e per ridurre la variabilità biologica*
- *si utilizza generalmente sangue prelevato da una vena dell'avambraccio o, per esami specifici, il sangue arterioso (emogasanalisi) o il sangue capillare (digito-puntura) specialmente nei bambini e neonati*
- *accertare l'identità del paziente (braccialetto, tessera sanitaria, lettura ottica, etc.)*
- *ove nelle stanze di degenza siano ricoverati più pazienti, il prelevatore entra in stanza con solo le provette destinate ad un paziente e preleva sempre e solo un paziente alla volta*
- *preferire le vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica); in alternativa, possono essere utilizzate anche la vena basilica e quelle del dorso del braccio*
- *posizionare il laccio circa 10 cm al di sopra del sito prescelto, utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio o ostacolare la circolazione arteriosa (il polso arterioso deve essere ancora palpabile), non mantenere il laccio in sede per più di un minuto (quando è necessario più tempo per identificare una vena idonea o terminare il prelievo, il laccio può essere rilasciato e riapplicato)*
- *prima di procedere al prelievo, è necessario detergere accuratamente la cute utilizzando preferibilmente un batuffolo di ovatta imbevuto di alcool isopropilico al 70% o qualsiasi altro prodotto idoneo allo scopo, procedendo sempre nello stesso verso (onde evitare di rendere vana la detersione), asciugando poi accuratamente la cute con un batuffolo di ovatta asciutto (onde evitare contatto tra sangue ed alcool ...)*
- *prima dell'esecuzione del prelievo è necessario indossare guanti monouso, evitando contaminazione ematica*
- *le provette devono essere etichettate prima del prelievo, mai successivamente preferibilmente mediante sistemi di produzione automatica delle etichette ed etichettatura automatica delle provette*



1.  Provette con sodio citrato
2.  Provette per siero con attivatore della coagulazione senza gel
3.  Provette per siero con attivatore della coagulazione e gel separatore
4.  Provette con eparina con o senza gel separatore del plasma
5.  Provette con EDTA
6.  Provette con inibitori della glicolisi
7. Altre provette

• Emocromo

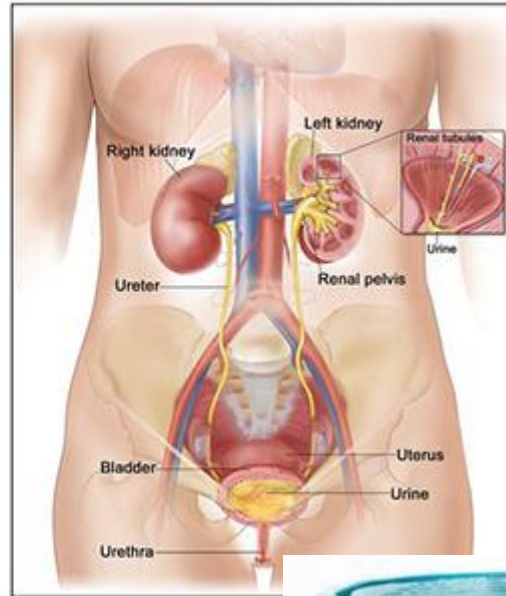
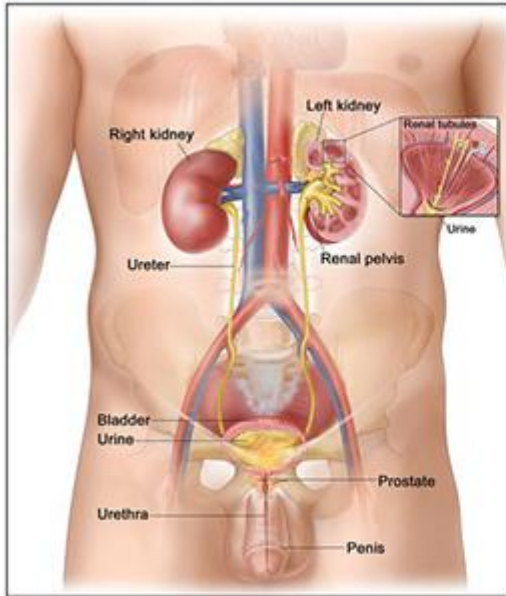
- L'EDTA (acido etilendiamminotetracetico) è uno degli anticoagulanti più frequentemente usati ed è reperibile sotto forma di sali di sodio o di potassio.
- Esplica la sua azione sequestrando lo ione calcio, indispensabile per il processo di coagulazione, e formando con esso composti insolubili.
- È l'anticoagulante di scelta per eseguire l'esame emocromocitometrico e solo in rari casi può essere utilizzato per indagini biochimiche.



- Le provette di coagulazione contengono una soluzione tamponata di citrato di trisodio.
- Le concentrazioni di **sodio citrato** possono essere di 0.109 mol/l (3.2%) o di 0.129 mol/l (3.8%). La scelta della concentrazione dipende dalle politiche dei laboratori.
- Il rapporto tra il volume sangue e l'anticoagulante sodio citrato è di 9:1 per garantire di tutto il calcio fisiologicamente presente nel campione.
- Il principio base dei test di coagulazione è che il campione è reso temporaneamente icoagulabile (-> inibizione reversibile della coagulazione)



Campione biologico: Urine



Esame delle Urine
"Tante informazioni in un
unico contenitore"

Malattie Renali

Calcoli

Infezioni

Tumori

Diabete

Cuore

Gotta

Stile alimentare

Farmaci

e molto altro ancora.....

Modalità di raccolta o prelievo delle urine

● *Raccolta delle urine con campionamento semplice*

- raccolta mediante mitto intermedio (sesso femminile)
- raccolta mediante mitto intermedio (sesso maschile)
- raccolta da catetere a permanenza
- sacchetto in plastica sterile adesivo

Se non diversamente specificato, si raccomanda di raccogliere le urine della minzione del mattino (più concentrata e di pH più acido)

In mancanza di richiesta specifica viene effettuato l'esame colturale quantitativo per miceti e batteri aerobi (enterobatteri, enterococco, stafilococco)

I contenitori per la raccolta sono sterili monouso

● *Raccolta delle urine delle 24 h*

Condizioni preliminari

È preferibile cominciare la raccolta al risveglio, richiede la cooperazione del paziente.

Modalità di esecuzione

Scartare la prima urina del mattino (altrimenti si tende a raccogliere un campione di urine sovra-dimensionato) e partendo dalla successiva raccogliere, in un idoneo contenitore, tutte le successive e fino alla prima del mattino seguente

Utilizzare un contenitore a bocca larga con tappo a vite della capacità di circa 2.5 L

Conservare il contenitore in un luogo fresco durante la raccolta

Modalità di conservazione e consegna

Cercare di consegnare le urine in un tempo massimo di 2 h dalla raccolta

PARAMETRI NELL'ESAME DELLE URINE

(minzione è di circa 1.5L al giorno)

1. *Esame fisico:*

- *Colore: giallo paglierino è il colore normale*
- *Densità: 1,02 - 1,05 g/ml*
- *pH: normalmente è debolmente acido (tra 4,5 e 7) in quanto il nostro è un metabolismo ossidativo che produce acidi dove quelli non volatili vengono eliminati con le urine.*
- *Torbidità: aumenta se sono presenti batteri o muco.*



2. *Esame chimico:*

- *Esterasi leucocitaria o Elastasi: enzima prodotto dai globuli bianchi. Un suo aumento è indice della presenza di leucociti e sospetta infezione delle vie urinarie*
- *Emoglobina: La presenza di emoglobina indica un processo di emolisi in circolo con rilascio di ferro e conseguenti danni ossidativi (la striscia reattiva da gialla diventa di un verde più o meno uniforme:emoglobina libera)*
- *Sangue: nel caso di ematuria la striscia reattiva assume un aspetto puntiforme conseguente alla diretta presenza di GR nelle urine (GR interi).*
- *Glucosio: Se c'è glucosio significa che la [glucosio] nel sangue è > alla capacità di riassorbimento dei tubuli renali.*
- *Proteine: Le proteine nelle urine sono presenti fino a 120/150 mg al giorno. Una proteinuria >500 è sempre patologica e si divide in:*
 - o *Proteinuria non selettiva: la lesione è a livello del glomerulo che non filtra bene (origine glomerulare).*
 - o *Proteinuria selettiva:le catene peptidiche >5 KDa in condizioni normali non passano il filtro glomerulare e in più è presente una selettività in base alla carica. La presenza nelle di proteine piccole a basso peso molecolare indica una proteinuria selettiva in cui le proteine vengono filtrate ma non adeguatamente riassorbite; origine tubulare .*

• 3. Esame del sedimento

10 ml di urine, vengono centrifugate, si elimina il soprannatante e si risospende il sedimento, ossia la parte corpuscolata in cui si ricercano:

• **Cellule:** normalmente si riscontrano cellule di sfaldamento delle basse vie urinarie fra cui possono essere presenti anche leucociti e globuli rossi. I GR possono essere indizio sia di situazione fisiologica (ciclo mestruale) che patologica (emorragia). Per capire l'origine dell'emorragia si fa la raccolta di urina dei 3 bicchieri: se i GR sono in maggior quantità nel 1° la lesione è a livello dell'uretra; se sono più alti nel 2° la lesione è a livello della vescica; se sono più alti nel 3° la lesione è nelle prime vie urinarie (reni, bacinetto o ureteri).

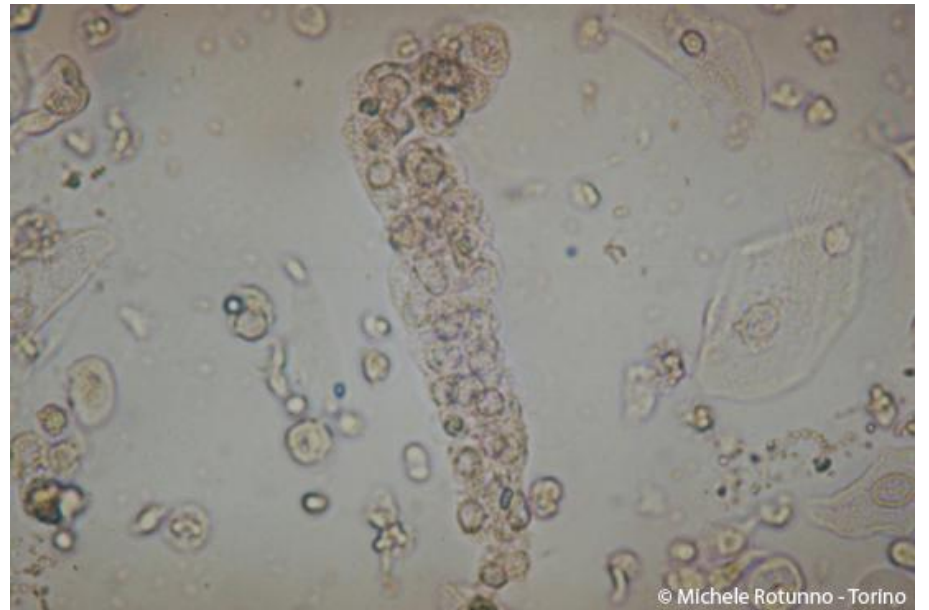
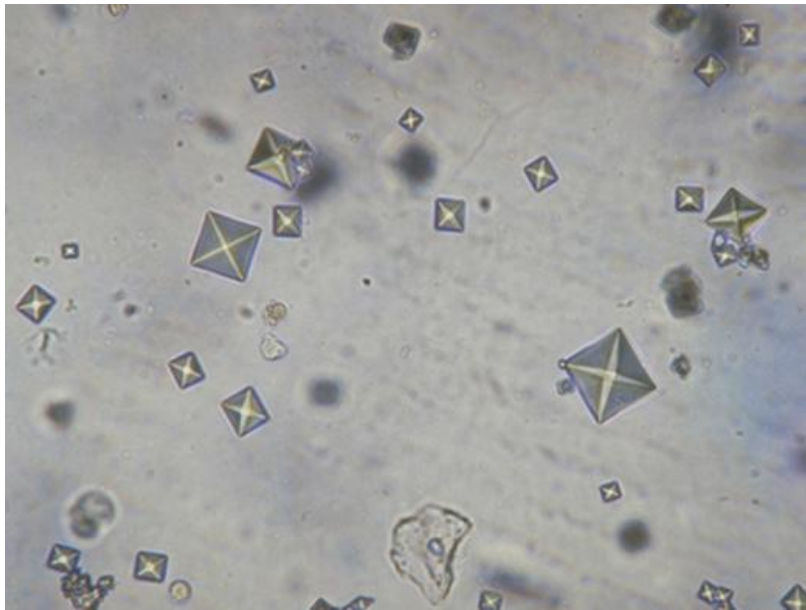
• **Cilindri:** piccole formazioni a bastoncino, generalmente di 3 tipi:

- Cilindri di GR: legati ad un accumulo di GR nelle urine,
- Cilindri di GB: legati ad infezione delle vie urinarie,
- Cilindri ialini: formate da proteine precipitate all'interno del tubulo in seguito a proteinuria, (rosei brillanti e semi trasparenti => cristalli di acido urico)

Cristalli: si parla di "litiasi" delle vie urinarie in cui viene studiata la forma del cristallo:

- Aghiformi (cisteina)
- A bara (fosfato di Ca⁺⁺)
- A lettera (ossalato di Ca⁺⁺)
- A losanga

• **Batteri:** al microscopio ottico si evidenzia lo sciamaggio dei batteri che sembrano formare delle correnti. La presenza di batteri determina la presenza di GB e dunque di elastasi e di urine alcaline in quanto per la maggior parte si tratta di batteri intestinali **ureasi+** che scindono l'urea determinando **alcalinità e forte odore di ammoniacca.**

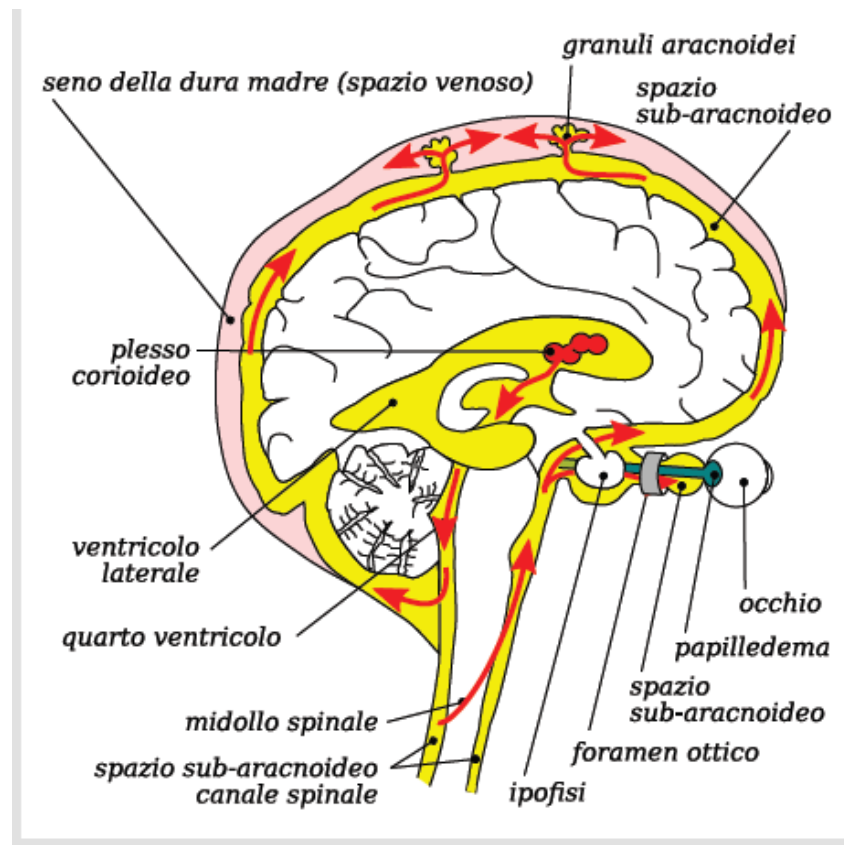


Il liquido cerebro-spinale (CSF)

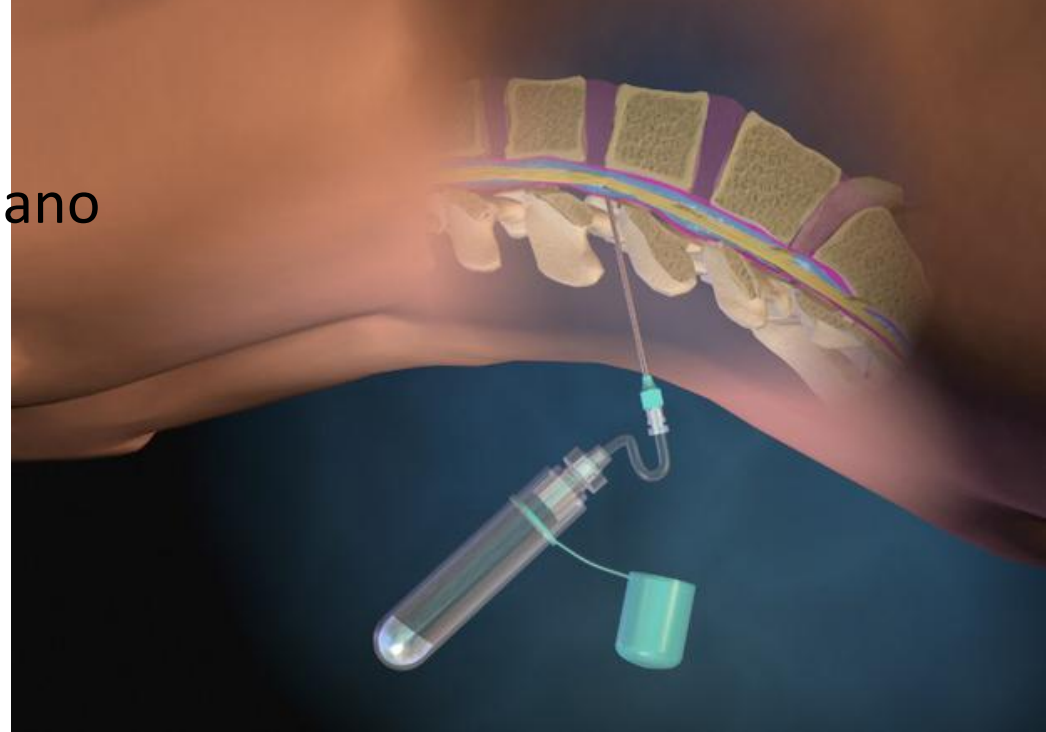
- Definizione

Il liquido cerebro-spinale (o cefalo rachidiano; CSF da cerebral-spinal fluid) è un liquido extra-cellulare che si trova nei ventricoli, negli acquedotti e negli spazi sub-aracnoidei del sistema nervoso centrale

- viene prodotto dai plessi corioidei nei quattro ventricoli cerebrali e entra nello spazio sub-aracnoideo
- fluisce intorno al cervello ed al midollo spinale
- viene assorbito nel sistema venoso attraverso strutture unidirezionali: i granuli aracnoidei o villi aracnoidei



Raccolta del Liquor cefalo-rachidiano



Si tratta di una procedura medica

In sequenza:

- misurare la pressione
- raccolta per caduta spontanea in 3 provette di polipropilene sterile vuote (tappo rosso): non aspirare mai
- massimo prelievo 20 mL: raccomandato 2 mL per provetta
- inviare immediatamente ad analizzare

Ruolo dell'infermiere

- informare il paziente che il dolore sordo e costante presente nella sede della rachicentesi può durare alcuni giorni
- prima della puntura lombare assicurarsi di aver effettuato il prelievo venoso di sangue per valutazioni sieriche contestuali
- dopo la puntura lombare, lasciare il paziente sdraiato senza cuscino per ridurre la cefalea post-rachicentesi
- controllare che dalla sede della puntura lombare non fuoriesca né liquor (**rachirraggia**) né sangue
- mantenere medicazione compressiva per 24 h
- controllare che il paziente non manifesti segni neurologici: cefalea significativa, vomito, formicolio alle gambe

CSF

- valutazione macroscopica visivamente (aspetto, colore)
- valutazione microscopica
- valutazione biochimica



Aspetto e colore normale

- ☞ Aspetto limpido ad acqua di roccia, incolore

Aspetti e colorazioni patologici principali

- ☞ Torbido, bianco, associato ad aumento del numero delle cellule e delle proteine

Diagnosi: meningite batterica

- ☞ Ematico, di colore rosa-rosso

Diagnosi: emorragia subaracnoidea anche su base traumatica

- ☞ Xanto-cromico, di colore giallo

Diagnosi: presenza di bilirubina in eccesso (es.: si sviluppa 12 h dopo una emorragia sub-aracnoidea, con un picco a 2-4 d, e può persistere per 2-4 settimane)

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

deve essere eseguito subito dopo la rachicentesi per evitare la lisi cellulare spontanea a temperatura ambiente

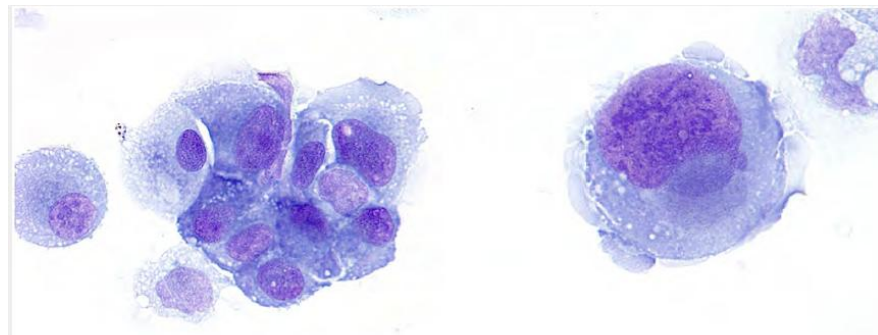


Figura 12.4. Citologia di CSF. A sn.: nidi di cellule tumorali anaplastiche con nuclei eccentrici ovali, cromatina grossolana, nucleoli prominenti; a dx: singole cellule giganti maligne. Liberamente tratto da una immagine con licenza creative commons 2.0 da archive.biomedcentral.com, originariamente da Bilic (2005)

Patologie con alterazioni del CSF

Molte sono le patologie encefaliche e cerebrali che danno alterazioni del CSF

Tra queste:

- neoplasie maligne
- encefaliti (es.: encefalite WNE, *west Nile encephalitis*; encefalite EEQ, *eastern equine encephalitis*)
- encefalopatia epatica
- infezione cerebrale
- flogosi cerebrale
- meningite ad eziologia tubercolare, da altri batteri, da virus, da miceti
- sindrome di Reye (rara sindrome multi-sistemica a genesi varia, esclusivamente infantile)

ANALISI BIOCHIMICA DI COMPONENTI DEL FLUIDO CEREBRO-SPINALE VALUTATI DI *ROUTINE*

☞ L'esame del liquor va sempre fatto in rapporto con l'esame del plasma: immediatamente prima della puntura lombare va sempre eseguito un prelievo di sangue venoso concorrente

Le proteine fisiologiche del liquor

☞ Le proteine fisiologiche del liquor derivano:

- (80%) dal plasma
 - (20%) da sintesi cerebrale
-

☞ L'albumina (da sintesi epatica) raggiunge il liquor per filtrazione passiva per cui ha una concentrazione sempre inferiore a quella plasmatica concorrente:

- rapporto liquorale/plasmatico <6.5
-

Valori normali e patologici del CSF

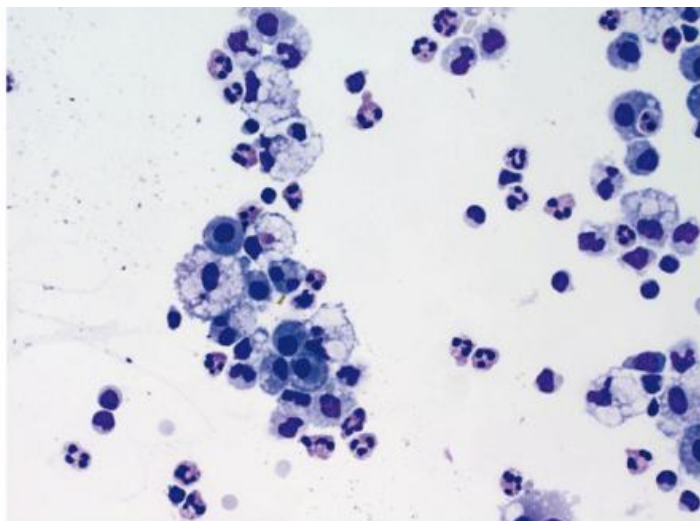
analita	valori normali	valori patologici
osmolalità	<ul style="list-style-type: none"> ● 280-300 mosm/L 	
glucoso	<ul style="list-style-type: none"> ● 45-80 mg/dL ● rapporto liquorale/plasmatico 0.6 	<ul style="list-style-type: none"> ● diminuzione del glucoso: meningite batterica, tubercolare, fungina, amebica ● aumento del glucoso: diabete
proteine totali	<ul style="list-style-type: none"> ● 0.15-0.45 g/L ● indice dell'albumina (rapporto liquorale/plasmatico $\times 10^3$) valore normale <9 ● indice delle IgG (rapporto liquorale/plasmatico $\times 10^3$) valore normale 3-8.7 	<ul style="list-style-type: none"> ● aumento dell'indice dell'albumina è indicativo di alterazione della barriera emato-encefalica ● aumento dell'indice dell'albumina è dovuto ad una alterazione della barriera emato-encefalica o esprime una sintesi intra-tecale di IgG (es.: sclerosi multipla)
bande oligo-clonali	<ul style="list-style-type: none"> ● 0 o 1 banda elettroforetica non presente in campione concorrente di siero del paziente 	<ul style="list-style-type: none"> ● presenti nel CSF e assenti nel siero nella sclerosi multipla (diagnostico)
proteine specifiche	<ul style="list-style-type: none"> ● lattico deidrogenasi (40 u/L) 	<ul style="list-style-type: none"> ● presenza di β-amiloide e proteine τ (Alzheimer) ● presenza della proteina 14-3-3 (malattie da prioni) ● presenza della proteina mielinica basica (sclerosi m.) ● lattico deidrogenasi (utile per differenziare un trauma da puntura iatrogena (normale) da una emorragia intra-cranica (elevata))
antigeni da patogeni anticorpi anti-patogeni, acidi nucleici virali o batterici comuni	<ul style="list-style-type: none"> ● assenti 	

12.2.4. VALORI TIPICI DI COMPONENTI DEL FLUIDO CEFALO-RACHIDIANO NELLE MENINGITI

Tabella 12.3. CSF nella meningite. Dati da: globalrph.com/cerebrospinal_fluid

analita od altro componente	meningite batterica	meningite micotica	meningite da tbc	meningite virale
numerosità cellulare	● elevata >500/μL leucociti con predominanza di neutrofilii)	● variabile (10-1000 cel./μL predominanza di linfociti)	● variabile (10-1000 cel./μL predominanza di linfociti)	● <100 cel./μL ● stadi precoci: neutrofilii ● poi: linfociti
batteri	● coltura positiva	● coltura negativa	● coltura positiva per AFB	● coltura negativa
funghi	● coltura negativa	● coltura positiva	●	● coltura negativa
glucosio	● normale-fortemente ridotto (<40 mg/dL)	● ridotto (<40 mg/dL)	● ridotto (<40 mg/dL)	● normale (>40 mg/dL)
proteine totali	● aumento marcato >250 mg/dL	● aumento moderato/marcato ● 25-500 mg/dL	● aum. moderato/marcato ● 50-500 mg/dL	● aum. moderato ● <100 mg/dL
pressione	● elevata	● variabile	● variabile	● normale

Liquidi biologici (pleurico, ascitico o peritoneale, pericardico)



Liquido pleurico

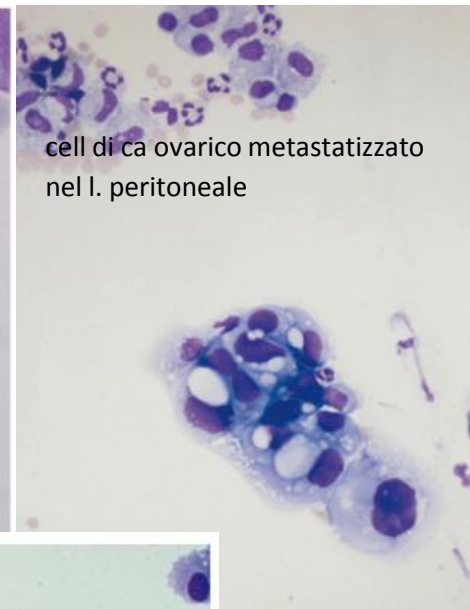
trasudato (plasma ultrafiltrato a bassa concentrazione proteica, di composizione simile al liquido interstiziale normale)

essudato (elevata concentrazione proteica; sostanzialmente plasma filtrato attraverso capillari danneggiati)

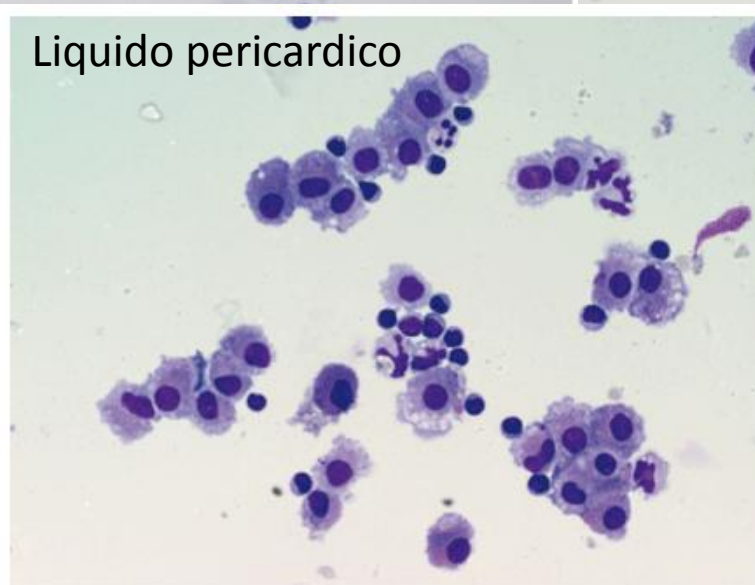
Cause versamenti pleurici trasudatizi:
scompenso cardiaco congestizio



Liquido peritoneale



cell di ca ovarico metastatizzato nel l. peritoneale



Liquido pericardico

Tabella 20.1 Principali analisi biochimiche eseguite sul liquido pleurico e relativi criteri interpretativi

	Parametro	Cutoff diagnostici per essudato
Criteri di Light	Ratio proteine liquido pleurico/siero	$\geq 0,50$
	Ratio LDH liquido pleurico/siero	$\geq 0,60$
	LDH liquido pleurico	$> 2/3$ limite superiore dell'intervallo di riferimento della LDH serica
Criteri aggiuntivi	Colesterolo liquido pleurico	> 45 mg/dL
	Ratio colesterolo liquido pleurico/siero	$> 0,30$
	Ratio bilirubina liquido pleurico/ siero	$\geq 0,60$

Tabella 20.3 Analisi macroscopica e citometrica del liquido pleurico e relativi criteri interpretativi

Esame macroscopico	Esame citometrico
<p>Trasudato = limpido da giallo pallido a giallo paglierino</p> <p>Essudato = di colore giallo pallido a giallo paglierino con grado di torbidità differente, talvolta lattescente; se la lattescenza persiste dopo centrifugazione si è in presenza di chilotorace</p>	<p>Normalmente la cellularità totale è compresa fra $1395-3794 \times 10^6/L$, macrofagi fra 64-80%, linfociti fra 18-36%, neutrofili fra 0-1% e cellule mesoteliali fra 0-2 % [1,23]</p> <p>Nei versamenti pleurici:</p> <ul style="list-style-type: none"> • la cellularità totale $< 1000 \times 10^6/L$ è indicativa di versamento di probabile origine trasudativa • la cellularità totale $\geq 1000 \times 10^6/L$ è indicativa di versamento di probabile origine essudativa. In questo caso un conteggio: <ul style="list-style-type: none"> - di neutrofili $\geq 50\%$ è indicativo di probabile polmonite batterica, infarto polmonare, pancreatite ecc. - di linfociti $\geq 50\%$ è indicativo di probabile infezione tubercolare, o virale, chilotorace, neoplasia, pleurite reumatoide ecc. - di eosinofili $\geq 10\%$ è indicativo di probabile pneumotorace, trauma, infarto polmonare, infezioni da parassiti o funghi, reazioni farmacologiche, patologie reumatiche, linfoma di Hodgkin e di eosinofilia idiopatica <p>Commento. Circa l'80% dei trasudati ha una cellularità $< 1000 \times 10^6/L$ cellule, mentre cellularità $> 10.000 \times 10^6/L$ sono solitamente associate a versamenti parapneumonici. Infine circa il 10% dei trasudati presenta un conteggio di neutrofili $\geq 50\%$ e circa il 30% ha un conteggio di linfociti $\geq 50\%$. Indipendentemente dal numero di cellule riscontrato, è la valutazione qualitativa a consentirne la caratterizzazione in senso neoplastico</p>

Tabella 20.4 Descrizione sintetica delle principali analisi eseguite sul liquido pericardico e relativi criteri interpretativi

Esame macroscopico	Esame citometrico	Biochimica clinica
<p>Trasudato = limpido da giallo pallido a giallo paglierino</p> <p>Essudato = di colore da giallo pallido a giallo paglierino con grado di torbidità differente</p>	<p>Normalmente sono presenti da un valore medio minimo di $10 \times 10^6/L$ cellule fino a un massimo di $1900-2210 \times 10^6/L$ cellule</p> <p>Nei versamenti di natura essudativa generalmente la cellularità media $\geq 14.116 \times 10^6/L$</p> <p>Nei versamenti di probabile origine neoplastica il valore medio è di $3600 \times 10^6/L$</p> <p>Commento. Nei casi sopra riportati le deviazioni standard rilevate sono molto ampie e talvolta si sovrappongono nelle diverse categorie di versamenti pericardici [1,9,25-27]</p> <p>Il conteggio cellulare differenziale ha il seguente significato:</p> <ul style="list-style-type: none"> • neutrofilo >70% sono indicativi di infezione batterica o versamento di origine reumatica • cellule mononucleate/monociti >75% sono indicative di una probabile monocitosi secondaria a ipotiroidismo o versamento maligno <p>Commento. Indipendentemente dal numero di cellule riscontrato, è la valutazione qualitativa a consentirne la caratterizzazione in senso neoplastico</p>	<p>Cutoff diagnostici per essudato:</p> <ul style="list-style-type: none"> • proteine totali >3g/dL e ratio proteine liquido/siero >0,5 • LDH >200U/L • ratio LDH liquido/siero >0,6 <p>Il glucosio <40 mg/dL è di frequente riscontrato nelle effusioni batteriche, tubercolari, reumatiche o neoplastiche</p> <p>A oggi non ci sono sufficienti evidenze per indicare un uso appropriato di altri analiti, nella pratica routinaria [5,28]</p>

Tabella 20.5 Principali analisi eseguite sul liquido ascitico e relativi criteri interpretativi

Esame macroscopico	Esame citometrico	Biochimica clinica
<p>Trasudato = limpido di colore giallo</p> <p>Essudato = torbido di colore variabile:</p> <ul style="list-style-type: none"> • giallo-verde (contaminazione da bile) • verde cangiante (pancreatite acuta) • lattescente (infezioni o versamenti chilosi o pseudochilosi) <p>Nei versamenti chilosi l'aspetto lattescente persiste anche dopo centrifugazione</p>	<p>I cutoff diagnostici sono:</p> <ul style="list-style-type: none"> • neutrofilo >$250 \times 10^6/L$, dato indicativo di probabile peritonite batterica non perforata • cellularità totale >$1000 \times 10^6/L$ con prevalenza di linfociti, dato indicativo di probabile peritonite tubercolare • eosinofilo >10%, dato indicativo di probabile infiammazione cronica <p>Commento. Indipendentemente dal numero di cellule riscontrato, è la valutazione qualitativa a consentirne la caratterizzazione in senso neoplastico</p>	<p>I valori di gradiente albuminico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ≥ 11 g/L o 1,1g/dL indicativo di ascite da ipertensione portale. Questa condizione può includere: cirrosi, epatite fulminante, patologia veno-occlusiva, ostruzione della vena epatica (es. sindrome di Budd-Chiari), insufficienza cardiaca congestizia • <11 g/L o 1,1 g/dL indicativo di ascite non da ipertensione portale, ma da alterazioni del peritoneo. Questa condizione può includere: carcinomatosi peritoneale primitiva o secondaria, peritonite tubercolare, infezione parassitaria o fungina, pancreatite

Tabella 20.6 Utilità clinica di alcuni analiti nei liquidi cavitari

Analita	Versamento pleurico			Ascite o versamento peritoneale			Versamento pericardico		
	Utile	Non utile	Di limitata utilità	Utile	Non utile	Di limitata utilità	Utile	Non utile	Di limitata utilità
Criteri di Light	X				X			X	
LDH	X					X		O	
Proteine	X					X		O	
Colesterolo	X					X		O	
Bilirubina		X				X		X	
Enzimi*		X			X			X	
Anti-tripsina		O				X		O	
ADA			X		O			O	
Gradiente di albumina			X	X				O	
Gradiente di proteine			X						
Amilasi			X			X		X	
PH			X		O			O	
Glucosio			X			X			X
CEA			X			X		X	
CA19-9		X			X			O	
CA 125		X			X			O	
CYFRA21-1		O			O			O	
CA15-3		X			X			O	
α -fetoproteina		O				X		O	

X: indica che l'utilità diagnostica è stata confermata in diversi studi; O: indica che non ci sono evidenze robuste per definire realmente l'utilità nella pratica clinica; ADA: adenosin deaminasi; CEA: antigene carcinoembrionario; CA19-9: antigene carboidratico 19-9; CA 125: antigene carboidratico 125; CA 15-3: antigene carboidratico 15-3.

*Altri enzimi oltre a LDH: amilasi, ADA.

Modificata da: [3].

Valori normali e valori di riferimento

Il concetto di normalita' e la medicina di genere

☞ Tutti i valori riscontrati con una analisi clinica o chimico-clinica devono essere paragonati a valori di riferimento considerati normali che sono distribuiti nella popolazione secondo una curva gaussiana

Il concetto di normalità in medicina è ancora ancorato troppo spesso a generalizzazioni che indicano nel soggetto normale di riferimento il maschio di 20-25 anni, anglosassone



Figura 1.1. Carl Friedrich Gauss. Immagine di public domain da un dipinto di Christian Albrecht Jensen

La curva gaussiana ha forma a campana con un massimo attorno alla media dei valori misurati e può essere più o meno stretta a seconda della dispersione dei valori attorno alla media; la dispersione si misura con la deviazione standard: e il 95% delle misurazioni differisce dalla media meno di due deviazioni standard: quindi maggiore è la deviazione standard, più la gaussiana è "aperta" e più c'è la possibilità che la media (il punto più alto) non sia rappresentativo di tanti casi

☞ La moderna medicina di genere indica invece una serie diversa di soggetti normali oltre a quelli ovvii dovuti agli estremi delle età:

- maschio
- femmina pre-pubere
- femmina fertile
- femmina in gravidanza
- femmina in allattamento
- femmina in menopausa

☞ Benché scientificamente **esista una sola razza umana**, sottogruppi geneticamente affini possono avere caratteristiche a volte significativamente diverse: la normalità dovrebbe quindi anche essere correlata all'appartenenza etnica

INTERVALLI DI RIFERIMENTO IN DIVERSE ETNIE

(METODI STANDARDIZZATI AI SISTEMI DI RIFERIMENTO IFCC - INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE)

Enzima	Europei		Asiatici	
	Femmine	Maschi	Femmine	Maschi
AST	11-34		14-32	
ALT	8-41	9-59	11-31	14-54
GGT	6-40	12-68	15-43	15-68
LDH	125-220		138-235	
CK	34-145	46-171	40-152	58-261
ALP	33-98	43-115	40-106	48-131

quali parametri influenzano i valori di riferimento?

- **Fattori genetici.** Molte anomalie nel metabolismo sono legate a fattori genetici. Criteri distintivi importanti sono i gruppi sanguigni e gli antigeni di istocompatibilità.

- **Fattori fisiologici.** Molte condizioni fisiologiche determinano variazioni consistenti in alcuni parametri biochimici.

Età (livelli ormonali, azotemia, colesterolo...)

Sesso (sideremia, acido urico, livello ormonale, gonadotropine, azotemia...)

Eccesso di peso (colesterolo, trigliceridi...)

Ora e giorno del prelievo (variazioni periodiche del colesterolo, catecolamine, sideremia...)

Modalità del prelievo (bicarbonati, proteine...)

Postura (attraverso la diversa distribuzione dell'acqua nell'organismo influenza calcio, proteine, colesterolo...)

Spesso problematico è il caso dei bambini, specialmente durante i primi giorni o le prime settimane di vita, in quanto esistono parametri fisiologici il cui range "normale" varia molto rapidamente col passare del tempo.

- **Fattori esogeni.** Includono l'alimentazione (colesterolo, trigliceridi), l'attività fisica o professionale, il fumo, l'alcool, l'assunzione di farmaci...

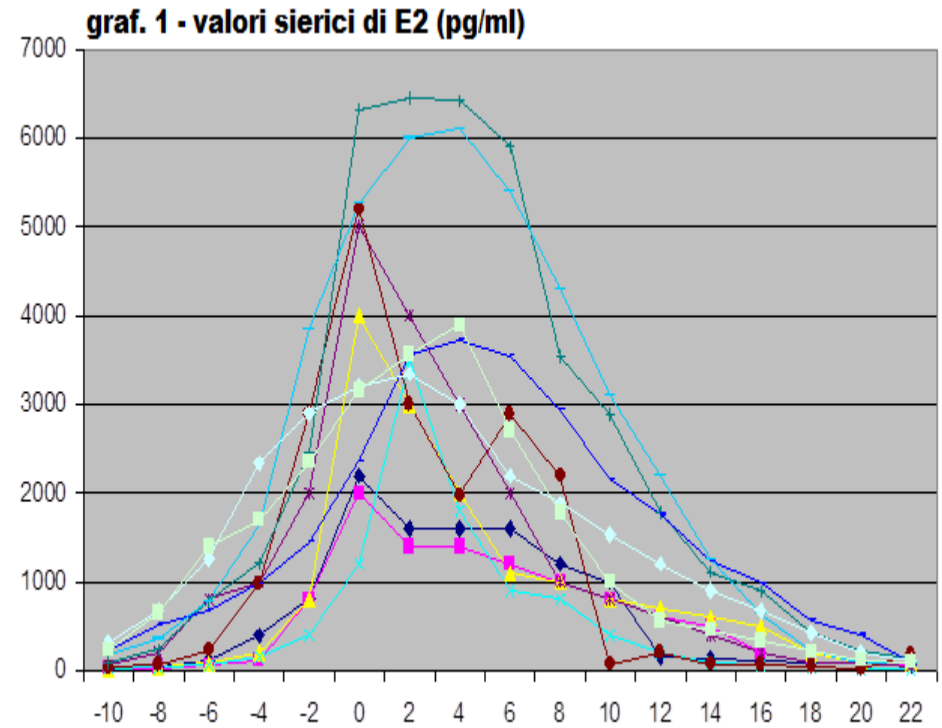
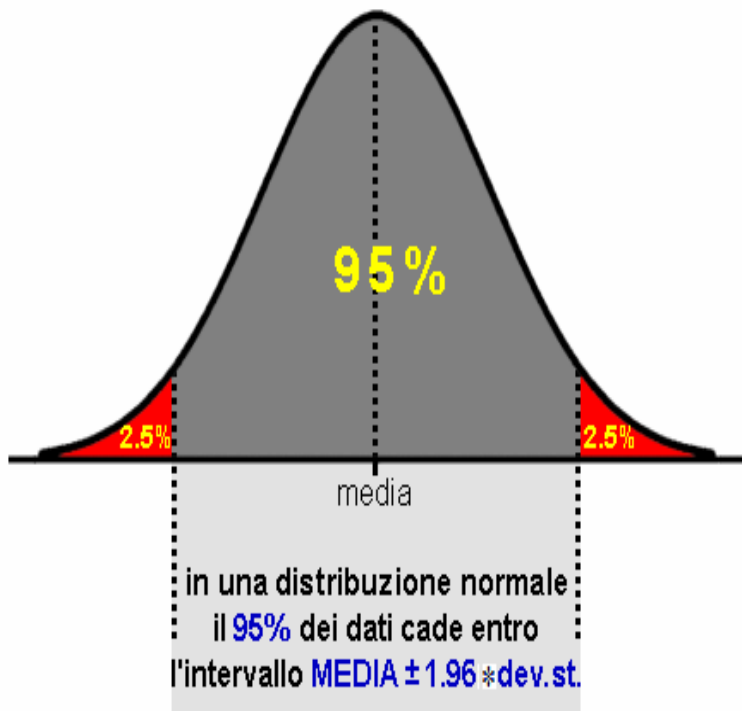
VALORI DI RIFERIMENTO

-
- 👉 Il referto di un test di laboratorio è sempre accompagnato dall'indicazione dell'intervallo entro il quale ci si aspetta sia compreso il valore del parametro analizzato
- questo intervallo comprende i valori che si osservano normalmente negli individui sani
 - la maggior parte delle volte i valori normali si distribuiscono in una curva gaussiana
 - solitamente si considerano normali i valori corrispondenti alla media dei valori ottenuti $\times 2$ deviazioni standard, tale intervallo comprende il 95% dei valori che si ottengono in una popolazione di individui sani
 - i valori che si trovano al di fuori di questi valori vengono considerati anomali (anche se accade per il 5% delle persone sane)

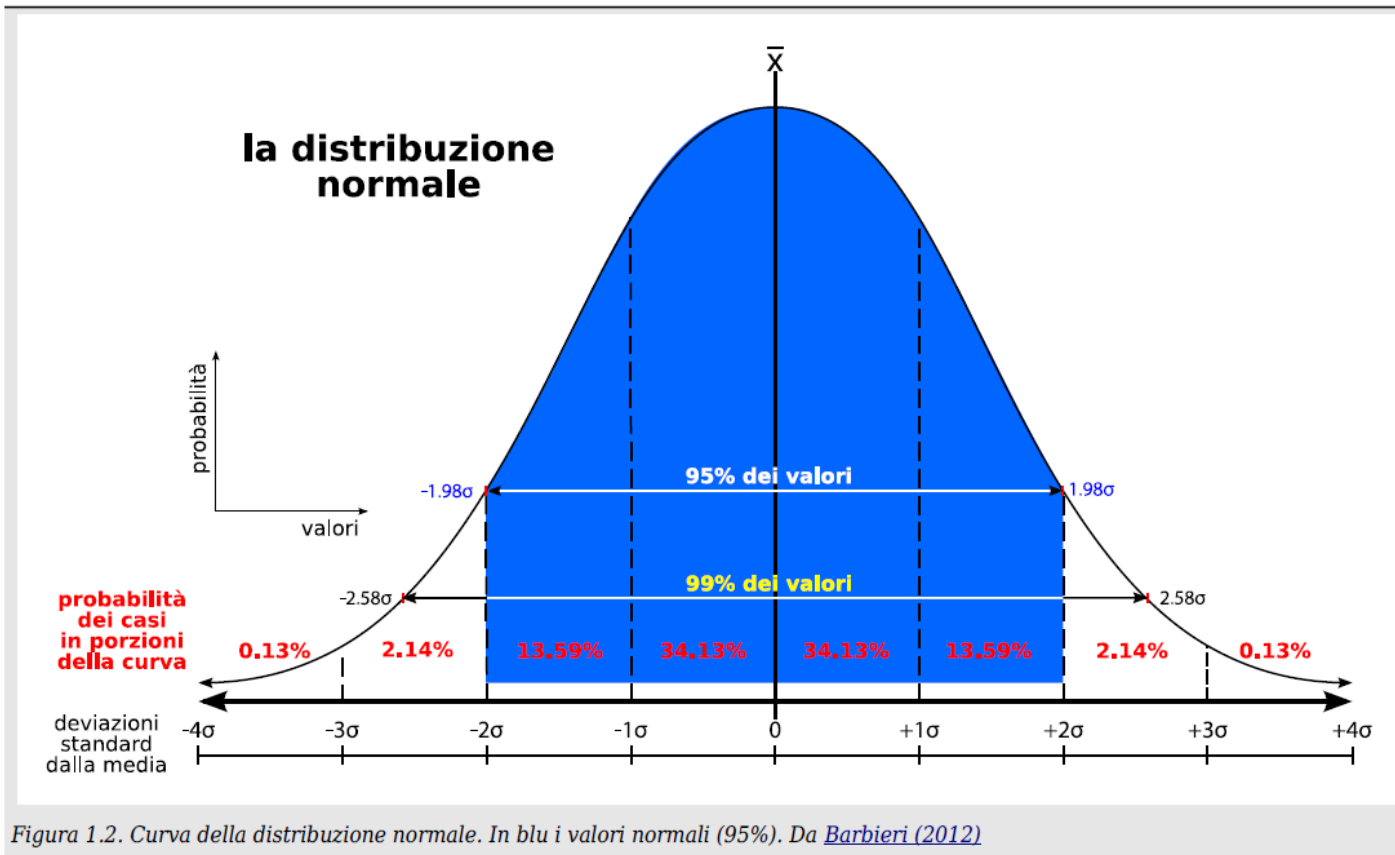
-
- 👉 Questo fa sì che se si eseguono contemporaneamente più indagini per un individuo sano:
- *la probabilità che tutti i valori rientrino nella norma diminuisce con l'aumentare del numero degli esami*

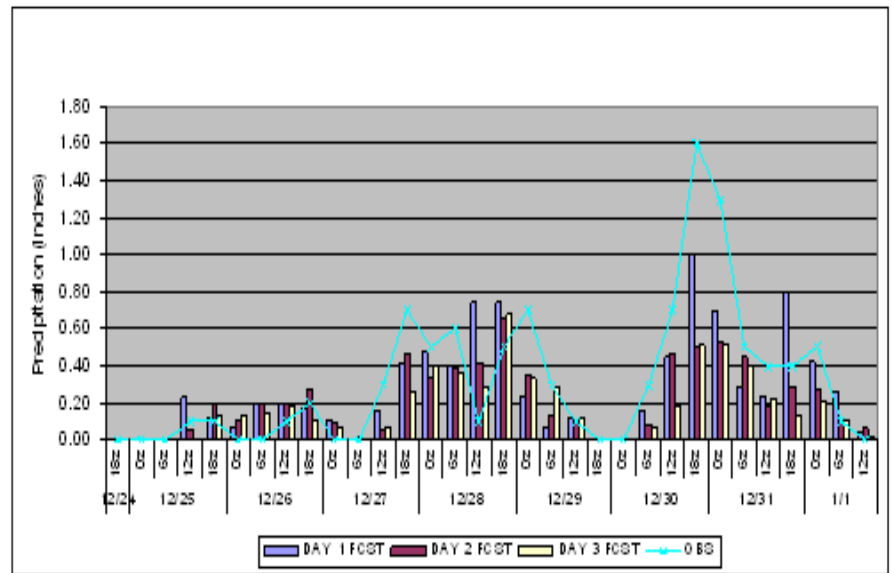
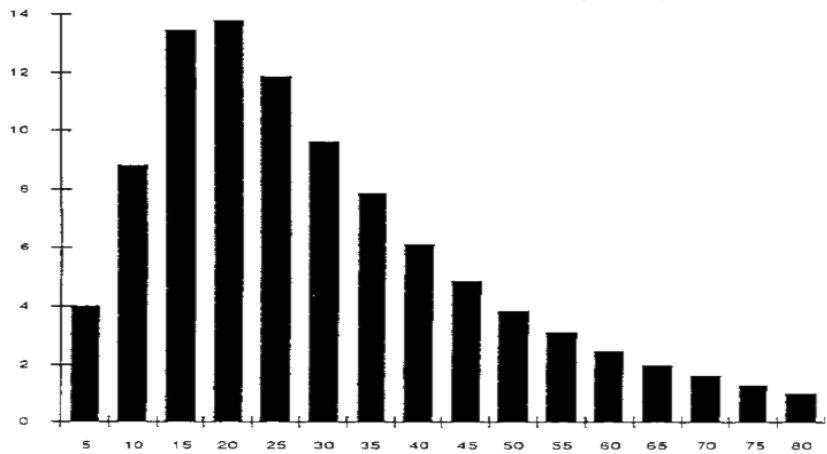
-
- 👉 Ovviamente, l'intervallo di normalità (o di riferimento) dipende dal gruppo scelto come riferimento
- Quando possibile, è preferibile rapportarsi a intervalli di riferimento specifici per sesso ed età
-

VALORI NORMALI E DI RIFERIMENTO




Distribuzione di probabilita' gaussiana





Interpretazione di un test di lab

PRINCIPI

- 
- **accuratezza**: quanto il valore fornito dall'analisi è prossimo al valore reale del parametro analizzato
 - **precisione**: riproducibilità di un *test*. quanto vicini fra loro sono valori ottenuti in ripetute determinazioni.
 - **specificità**: capacità di individuare i soggetti portatori della malattia senza definire ammalati individui sani

$$\frac{\text{veri negativi}}{\text{veri negativi} + \text{falsi positivi}}$$

- **sensibilità**: capacità di un *test* di individuare tutti i soggetti malati senza definire sani soggetti malati

$$\frac{\text{veri positivi}}{\text{veri positivi} + \text{falsi negativi}}$$

Valore diagnostico e predittivo di un test

FALSI POSITIVI E FALSI NEGATIVI

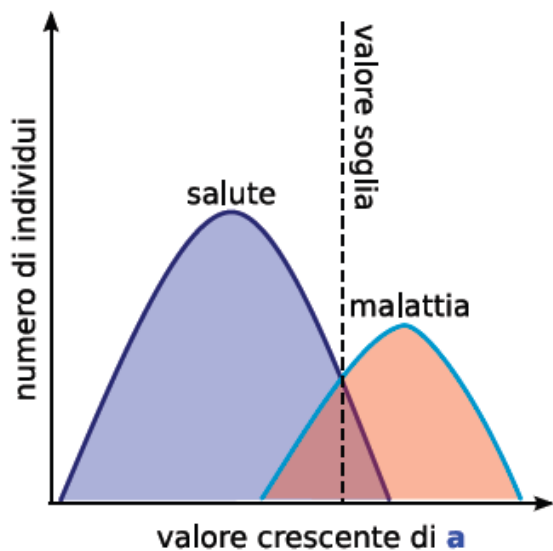


Figura 1.3. Livelli di un parametro emato-chimico teorico a

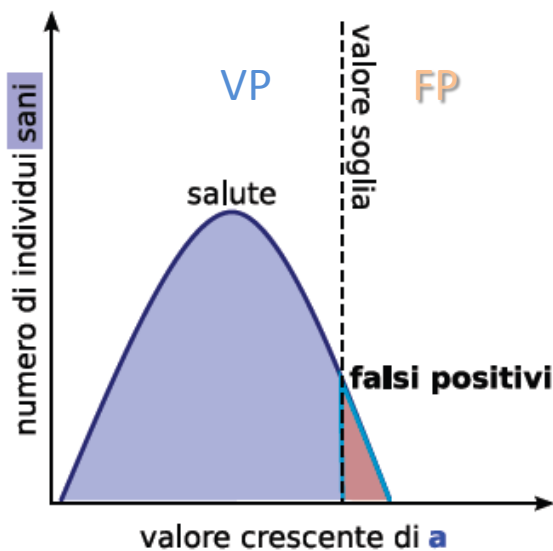


Figura 1.4. Falsi positivi nell'analisi di un parametro emato-chimico teorico a

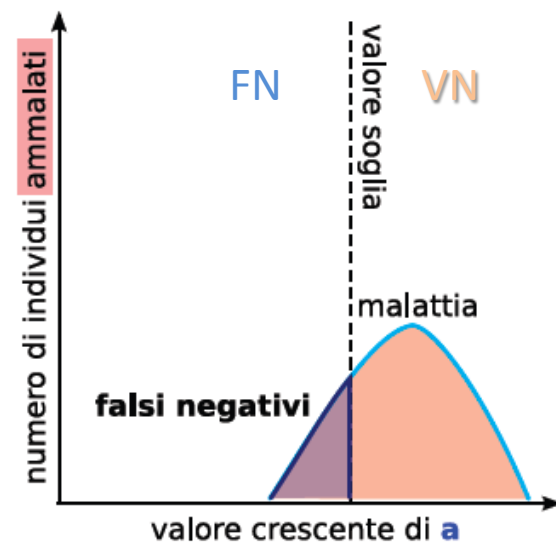


Figura 1.5. Falsi negativi nell'analisi di un parametro emato-chimico teorico a

SPECIFICITA' E SENSIBILITA' DIAGNOSTICA

Definizione di **sensibilità** diagnostica

Si definisce sensibilità diagnostica la % di individui affetti dalla patologia in esame che risultano positivi al test (veri positivi, VP) rispetto a tutti gli individui affetti da quel tumore, siano essi positivi (veri positivi, VP) o negativi (falsi negativi, FN) al test



$$\text{sensibilità} = \frac{VP}{VP+FN} \times 100$$

- In pratica la sensibilità di un marcatore dipende dalla sua capacità di identificare i soggetti malati

Definizione di **specificità** diagnostica

Si definisce specificità diagnostica la % di individui non affetti dalla patologia in esame che risultano negative al test (veri negativi, VN) rispetto a tutti gli individui non affetti da quella patologia, siano essi negativi (veri negativi, VN) o positivi (falsi positivi, FP) al test



$$\text{specificità} = \frac{VN}{VN+FP} \times 100$$

- In pratica la specificità di un marcatore dipende dalla sua capacità di identificare i soggetti sani

VALORI PREDITTIVI E ACCURATEZZA

TOTALE MALATI

TOTALE SANI

	casi positivi		casi negativi	
test positivi	A (veri+)		C (falsi+)	TOTALE +
test negativi	B (falsi-)		D (veri-)	TOTALE -

$$\text{sensibilità} = A/(A+B)$$

$$\text{specificità} = D/(C+D)$$

$$\text{valore predittivo negativo} = D/(B+D)$$

$$\text{valore predittivo positivo} = A/(A+C)$$

$$\text{accuratezza} = A+B/(A+B+C+D)$$

	M+	M-	
T+	a	b	a+b
T-	c	d	c+d
	a+c	b+d	

- totale test-positivi (a+b)
 - totale test-negativi (c+d)
 - totale malati (a+c)
 - totale sani (b+d)

SPECIFICITA'

- probabilità che un sano risulti test-negativo
- proporzione dei sani che risultano test-negativi

SENSIBILITA'

- probabilità che un malato risulti test-positivo
- proporzione dei malati che risultano test-positivi

EFFICACIA DIAGNOSTICA



efficacia diagnostica

=

$$(VP+VN)/(VP+FP+VN+FN)$$

ovvero

risultati veri/tutti i risultati

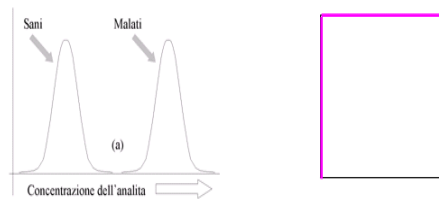
1.6.4. VALORI PREDITTIVI



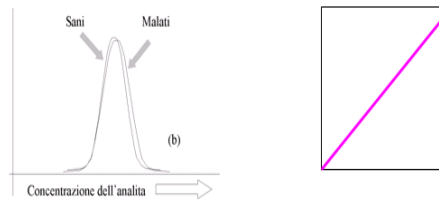
- Il valore predittivo di un *test* positivo indica la probabilità che l'individuo abbia la malattia
- il valore predittivo di un *test* negativo indica la probabilità che l'individuo non sia affetto da quella malattia.
- Il valore predittivo di un esame di laboratorio tiene conto della presenza della malattia (prevalenza) nella popolazione
- In generale maggiore è la prevalenza della malattia nella popolazione maggiore è il valore predittivo di un risultato positivo del *test*

INTERPRETAZIONE DI UN TEST DI LABORATORIO

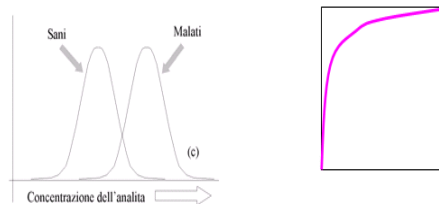
Nella situazione ideale, di completa separazione dei valori del rumore da quelli del segnale abbiamo una curva ROC che sale perfettamente verticale sull'asse delle ordinate quindi piega ad angolo retto in orizzontale, parallela all'asse delle ascisse:



Nella situazione opposta, di completa sovrapposizione dei valori del rumore e di quelli del segnale, nella quale segnale e rumore sono quindi indistinguibili l'uno dall'altro, abbiamo una curva ROC che è una retta che va dall'angolo inferiore sinistro all'angolo superiore destro:



Nella pratica (Zenone docet) si incontrano curve che giacciono in mezzo ai due estremi sopra riportati:



L'area sottesa alla curva fornisce una misura delle prestazioni del radar (nell'esempio aeronautico) e del test di laboratorio (nel nostro caso). Il massimo valore di sensibilità è uguale a 1, e il massimo valore di (1- specificità) è uguale a 1, e pertanto l'area totale massima sottesa dalla curva è uguale a 1. Nel caso del radar l'area sottesa dalla curva rappresenta la probabilità che un aereo fornisca un segnale (radar) superiore a quello del rumore (di fondo). Nel caso del test diagnostico questa area rappresenta la probabilità che una persona con la malattia, presa a caso, abbia un risultato superiore a quello di una persona senza la malattia, presa a caso [2]. Se la curva ROC (del radar/del test di laboratorio) va dall'angolo inferiore sinistro all'angolo superiore destro la probabilità è uguale a 0,5; e l'informazione fornita dal radar/test di laboratorio è uguale a quella che si può ricavare dal lancio di una moneta!

TEST DI SCREENING

caratteristiche che deve avere

- **costare poco** (conditio sine qua non): vi deve essere sottoposta una popolazione numerosa e quindi una procedura costosa, anche se efficace, non potrebbe essere adottata
- **non essere nociva per il paziente**: la maggior parte dei soggetti sottoposti al *test* sarà presumibilmente sana ed un danno da test non è giustificabile
- **non presentare falsi negativi**: i falsi positivi sono tollerabili in quanto i soggetti positivi al test di screening verranno sottoposti ad altre indagini prima della diagnosi e dell'intervento terapeutico

Errori ed esami di laboratorio

CAUSE DI ERRORE



Oltre alla variabilità fisiologica e alle caratteristiche della popolazione la variabilità può essere introdotta dagli errori

Gli errori in una procedura diagnostica di laboratorio possono essere relativi alla:

- preparazione del paziente
- raccolta del campione
- manipolazione del campione
- analisi
- refertazione

TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI



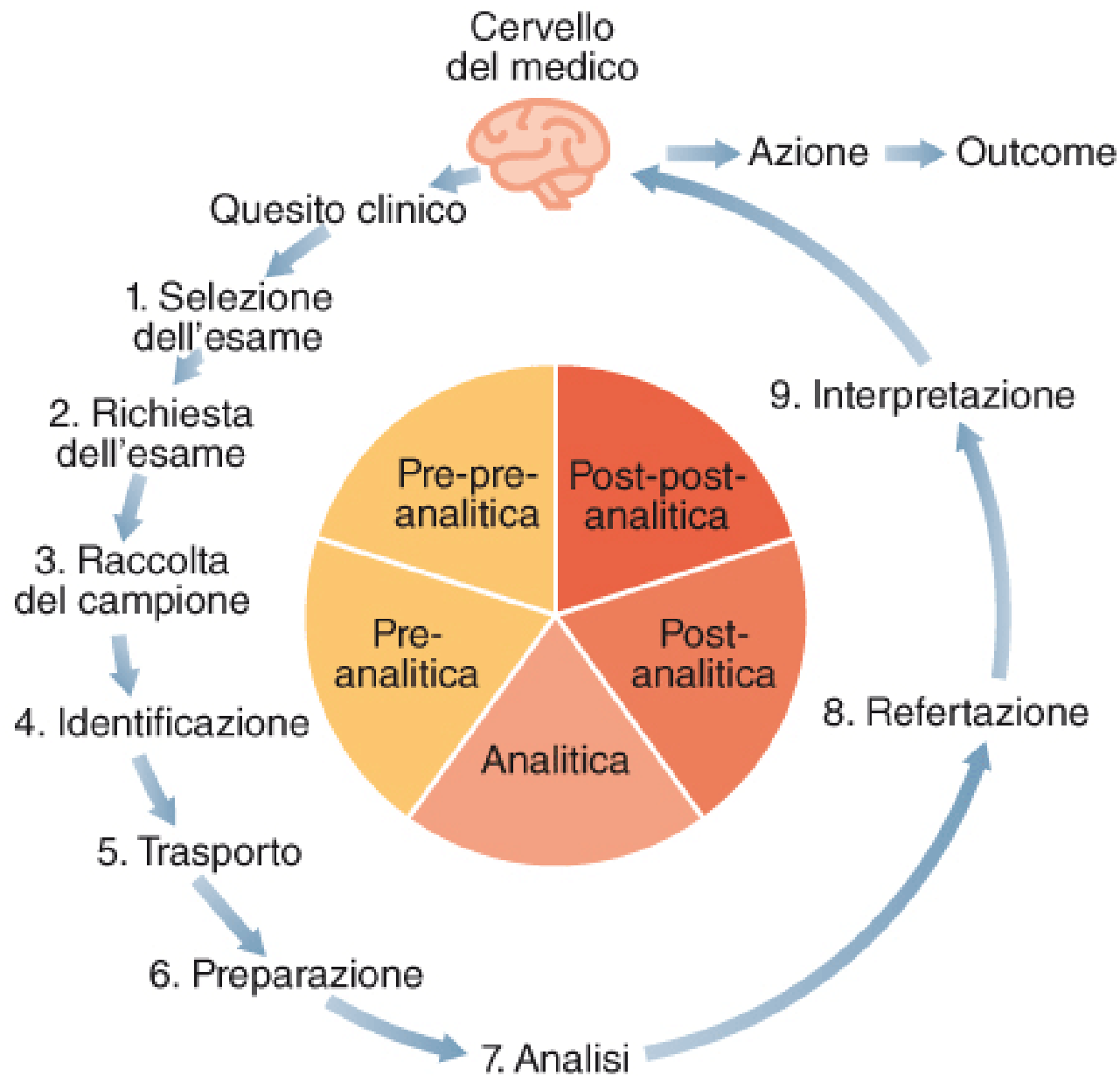
I campioni devono essere raccolti e trattati in modo corretto e differenziato a seconda dell'analisi da eseguire

Una delle fasi più delicate e importanti è il trattamento pre-analitico del campione, che spesso coinvolge diversi operatori, talvolta esterni alle strutture sanitarie

GLI ERRORI SI POSSONO VERIFICARE IN TRE FASI



- fase pre-analitica
- fase analitica
- fase post-analitica



Cause di variabilità **pre-analitica**



- variazioni fisiologiche individuali
- variazioni che si verificano durante la raccolta del campione
- variazioni che si verificano tra la raccolta del campione e la fase analitica

Variazioni fisiologiche



- età
- gravidanza
- variazioni cicliche
- circadiane (ormoni)
- mensili (ciclo mestruale)

Fattori patologici che possono interferire con alcuni esami di laboratorio



Tra i fattori patologici che possono interferire con le analisi ci sono quelli legati al colore ed alla limpidezza del campione es.:

- emolisi (plasma o siero rossi)
- iper-bilirubinemia (plasma o siero aranciato - marrone)
- iper-lipidemia (plasma o siero lattiginoso)

Infatti alcuni esami si basano su metodi spettrofotometrici: la lettura è alterata da variazioni cromatiche del campione

ERRORI PREANALITICI RELATIVI AL CAMPIONE

Tempo	Errore
Prima della raccolta del campione	Richiesta di esame inappropriato o test necessario non richiesto
	Errore di identificazione del paziente
	Errore di identificazione del campione
Durante la raccolta del campione	Volume insufficiente
	Errato anticoagulante
	Errato rapporto campione/anticoagulante
	Campione coagulato (mancato mescolamento, raccolta prolungata)
	Campione emolizzato
	Contaminazione del campione
	Contenitore errato
Dopo il prelievo	Errore di etichettatura
	Inappropriato trasporto
	Problemi di conservazione (tempo e temperatura)
	Errore di centrifugazione (forza centrifuga, tempo, temperatura)

CORRETTA IDENTIFICAZIONE DEL PAZIENTE E AZIONI DA EVITARE

Azioni pericolose da evitare	Buone pratiche per la corretta identificazione del paziente
Utilizzare il numero di stanza o di accodamento, la posizione letto, o la diagnosi per identificare un paziente	Utilizzare due identificativi diversi, definiti dall'organizzazione, per identificare il paziente al momento dell'incontro
Chiedere al paziente di confermare il suo nome chiedendo: "Il tuo nome è Nome Cognome?"	Chiedere al paziente di indicare i propri dati anagrafici dicendo: "Come ti chiami? Qual è la tua data di nascita?"
	Diffondere l'importanza della corretta identificazione ai pazienti
Dare per scontato che il paziente vi correggerà quando si usa un nome sbagliato (il paziente può essere confuso, intimorito, o ritenere di non avere sentito bene)	Coinvolgere i pazienti spiegando l'importanza dell'identificazione in ogni procedura
	Fornire supporti per limitazioni di udito o barriere linguistiche, in modo che il paziente possa adeguatamente confermare la propria identità
Posizionare i pazienti con nomi simili nella stessa stanza	Adottare misure per evitare confusioni quando i pazienti sulla stessa unità operativa hanno nomi simili
Etichettare un contenitore prima di ottenere il campione, lontano dal paziente	Confermare l'identità di un paziente prima di apporre un'etichetta su un contenitore
Portare più etichette prestampate per diversi pazienti	Etichettare il campione in presenza del paziente, uno alla volta
Etichettare in un secondo tempo serie di campioni prelevati da diversi pazienti	
Fidarsi dell'identificazione fatta da un altro operatore	Riconfermare l'identità in ogni passaggio di mano del paziente o dei suoi campioni
Non seguire le procedure definite per la corretta identificazione del paziente	Applicare tecniche di identificazione del paziente in modo coerente, seguendo le politiche dell'organizzazione
	Ridurre al minimo le interruzioni e le distrazioni durante l'identificazione del paziente
	"Non tacere", se si osservano deviazioni dalle procedure standard di identificazione del paziente

PRINCIPALI CAUSE DI EMOLISI EXTRAVASCOLARE

Prelievo	Trasporto	Pre-analitica intra-laboratorio	Archiviazione
Prelievo traumatico, accesso venoso difficile, punto di accesso	Provenienza dei campioni: ostetricia, pronto soccorso e rianimazioni	Tempo tra il prelievo e la centrifugazione	Temperatura di stoccaggio postanalisi
Prelievo da catetere/agocannula	Trasporto per posta pneumatica	Centrifugazione a temperature estreme	Durata dello stoccaggio
Prelievo capillare	Pre- centrifugazione e temperatura di trasporto	Velocità di centrifugazione	
Dimensione dell'ago	Trasporto mediante corrieri	Imperfetta barriera del separatore (gel)	
Trasferimento da siringa	Durata del trasporto	Ri-centrifugazione	
Uso dell'antisettico per il prelievo			
Agitazione energica			
Provetta non riempita completamente			
Mancanza di agitazione			


Tabella 6.4 Raccomandazioni per il prelievo venoso

Raccomandazione	Grading
Formazione dell'operatore	
Per tutti i professionisti abilitati al prelievo ematico introdurre corsi di formazione, basati su didattica frontale, tutoraggio e pratica	Grado A
Dispositivi per il prelievo	
Utilizzare dispositivi che prevedano l'integrazione di aghi monouso, sistemi di supporto (<i>holder</i> o camicie) e provette primarie sottovuoto (<i>vacuum</i>)	Grado A
Le siringhe rappresentano una possibile alternativa quando:	
• in situazioni di emergenza non sia possibile reperire dispositivi di cui sopra	Grado B
• particolari situazioni anatomiche e/o fisiche rendano impossibile o sconsigliabile utilizzare i dispositivi di cui sopra	Grado B
Utilizzare dispositivi monouso che prevedano l'eliminazione di tutte le parti a diretto contatto con il sangue del paziente	Grado A
Utilizzare sistemi che non consentano di reincappucciare aghi e ogni altro possibile oggetto tagliente utilizzato nel corso del prelievo	Grado A
Se l' <i>holder</i> non è contaminato da sangue, può essere riutilizzato	Grado B
Qualora, al contrario, vi sia anche solo il sospetto di una contaminazione ematica, l'<i>holder</i> deve essere:	
• sterilizzato	Grado D
• eliminato	Grado A
Preferire aghi tradizionali	Grado A
Utilizzare <i>butterfly</i> in situazioni specifiche:	
• vene difficilmente accessibili per sede o calibro con il dispositivo tradizionale	Grado B
• espressa richiesta da parte del paziente	Grado B
Preferire aghi di calibro uguale pari a 20 o 21G	Grado A
Riservare aghi di piccolo calibro a prelievi su vene molto piccole	Grado B
Non utilizzare agocannule	Grado A
Norme relative al paziente	
Identificare correttamente il paziente, utilizzando almeno due criteri, nessuno dei quali deve essere il numero di stanza del paziente	Grado A
Utilizzare un solo set di provette destinate a un solo paziente per volta	Grado A
Prelevare sempre e solo un paziente alla volta	Grado A
Accertarsi delle condizioni fisiche del paziente	Grado A
Qualora il paziente non sia in condizioni idonee al prelievo, questo deve essere inevitabilmente differito in altra data	Grado A
Controllare la prescrizione, verificando che il numero e il tipo di test coincidano con quelli accettati	Grado A
Siti preferenziali di prelievo (in ordine decrescente): vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica), vena basilica, vene del dorso del braccio, vene del polso e della mano. Le vene dei piedi rappresentano l'ultima risorsa	Grado A
Sono da evitare prelievi da:	
• ampie cicatrici a seguito di ustioni o chirurgia, braccio omolaterale a esito di mastectomia (i risultati dei test potrebbero essere alterati per la presenza di linfedema), siti contigui a ematomi, trombi o edemi	Grado A
• dispositivi per terapia endovenosa (IV) e/o trasfusioni di sangue	Grado A
• qualora si prelevi il campione da siti di infusione, il flusso nel dispositivo deve essere arrestato per almeno 2 minuti e devono essere eliminati non meno di 5 mL di sangue	Grado A
Per favorire il rigonfiamento della vena è possibile:	
• riscaldare brevemente il sito di prelievo, con un panno caldo	Grado B
• massaggiare il sito in senso opposto al flusso venoso	Grado B
• riscaldare brevemente il sito di prelievo con acqua calda	Grado C
• percuotere il sito	Grado D


Non applicare il laccio in presenza di:	
<ul style="list-style-type: none"> • vene grosse, visibili e palpabili • prelievo per la determinazione del pH venoso 	Grado A Grado A
Se il laccio è invece necessario:	
<ul style="list-style-type: none"> • posizionarlo circa 10 cm al di sopra del sito prescelto • utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio o ostacolare la circolazione arteriosa • non mantenerlo in sede per più di 1 minuto • quando è necessario più tempo rilasciarlo e riapplicarlo 	Grado A Grado A Grado A Grado A
Norme relative al campionamento	
Indossare i guanti durante il prelievo	Grado B
Utilizzare tubi primari con etichette che indichino il tipo di provetta necessaria e il volume di campione richiesto	Grado A
Etichettare le provette prima del prelievo, mai dopo	Grado A
Utilizzare sistemi di produzione automatica delle etichette	Grado A
Utilizzare etichettatura automatica delle provette	Grado B
Detergere la cute con un batuffolo di ovatta imbevuto di prodotto idoneo, procedendo sempre nello stesso verso e poi asciugare la cute	Grado A
Seguire una sequenza specifica per la raccolta delle provette (<i>order of draw</i>)	Grado B
Per provetta destinata a esami di coagulazione, non è necessario raccogliere ed eliminare una provetta precedente	Grado B
Verificare che la quantità di sangue aspirato dal tubo primario sia idonea	Grado A
Invertire gentilmente 4-6 volte le provette contenenti anticoagulante	Grado A
Non aprire mai le provette sottovuoto, né trasferire sangue da una provetta all'altra (fatto salvo l'uso di siringhe per il prelievo)	Grado A
In presenza di errori, verificare la necessità di raccogliere altri campioni o contattare il laboratorio per delucidazioni	Grado A
Rilasciare il laccio prima di estrarre l'ago dalla vena, posizionare immediatamente un batuffolo di ovatta sul sito di prelievo, chiedendo al paziente di operare una pressione moderata sullo stesso, mantenendo il braccio disteso	Grado A
Norme da seguire al termine del prelievo	
Eliminare il materiale contaminato in appositi contenitori di sicurezza idonei per il riconoscimento del tipo di materiale	Grado A
Non reincappucciare, spezzare o frantumare direttamente l'ago utilizzato	Grado A
Verificare lo stato di salute del paziente e l'insorgenza di eventuali complicazioni	Grado A
Altre norme generali	
Osservare sempre un atteggiamento di disponibilità e cortesia	Grado A
Evitare di accanirsi con l'ago all'interno del sito di prelievo	Grado A
In caso di fallimento al primo tentativo:	
<ul style="list-style-type: none"> • avanzare o arretrare cautamente l'ago • sostituire la provetta • estrarre l'ago e ritentare se l'esito è ancora negativo • trasferire il paziente a un collega dopo due tentativi falliti 	Grado A Grado A Grado B Grado A

A, B, C, D, E: forza delle raccomandazioni, in accordo con le indicazioni dell'Istituto Superiore di Sanità. A: fortemente raccomandata; B: raccomandata; C: incertezza a favore o contro la raccomandazione; D: sconsigliata, E: fortemente sconsigliata.

1.8.5. FONTI DI ERRORE NELLA FASE DEL PRELIEVO

-  ● mancato controllo del rispetto della dieta da parte del paziente
 - applicazione prolungata del laccio
 - contaminazione da infusione venosa
 - emolisi
 - incompleto riempimento della provetta
 - uso di provette con anticoagulanti e conservanti non idonei
 - errata identificazione del paziente
 - errata etichettatura delle provette
 - mancata indicazione del tipo di prelievo (arterioso, venoso, ecc.)
 - mancata indicazione di data e ora del prelievo
-

Fattori patologici che possono interferire con alcuni esami di laboratorio

-  Tra i fattori patologici che possono interferire con le analisi ci sono quelli legati al colore ed alla limpidezza del campione es.:
 - emolisi (plasma o siero rossi)
 - iper-bilirubinemia (plasma o siero aranciato - marrone)
 - iper-lipidemia (plasma o siero lattiginoso)

Infatti alcuni esami si basano su metodi spettrofotometrici: la lettura è alterata da variazioni cromatiche del campione

1.8.6. FONTI DI ERRORE DOPO LA FASE DEL PRELIEVO



- ritardi nel trasferire i campioni al laboratorio
- non osservanza delle istruzioni per la corretta conservazione del campione

1.8.7. METANALISI DELLA LETTERATURA SUGLI ERRORI DI LABORATORIO

Tabella 1.3. Metanalisi sugli errori di laboratorio. Dati da Bonini (2002). n.d.: non determinato; paz.: pazienti

	Lapworth (1994)	Goldschmidt (1995)	Nuttling (1996)	Plebani (1997)	Stahl (1998)	Hofgärtner (1999)	Hofgärtner (1999)
durata raccolta dati	1 anno	6 anni	0.5 anni	0.25 anni	3 anni	10 anni	1 anno
no. di test	997,000	n.d.	n.d.	40,490	676,564	4,234	88,394
no. di pazienti	249,000	n.d.	160,714	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
no. di errori	120	133	180	189	4,135	16	293
Frequenza	0.05% paz.		0.11% paz.	0.47% test	0.61% test	0.38% test	0.33% test
fase pre-analitica	31.6%	53%	55.6	68.2%	75%	44%	60%
fase analitica	31.6%	23%	13.3	13.3%	16%	31%	19%
fase post-analitica	30.8%	24%	30	18.5	9%	12.5%	15%
fasi multiple	6%					12,5%	6%
Identificazione errori	41 (34%)	77 (58%)	n.d.	5 (2.6%)	n.d.	n.d.	n.d.
Impatto sul paziente	n.d.						
nessuno		43%		74%	74%		63.4%
lieve		23%	13%	19.6%	19.6%	25%	20%
moderato		26%	13%	6.4%	6.4%	50%	10.2
severo		8%				25%	6.4%
molto severo		none					

Come intervenire sugli errori?

Categorizzare gli errori:

- errore involontario nell'ambito di procedure codificate
- errore involontario nell'ambito di procedure non codificate
- errore deliberato

● *Solo dopo aver identificato l'errore è possibile introdurre gli adeguati correttivi*
