



Università di Siena

Patologia Clinica



Obiettivi del Corso:

ACQUISIRE:

1) CONOSCENZA DEL CONTRIBUTO DELLA MEDICINA DI LABORATORIO NEI PERCORSI CLINICO/DIAGNOSTICI

2) CONOSCENZA DEL PROCESSO DI LABORATORIO:
FASE PREANALITICA, ANALITICA, POSTANALITICA

3) CONOSCENZE GENERALI DEI TEST DI LABORATORIO UTILI
NELLA PREVENZIONE, DIAGNOSI, TERAPIA E FOLLOW UP
CLINICO

APPLICARE:

NEI PERCORSI DIAGNOSTICI SPECIFICI LE CONOSCENZE
ACQUISITE



PARTE GENERALE: i principi

- I concetti di base della Patologia Clinica
- Anamnesi, esame obiettivo e le indagini di laboratorio
- Il processo di laboratorio
- Input, output, outcome
- La fase preanalitica
- Gli errori
- La richiesta
- Il prelievo dei campioni biologici
- La variabilità
 - - biologica
 - - analitica
- Il trasporto
- La conservazione
- I valori di riferimento
- Precisione., accuratezza, sensibilità, specificità, valore predittivo
- L'appropriatezza
 - - EBLM (cenni)
 - - Finestra diagnostica
 - - metanalisi (cenni)
 - - plausibilità e finalità dei test
- Variazione patologica dei parametri biochimici
- I test di laboratorio di 1^a e 2^a istanza
- Gli esami di screening, di routine, specialistici
- Il Laboratorio di Patologia Clinica nei percorsi diagnostico/clinici/terapeutici

PARTE SPECIFICA: gli esami “ragionati ed applicati”

POCT

Come si inserisce il laboratorio nella gestione di una patologia?

1. La conoscenza generale

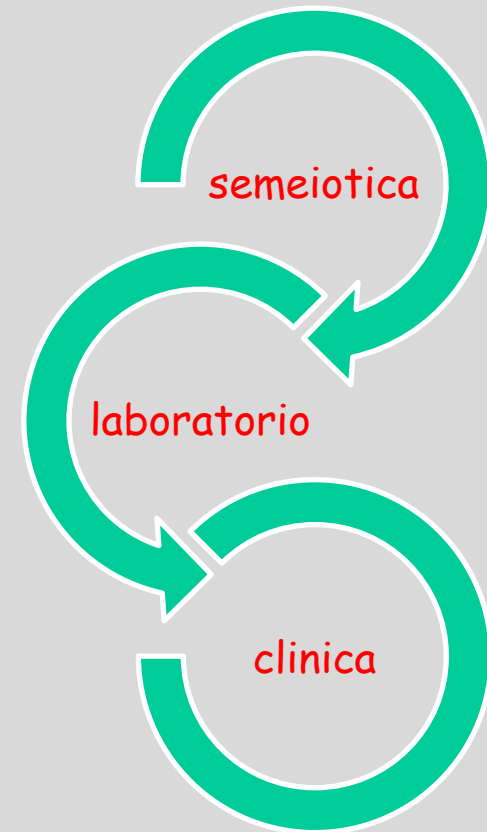
Tutte le patologie hanno come vera e ultima causa (**vera etiologia**) alterazioni biochimiche generali o localizzate.

Il **criterio anatomo-patologico** è **successivo** alle variazioni molecolari e biochimiche

2. La conoscenza dettagliata

L'applicazione delle conoscenze generali in percorsi specifici di diagnosi e terapia secondo i criteri di appropriatezza:

percorsi clinico/diagnostici



SEMEIOTICA MEDICA

La diagnosi

Per arrivare ad una diagnosi presuntiva o certa occorre effettuare:

- ANAMNESI

Informazioni fisiologiche e patologiche dei familiari e del paziente
(Anamnesi familiare, Anamnesi personale fisiologica, patologica remota e prossima)

- SEMEIOTICA

Manifestazioni e sintomi dello stato patologico del paziente
(Semeiotica fisica: esame obiettivo, ecc.. , Semeiotica strumentale: esami di laboratorio, di radiologia, ecc..)

- ETIOLOGIA → PATOGENESI → SINTOMI

Ricerca delle cause della patologia che con particolari meccanismi genera manifestazioni o fenomeni della malattia.

GLI ACCERTAMENTI DIRETTI

SEMEIOTICA MEDICA (manuale)

- anamnesi
- esame obiettivo

GLI ACCERTAMENTI INDIRETTI

SEMEIOTICA MEDICA (strumentale)

- o diagnostica di laboratorio
- o diagnostica per immagini
- o diagnostica anatomo-patologica

Di cosa parliamo?



- ❖ patologia clinica ([USA](#), [Regno Unito](#), [Commonwealth](#), [Portogallo](#), [Italia](#)),
- ❖ medicina di laboratorio ([Germania](#), [Romania](#), [Polonia](#), [Europa dell'est](#)),
- ❖ analisi clinica ([Spagna](#))
- ❖ biologia clinico-medica ([Francia](#), [Belgio](#), [Paesi Bassi](#), [Austria](#), [nord Africa](#), ecc.)

Si tratta comunque di una

branca della [medicina](#) che applica le tecniche di indagine della [patologia generale](#) - disciplina accademica - ai singoli casi clinici, in un contesto applicativo e ospedaliero.

Un **patologo clinico** è quindi uno specialista di laboratorio e lavora su campioni biologici di tessuto, di sangue o di altri **liquidi** e secrezioni corporee provenienti dai pazienti.



Su tali campioni egli esegue indagini di morfologia macro e microscopica, analisi chimiche, immunologiche, microbiologiche e molecolari.

Patologia clinica non è un termine coniato in Italia, è molto vasto e comprende diverse discipline specifiche.

Esso deriva dall'anglosassone "Clinical Pathology", che era la definizione ufficiale dei servizi di anatomia patologica (pathology) con sezioni di diagnostica di laboratorio - analisi chimico cliniche e microbiologia - negli ospedali americani.

Come tale, il termine preferibilmente indicava *laboratori medio-piccoli* con numerose sezioni sotto una unica direzione.

In centri maggiori, ben presto le varie specialità hanno dato origine a servizi e laboratori separati e amministrativamente autonomi, riuniti entro un **dipartimento di patologia clinica**.

In Italia, i primi servizi di laboratorio diagnostico con un proprio organico autonomo sono stati quelli di **Anatomia Patologica**, una disciplina che a livello accademico vantava una tradizione secolare.

In seguito anche le attività di **Analisi Chimiche** e di **Microbiologia**, i cui contenuti scientifici sono più recenti, si sono strutturati in servizi autonomi di patologia clinica - **Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia** -, con una loro dotazione di personale.

Dai servizi di laboratorio si sono progressivamente staccati, come primariati autonomi, i servizi di medicina trasfusionale, dedicati alla raccolta di sangue e alla lavorazione degli emocomponenti.

Negli ospedali più grandi, oltre ai servizi immunotrasfusionali, si sono resi autonomi anche i laboratori specialistici di microbiologia e virologia, dedicati agli accertamenti sulle malattie infettive e più recentemente i laboratori specialistici di genetica e di biochimica clinica.

Oggi la definizione di "patologia clinica" è sinonimo di "medicina di laboratorio" e indica *l'insieme di servizi diagnostici generali e specialistici che operano su materiali biologici prelevati ai pazienti.*

Come tale lo si può trovare nelle intestazioni di Dipartimenti Ospedalieri che riuniscono le attività di laboratorio, e rientra anche nella denominazione ufficiale di una **società scientifica di laboratoristi nata nel 1947** (AIPaC, Associazione Italiana Patologia Clinica) che ha recentemente preso il nome di **A.I.Pa.C.Me.M.** (Associazione Italiana di Patologia Clinica e Medicina Molecolare)

PATOLOGIA CLINICA

Distinguo fra "malato" e "sano"
Contributo degli esami di laboratorio
nella diagnosi di una malattia

	SOGGETTO MALATO	SOGGETTO IN ABS
ANAMNESI	55%	35%
ESAME OBIETTIVO	20%	5%
INDAGINI LABORATORIO	20%	45%
DIAGNOSI IMPOSSIBILE	1-2%	3-5%

J.O. Westgard, T. Dancy. Clinica Chimica Acta 2004

PATOLOGIA CLINICA

**Contributo degli esami di laboratorio
nella diagnosi di una malattia**

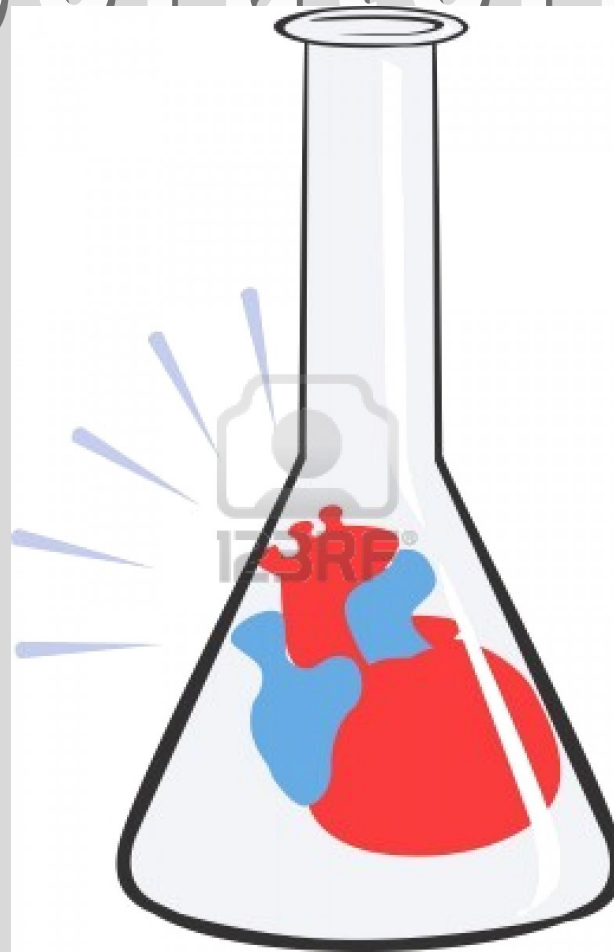
**PROBABILITA' DI UNA PERSONA SANA DI AVERE
TUTTI
I RISULTATI DEI TEST ENTRO I VALORI DI
RIFERIMENTO**

NUMERO DI TEST RICHIESTI	PROBABILITA' %
1	95
6	74
12	54
20	36
100	0,6

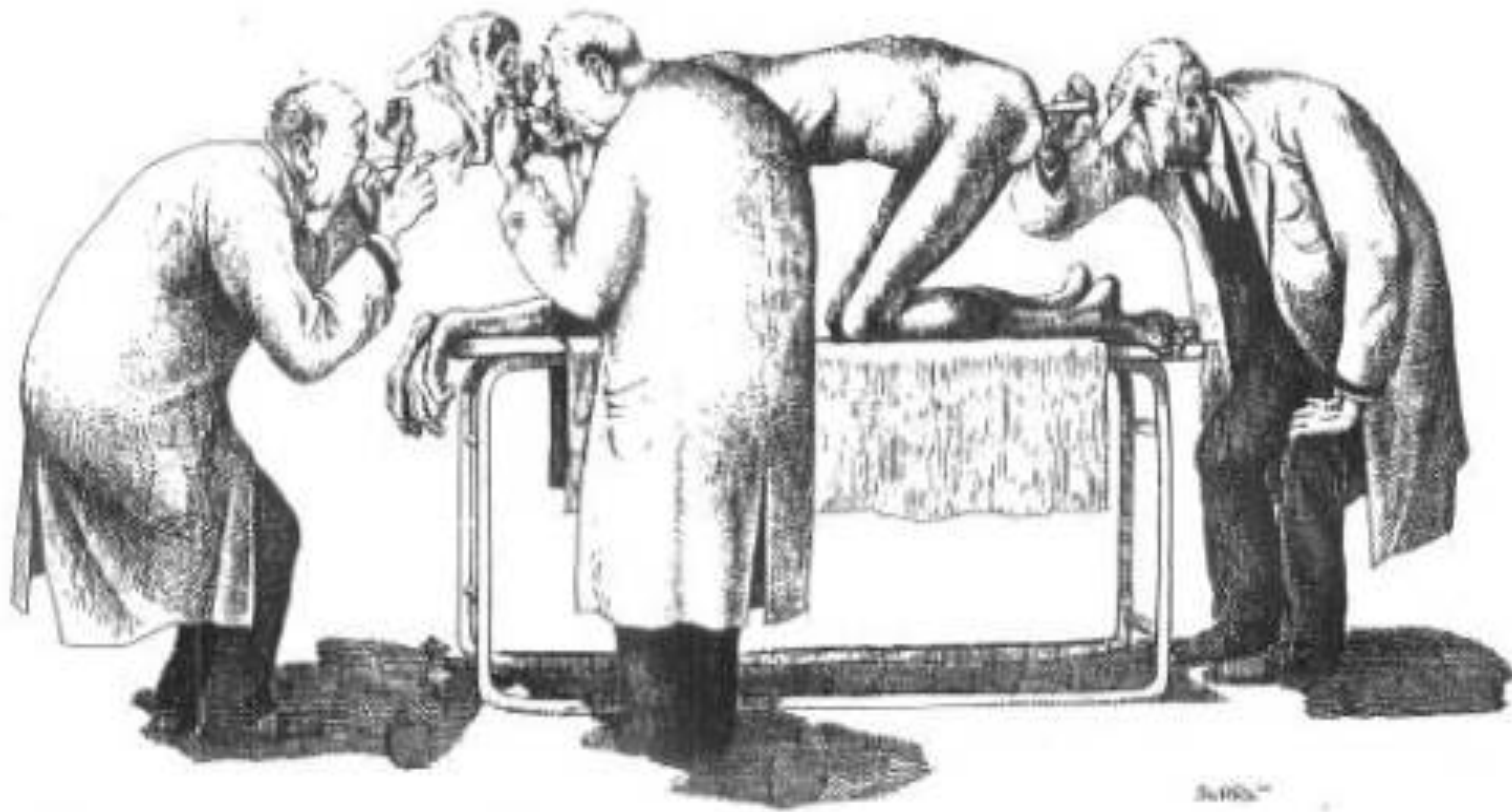
Il Laboratorio



Il Laboratorio



Il Laboratorista



Supporto diagnostico

Laboratorio

Missione dei laboratori

“.....i Servizi di Medicina di Laboratorio

*forniscono **informazioni** ottenute con metodi fisici, chimici o biologici su tessuti o componenti biologiche umane “in vivo” o “in vitro” o su materiali connessi alla patologia umana, ai fini della tutela e promozione della **salute**, della **prevenzione**, della **diagnosi**, della valutazione del decorso della **malattia** e del monitoraggio della **terapia**, anche ai fini della **ricerca** riguardo gli stessi campi; “*

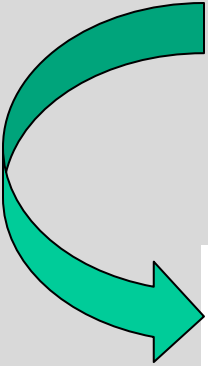
IL LABORATORIO



Nella medicina moderna oltre **l'80% della informazioni sono prodotte nei laboratori d'analisi**. La semeiotica è quindi oggi prevalentemente **strumentale e consiste nella misura di un analita in salute o in patologia**. Il luogo della produzione di questa informazione è il laboratorio d'analisi. Il laboratorio d'analisi fornisce, quindi, attraverso l' esame di campioni biologici, informazioni clinicamente utili per ridurre il margine di incertezza delle decisioni che possono essere prese in relazione a quesiti diagnostici, prognostici o di sorveglianza correlati alla stato di salute

Pathology services lie at the heart of the health care services provided to patients. They are essential to the delivery of many of the national priorities and targets for the NHS. It is estimated that

70-80 per cent of all health care decisions affecting diagnosis or treatment involve a pathology investigation, with individuals' treatment decisions - and the monitoring of their response to treatment - often dependent on a range of pathology-based tests and investigations



Fino ad oggi si parlava di laboratorio di

- Anatomia patologica
- Genetica
- Biochimica Clinica
- Microbiologia e Virologia
- Ematologia ed Emostasi

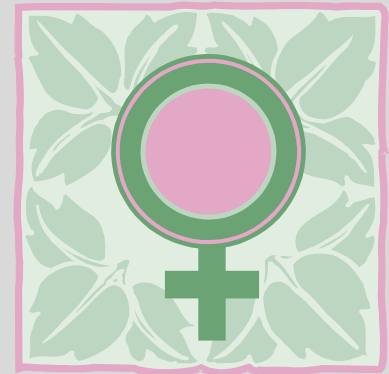
Anatomia Patologica

- Citologia
- Istologia



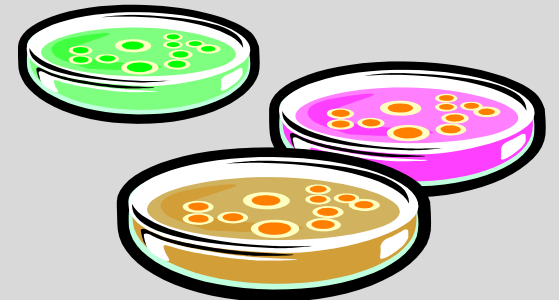
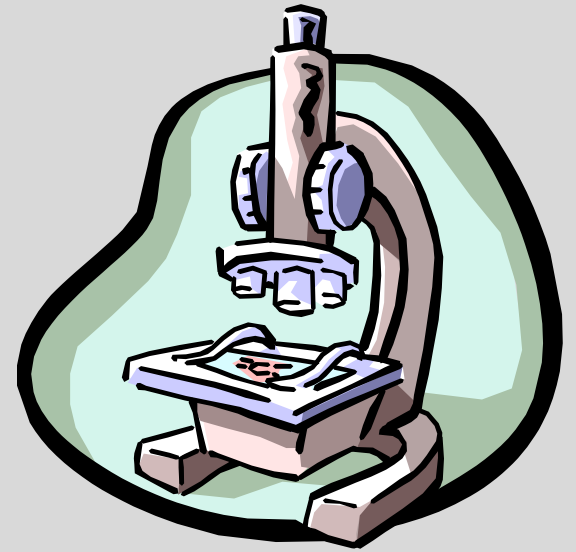
Genetica medica

- Citogenetica (diagnosi prenatale, ecc.)
- Genetica molecolare



Microbiologia e Virologia

- Batteriologia
- Micologia
- Parassitologia
- Virologia
- Sierologia



Biochimica clinica



- Chimica clinica
- Immunometria
 - Endocrinologia
 - Marcatori tumorali
- Elettroforesi
- Allergologia
- Urine
- ecc



Oggi il *Laboratorio analisi
biochimico cliniche* ha assunto il
nome di

Laboratorio di **PATOLOGIA CLINICA**

e può contenere anche la
Microbiologia



I parametri biochimici

BIOCHIMICA - Chimico clinica, Immunologia:

*substrati, enzimi, proteine, ormoni, marcatori oncologici
immunologia, vitamine, xenobiotici, biologia molecolare*

EMATOLOGIA - Ematologia, Coagulazione, immunoematologia

MICROBIOLOGIA - Batteriologia, Virologia, Parassitologia:

*batteriologia, sierologia virale, sierologia batteri e miceti,
antigeni e tossine. parassitologia, micologia, virologia,
batteriologia molecolare*

GENETICA - Citogenetica (FISH - fluorescent in situ hybridization)
- Genetica molecolare

Un laboratorio dell' Ottocento



Da archivio storico NLM-
USA

Phlebotomy



Sample Labeling Efficiencies



Phlebotomy Tray Preparation



Mobile Robot Conveyance



Technologist Distribution

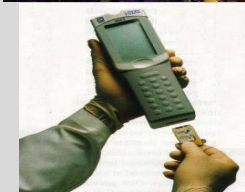


The University of Virginia
Clinical Laboratory
Charlottesville, VA

Gen-Probe, Tigris DTS

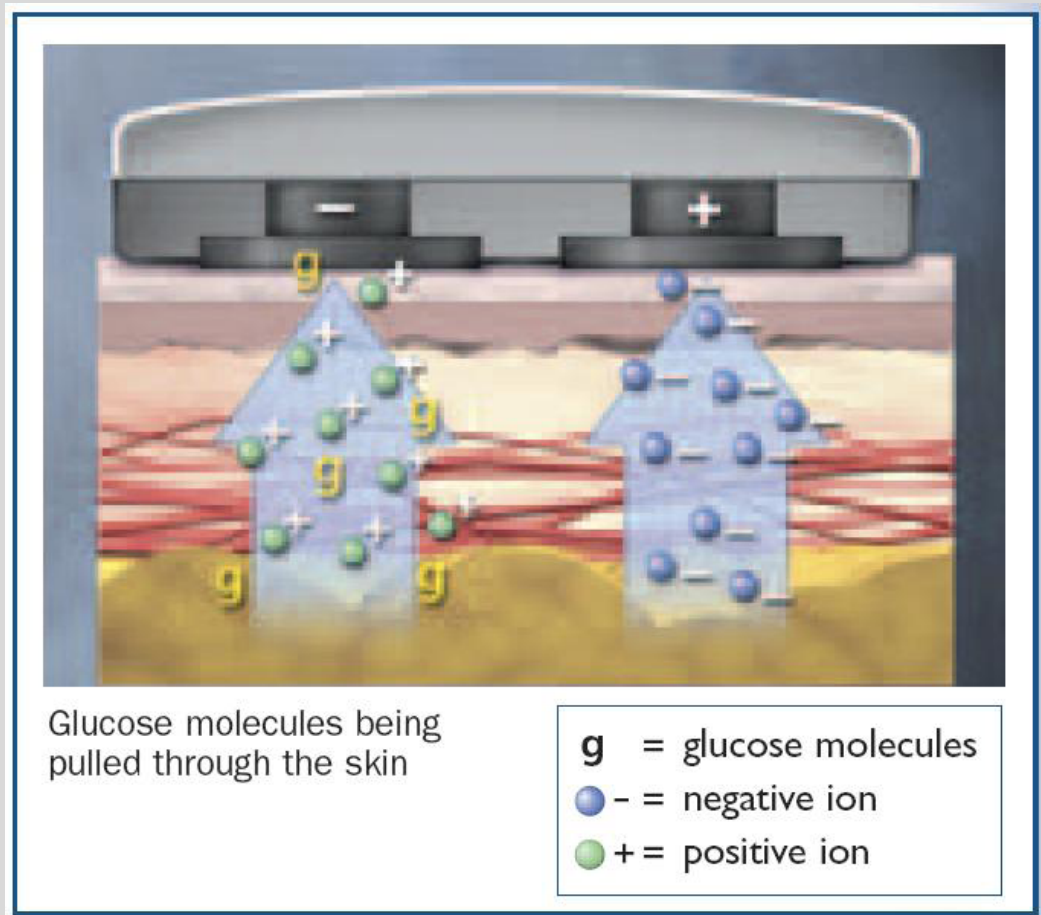
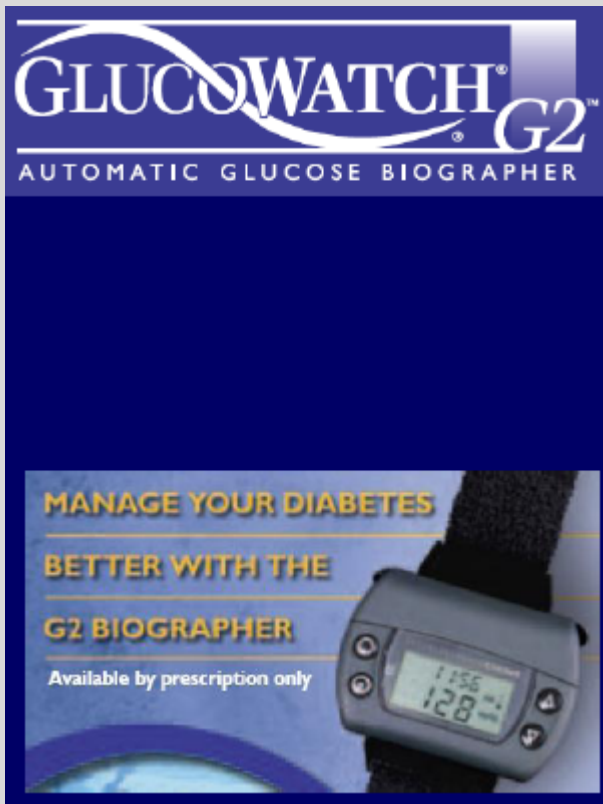


Point of Care and bed side Automation



Anche la tecnologia varia in base alla tipologia del laboratorio



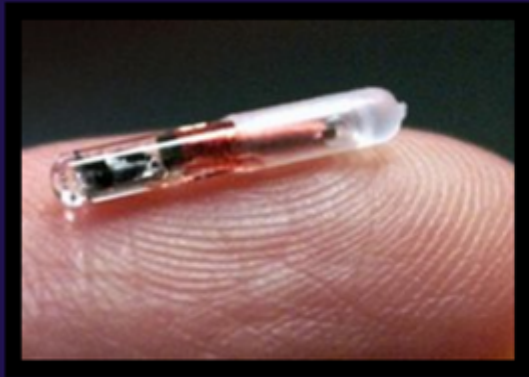


The G2 Biographer attira, raccoglie e misura il glucosio. Una bassa corrente elettrica tira il glucosio attraverso la pelle. Il glucosio si accumula in due dischi di raccolta gel -- AutoSensor. L'AutoSensor misura il glucosio e una lettura viene visualizzata dal G2 Biographer

lo sviluppo tecnologico ... e di questo che ne pensate?

venerdì 22 marzo 2013

MICROCHIP SOTTOPELLE PER LE ANALISI DEL SANGUE: L'ULTIMO SEDUCENTE TENTATIVO PER IMPIANTARCELO

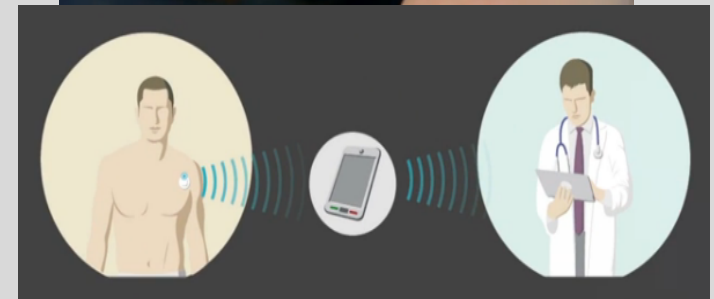
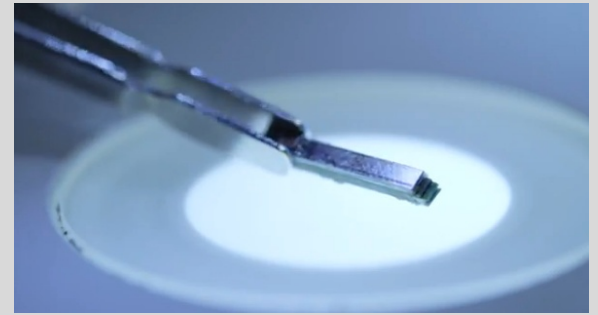


Prima o poi, che ci piaccia o no, troveranno le giuste motivazioni per convincerci a farci impiantare un chip RFID nel nostro corpo. Ce lo hanno proposto per motivi di sicurezza, praticità, divertimento, educazione, ecc... Questa volta toccano le corde della salute. Un gruppo di ricercatori guidati da Giovanni de Micheli e Sandro Carrara

presso il Politecnico Federale di Losanna in Svizzera hanno sviluppato un laboratorio in miniatura, grande pochi millimetri cubi, potrà essere impiantato sotto pelle per fare le analisi del sangue e trasmettere gli esiti direttamente allo smartphone del medico.

Il prototipo, che promette di rivoluzionare monitoraggio e trattamento di pazienti affetti da malattie croniche come quelli sottoposti a chemioterapia, è stato presentato a DATE 13, in Francia.

Il micro-laboratorio è il frutto di un progetto inter-disciplinare chiamato Nano-Tera che ha messo insieme esperti nel campo dell'elettronica, dei computer, della biologia e della medicina presso l'Epfl, l'Istituto di Ricerca di Bellinzona, l'Empa (Laboratori federali di scienze dei materiali e tecnologia) e l'Ethz (l'Istituto federale di tecnologia di Zurigo) in Svizzera.



**Epfl (Istituto di Ricerca di Bellinzona),
Empa, Ethz (Laboratori federali di scienze
dei materiali e tecnologia - Istituto federale
di tecnologia di Zurigo)**

Tipologie di laboratorio di analisi cliniche

	Finalizzato	Personale	Esami	Caratteristiche
Laboratorio di reparto POCT	ad ottenere nel minimo tempo possibile le risposte ad un pannello analitico limitato	Collegato al laboratorio anche se con personale non necessariamente del laboratorio	Point of care test (POCT)	Impianti ad alta tecnologia
Laboratorio Centrale	ad un processo di razionalizzazione ed accorpamento delle strutture definito come "consolidamento"	Tecnico Biologo Medico	Numerose linee analitiche (dalla chimica clinica alla microbiologia , ematologia, immunologia)	Apparecchiature automatizzate ed ampi pannelli analitici Completa informatizzazione dal trattamento dei campioni alla archiviazione delle risposte
Laboratorio specializzato	a gestire linee analitiche dedicate	Tecnico Biologo Medico	Prestazioni di alta specializzazione : citogenetica, virologia, patologia molecolare, etc....	Impianti specializzati

Come già detto: Scopo del laboratorio

Il laboratorio ha il compito di assistere il medico :

- Nella **scoperta della malattia** o della **predisposizione** ad essa (es. neoplasia prostatica o diabete familiarità)
- Nella **conferma dell' ipotesi diagnostica** (es. epatite acuta)
- Nella scelta e nel **monitoraggio della terapia** (es. concentrati diversi di fattori in base ai test, ciclosporina, terapia anticoagulante orale)
- Nella definizione della **prognosi** (es. tipizzazione linfocitaria /TSH)

USO RAZIONALE DEL LABORATORIO

1. CHE COSA VOGLIAMO CONOSCERE
2. COME POSSIAMO AVERE LE INFORMAZIONI
3. COME UTILizzerEMO LE INFORMAZIONI

Motivazioni della richiesta

- **Diagnosi** (ricerca, conferma, esclusione di uno stato fisiopatologico)
- **Gestione del paziente** (valutazione della gravità del quadro, del decorso e della risposta del paziente alla terapia)
- **Ricerca** - studi clinici
- Effetto placebo
- Medicina difensiva



- diagnosi
- stabilire la gravità e la prognosi di una malattia
- monitoraggio del decorso e della risposta terapeutica
- rivelare delle complicazioni
- screening, compreso il rischio occupazionale
- determinazione di un fattore di rischio
- controllo
- epidemiologia
- ricerca
- definire la linea di base o punto di riferimento

Richiesta

Identificazione * dati demografici personali (anagrafica, data ricovero, medico curante...)

* Dati relativi al prelievo

(tipologia del campione, giorno e ora del prelievo....)

Motivazione della richiesta (ipotesi diagnostica, diagnosi d'ingresso, dubbi da dirimere) - moduli

Condizioni del paziente = distanza ultimo pasto, trasfusione, terapie generali ..ora di assunzione

Prestazione richiesta = tariffario regionale

Rapporto tra clinico e laboratorista

Test diagnostici non richiesti dal medico curante

Screening di popolazione di massa

Screening di popolazione mirato

Test diagnostici richiesti dal medico curante

A scopo diagnostico

A scopo di follow up della diagnosi e della terapia

A scopo prognostico



SEMEIOTICA MEDICA

La diagnosi

Per arrivare ad una diagnosi presuntiva o certa occorre effettuare:

- ANAMNESI

Informazioni fisiologiche e patologiche dei familiari e del paziente

(Anamnesi familiare, Anamnesi personale fisiologica, patologica remota e prossima)

-SEMEIOTICA

Manifestazioni e sintomi dello stato patologico del paziente

(Semeiotica fisica: esame obiettivo, ecc.. , **Semeiotica strumentale: esami di laboratorio, di radiologia, ecc..)**

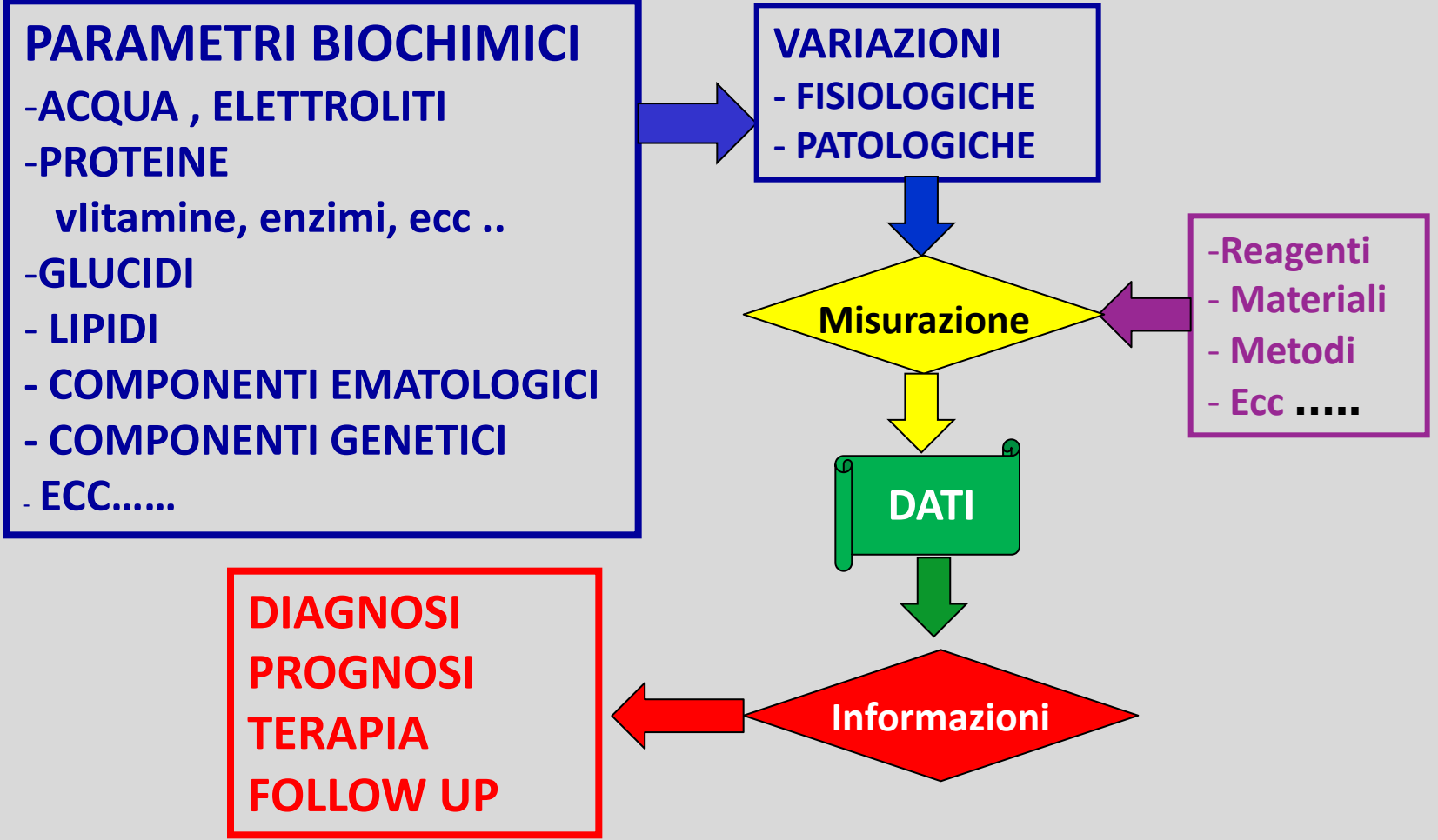
- ETIOLOGIA → PATOGENESI → SINTOMI

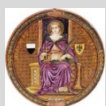
Ricerca delle cause della patologia che con particolari meccanismi genera manifestazioni o fenomeni della malattia.



Le variazioni biochimiche

IL LABORATORIO GENERA INFORMAZIONI DIGNOSTICHE





I test di laboratorio

LE RICHIESTE PIU' FREQUENTI

Area	Cod.	Descrizione		%	% cum.
Ematologia	90622	EMOCROMO: Hb, GR, GB, HCT, PLT, IND. DERIV., F. L.	1	6,70	6,70
Biochimica	90271	GLUCOSIO [S/P/U/dU/La]	2	5,85	12,55
Biochimica	90045	ALANINA AMINOTRANSFERASI (ALT) (GPT) [S/U]	3	4,83	17,38
Biochimica	90092	ASPARTATO AMINOTRANSFERASI (AST) (GOT) [S]	4	4,77	22,15
Biochimica	90443	URINE ESAME CHIMICO FISICO E MICROSCOPICO	5	4,56	26,70
Biochimica	90163	CREATININA [S/U/dU/La]	6	4,27	30,98
Biochimica	90143	COLESTEROLO TOTALE	7	3,87	34,85
Biochimica	90432	TRIGLICERIDI	8	3,55	38,40
Biochimica	90441	UREA [S/P/U/dU]	9	3,37	41,77
Biochimica	90141	COLESTEROLO HDL	10	2,97	44,74
Biochimica	90374	POTASSIO [S/U/dU/(Sg)Er]	11	2,86	47,60
Ematologia	90754	TEMPO DI PROTROMBINA (PT)	12	2,82	50,42
Biochimica	90255	GAMMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASI (gamma GT) [S/U]	13	2,81	53,23
Biochimica	90404	SODIO [S/U/dU/(Sg)Er]	14	2,50	55,72
Biochimica	90435	URATO [S/U/dU]	15	2,04	57,77
Ematologia	90825	VELOCITA' DI SEDIMENTAZIONE DELLE EMAZIE (VES)	16	1,95	59,71
Biochimica	90384	PROTEINE (ELETTROFORESI DELLE) [S]; Incluso: Dosaggio Proteine totali	17	1,91	61,62
Biochimica	90225	FERRO [S]	18	1,47	63,09
Biochimica	90235	FOSFATASI ALCALINA	19	1,43	64,52



Esami di laboratorio e diagnosi clinica

TEST ASPECIFICI

- variazioni di parametri derivati
- variazione di parametri multietologici
- variazione di parametri secondari

TEST SPECIFICI

- variazione di parametri diretti
- variazione di parametri indiretti

TEST RIFLESSI

- variazione di parametri dipendenti
- variazione di parametri collegati
- variazione di parametri analoghi



Esami di laboratorio e diagnosi clinica

- parametri derivati →
- parametri multietnologici →
- parametri secondari →

- *esempio: MCV, MCH, MCHC*
- *esempio: elettroforesi*
- *esempio: VES*

- parametri diretti →
- parametri indiretti →

- *esempio: esame colturale*
- *esempio: immunoglobuline*

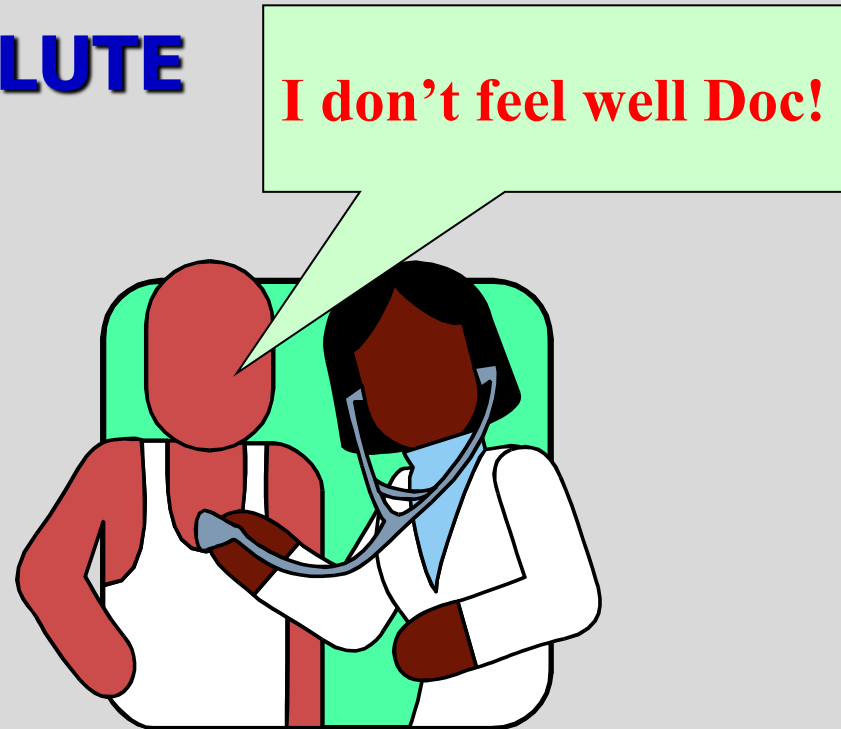
- parametri dipendenti →
- parametri collegati →
- parametri analoghi →

- *esempio: glicosuria*
- *esempio: creatinina → CK*
- *esempio: creatinina → azotemia*



GLI OBIETTIVI DI SALUTE

*dalla parte del
paziente*

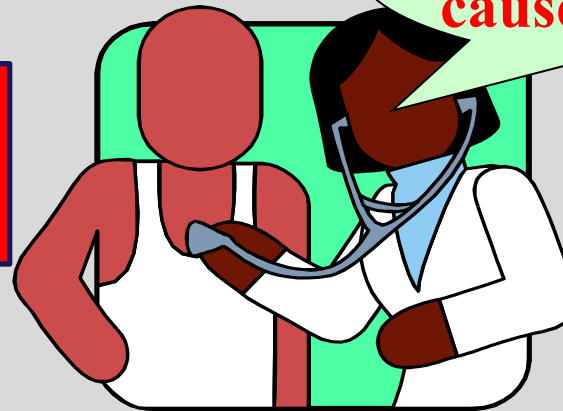


- **Risoluzione del problema clinico segnalato dal paziente**
- **Guarigione dai disturbi presentati**
- **Ripristino e mantenimento dello stato generale di benessere**



GLI OBIETTIVI DI SALUTE

*dalla parte del
medico*



**What is the nature and
cause of his disease?**

- formulare una ipotesi diagnostica;
- accertare la veridicità di tale ipotesi;
- definire un programma di trattamento che tenga conto sia del quadro patologico diagnosticato che del paziente;
- fornire al paziente una valutazione prognostica;
- stabilire le modalità di trattamento e monitoraggio del *follow-up*, se richiesto.



LA PRATICA DEI PARAMETRI DI LABORATORIO

Il dato analitico

L'output analitico deriva da un processo che comprende:

1) LA FASE PREANALITICA

2) LA FASE ANALITICA

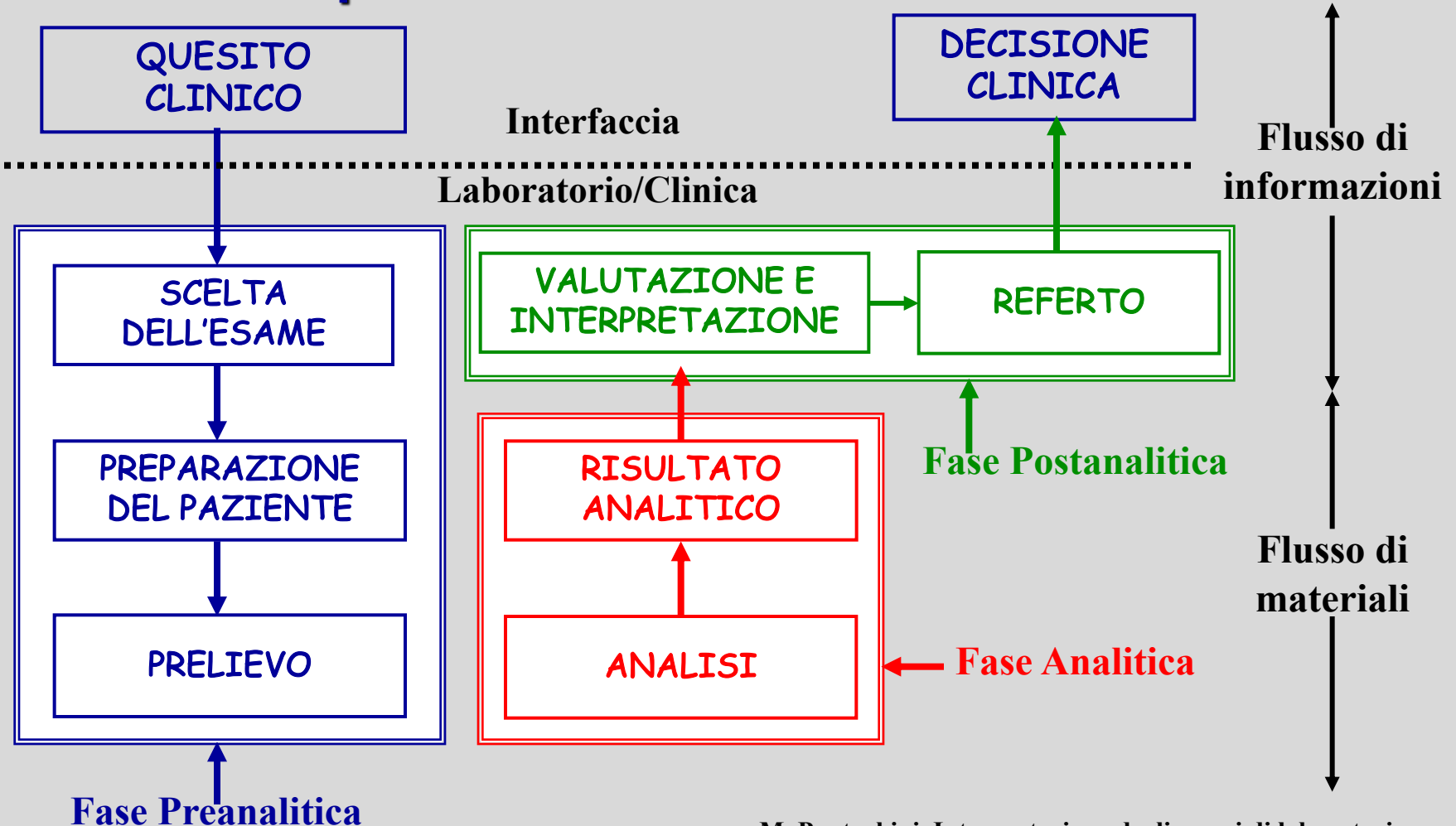
3) LA FASE POSTANALITICA

*Il valore di un dato analitico che non tenga conto della applicazione dell'intero **PROCESSO DI LABORATORIO** non ha significato è spesso è forviante*



IL PROCESSO DI LABORATORIO

dove inizia il processo?





LA PRATICA DEI PARAMETRI DI LABORATORIO

Il dato analitico

OUTPUT: valore quantitativo o qualitativo di un parametro analitico

- l'output concorre a fornire all'outcome.
- l'output da solo può anche rappresentare l'outcome

OUTCOME: rappresenta l'insieme di output e guida la diagnosi

da **TAT (Turnaround time)**

Anni 70 tempo di risposta analitica

Anni 80 tempo di risposta complessivo

Anni 90 tempo di risposta terapeutica

ANNI 2000 TEMPO UTILE PER MIGLIORARE GLI ESITI CLINICI

.... a **TTAT (Therapeutic Turnaround time)**

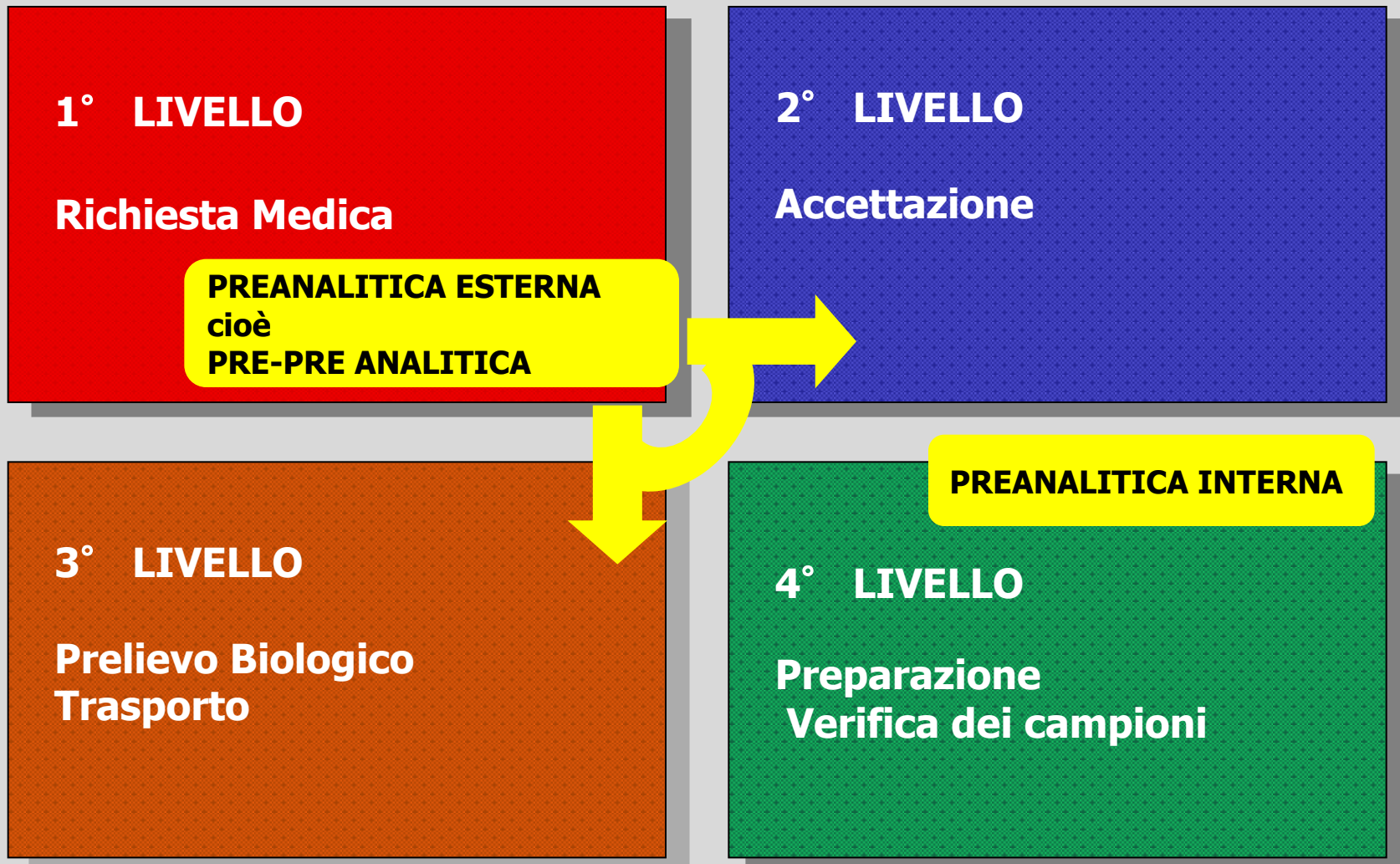


L'esito clinico, dipende dall'outcome e dal TAT. La durata dell'attesa dell'intervento e della decisione terapeutica dipendono dalla organizzazione multidisciplinare:

OUTCOME INTERDISCIPLINARE



IL PROCESSO DI LABORATORIO PREANALITICA

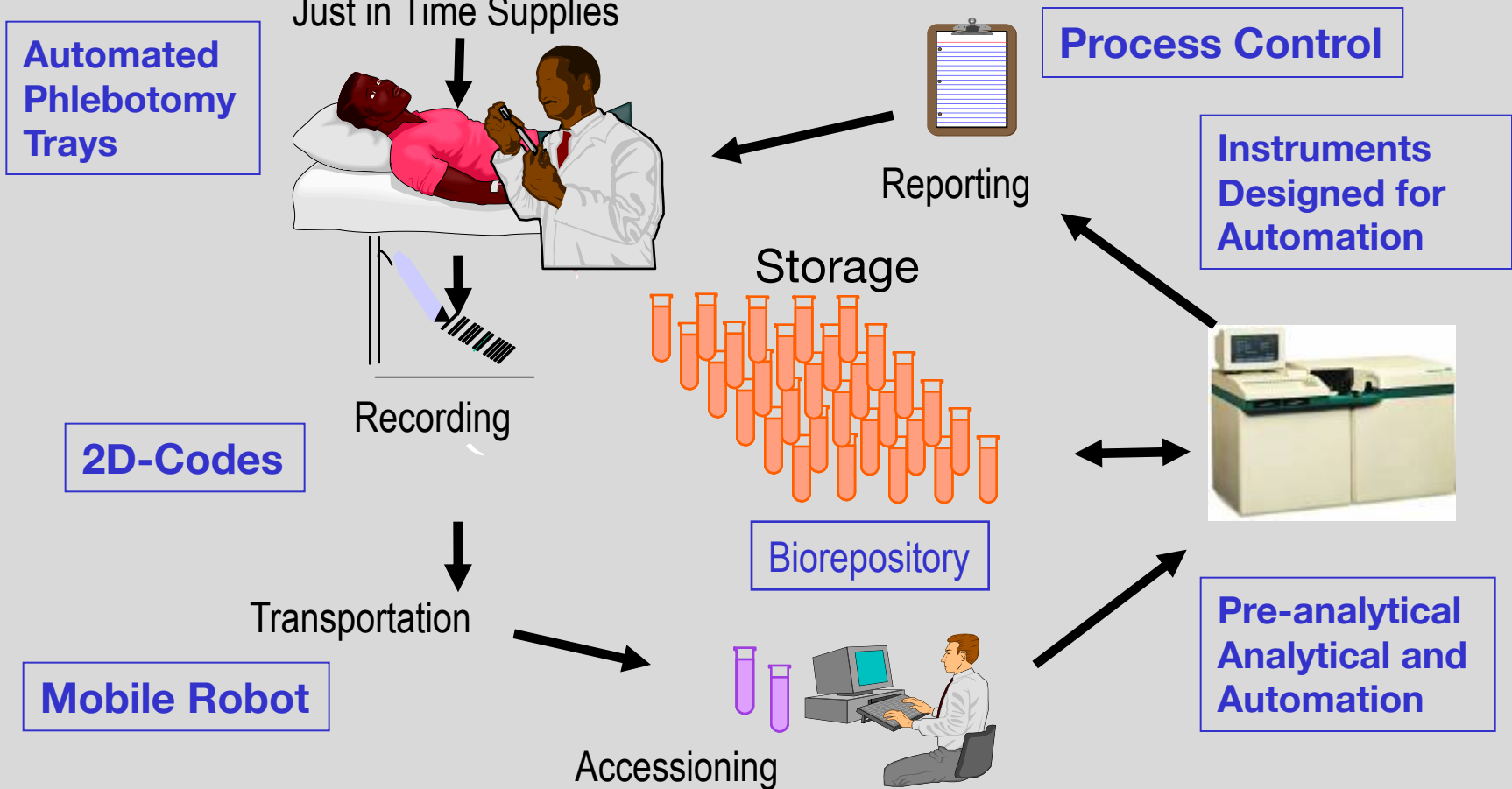




PREANALITICA

le operazioni di laboratorio

Technological Improvements for all 166 Steps in the Diagnostic Process





PREANALITICA





L'errore è inevitabile

...“Evitare errori è un ideale meschino: se non osiamo affrontare problemi che siano così difficili da rendere l'errore quasi inevitabile, non vi sarà allora sviluppo della conoscenza.

In effetti, è dalle nostre teorie più ardite, **incluse quelle che sono erronee**, che noi impariamo di più.

Nessuno può evitare di fare errori la cosa più grande è imparare da essi.”

Popper



PREANALITICA

gli errori nella clinica

Blunders affecting patient results which are within "normal" limits are particularly difficult to detect by both laboratory personnel and clinicians



Mario Plebani, Atlanta 2004

Chief, Department of Laboratory Medicine University Hospital of Padova



PREANALITICA

ERRORI

What points in the process have the highest incidence of errors ?

Bar coding ?
Specimen collection ?
Specimen analysis ?
Result reporting ?

NO

What points in the process have the highest incidence of errors ?

Test richiesti dal medico?
dei risultati dal medico?

Interpretazione
YES

Michael Laposata , Atlanta 2004

Director of Clinical Laboratories Massachusetts General Hospital Pofessor, Harvard Medical School



La Richiesta

Le ISO

15189/2012

INTERNATIONAL STANDARD

ERRORI

3.10 Pre-examination procedures Preanalytical phase

Si inizia, in ordine cronologico da:

la richiesta del clinico

preparazione del paziente

raccolta del campione primario

trasporto al laboratorio

preparazione del campione

e termina quando inizia la procedura analitica



L'Accettazione

ERRORI

ISO 15189/2012

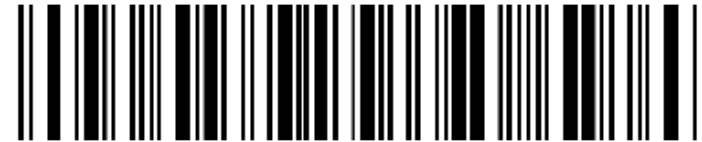


Identificazione del campione

COGNOME NOME

D.N.: **31/05/1977** S: **F** Rep.: **TNCARD**

Sett: **TNBIOC** Lab.Esec.: **TNCH**



5047456305

D.A.: **28/11/2007**

Siero

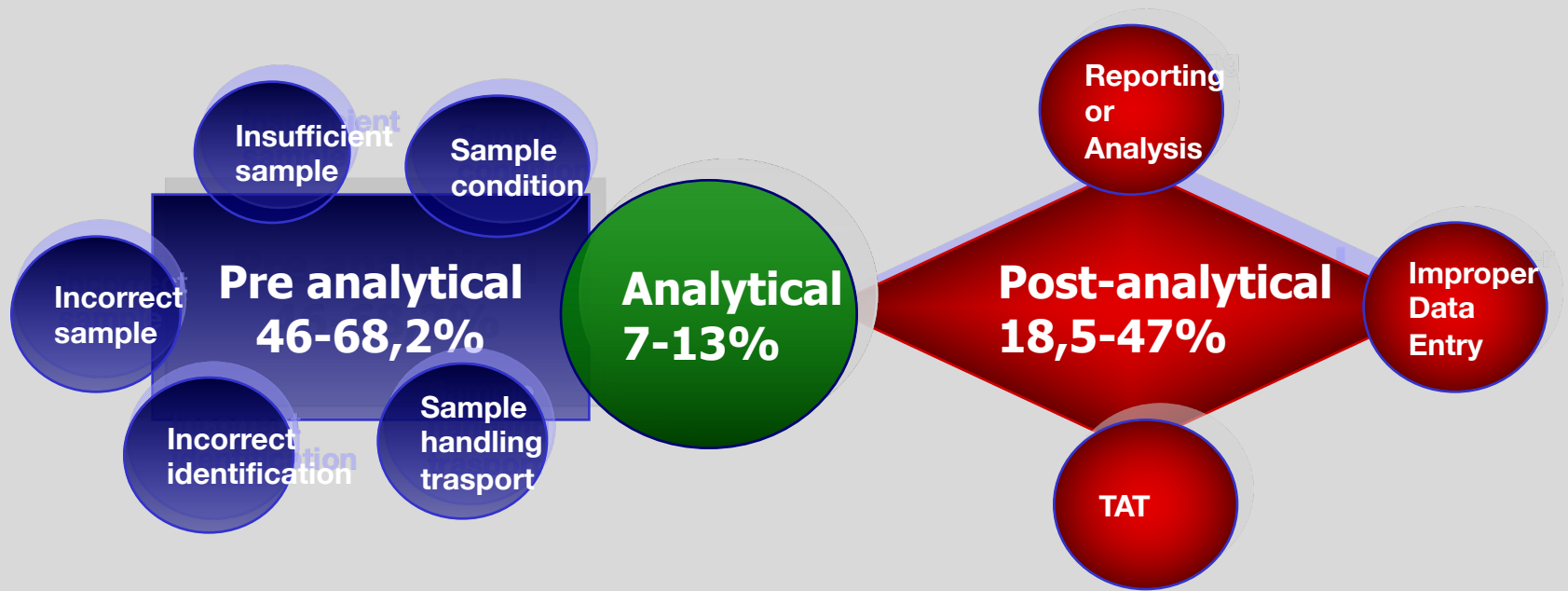
TN-T.Biù alta Biochimica

UREA GLUC

5.4

Pre-examination procedures

5.4.5 Primary samples shall be traceable, normally by request form, to an identified individual. Primary samples lacking proper identification shall not be accepted or processed by the laboratory

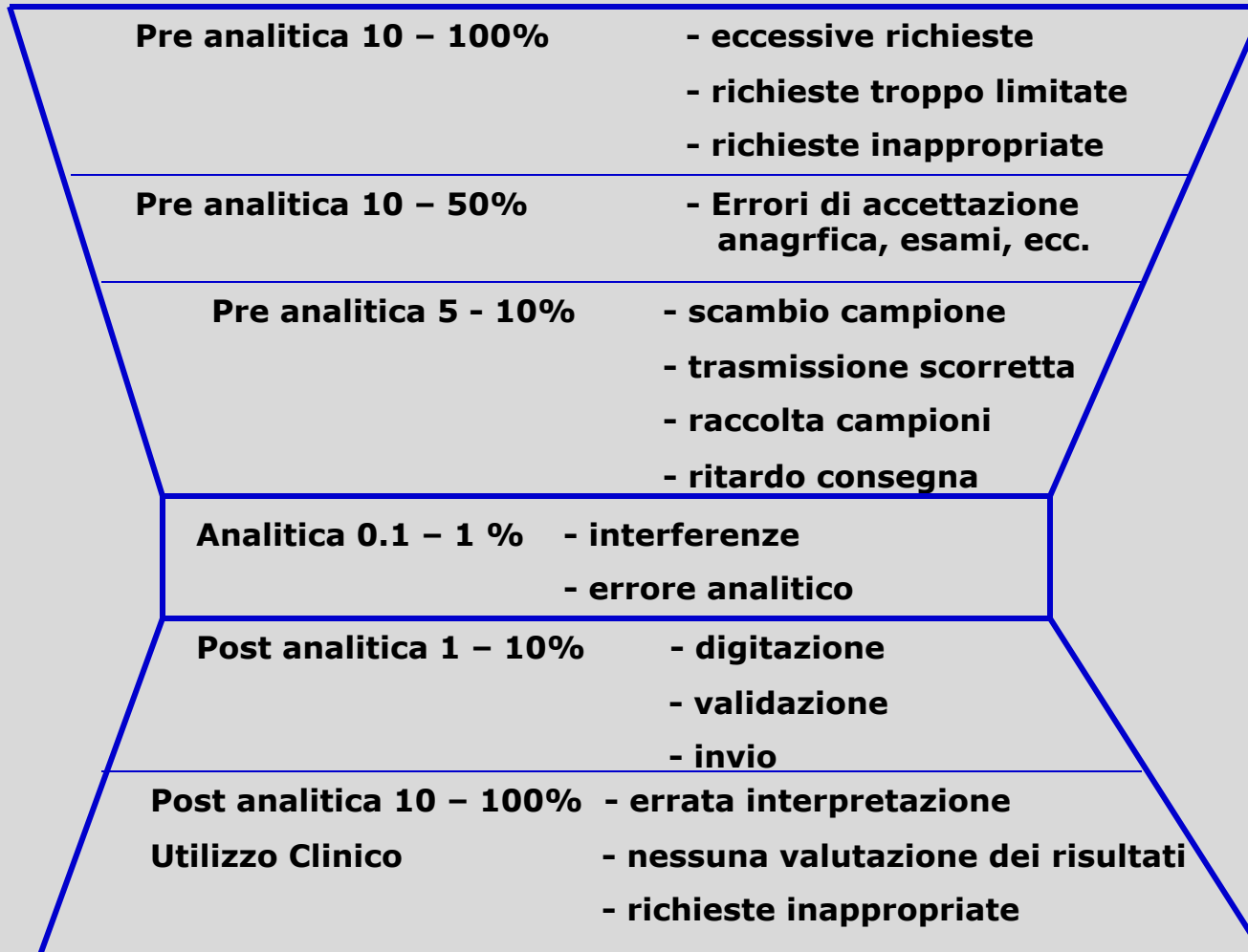


*“..... la maggior parte degli errori avviene molto frequentemente nella **fase pre-analitica (46-68,2%** degli errori totali) e nella **fase post analitica (18,5-47%)**”*



gli errori

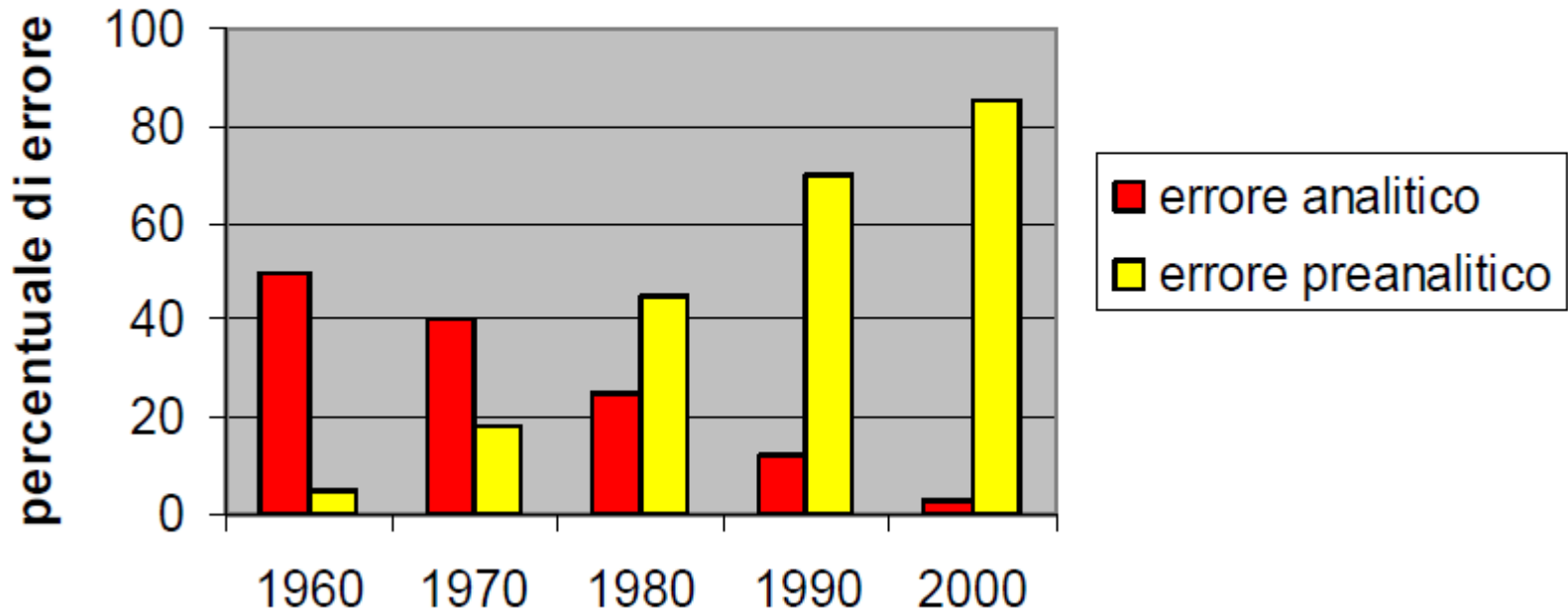
La Clessidra dell'errore in Laboratorio





gli errori

andamento dell'errore in laboratorio



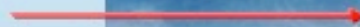


Il Rischio Clinico

Gli errori in Medicina non sono affatto rari

Gli incidenti sono solo la punta di un iceberg, per un incidente che ha avuto luogo ce ne sono molti che non sono avvenuti solo perché l'operatore od un controllo hanno impedito che accadesse, i cosiddetti near miss events. (Nashef, 2003)

Contenzioso



Eventi avversi



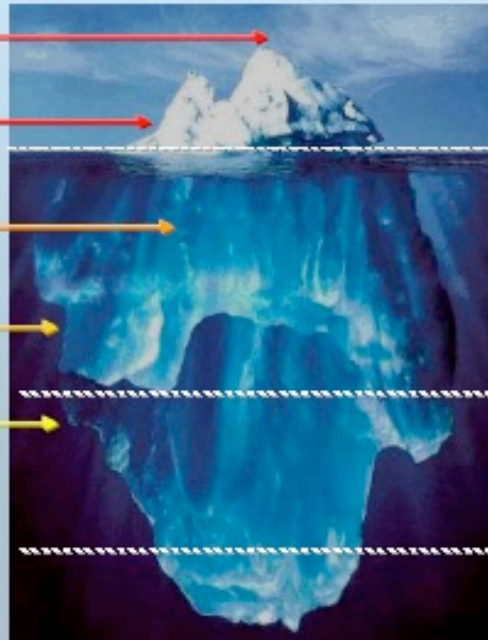
Eventi senza danni



Quasi eventi



Pericoli



Pubblico dominio

Rapporto IOM



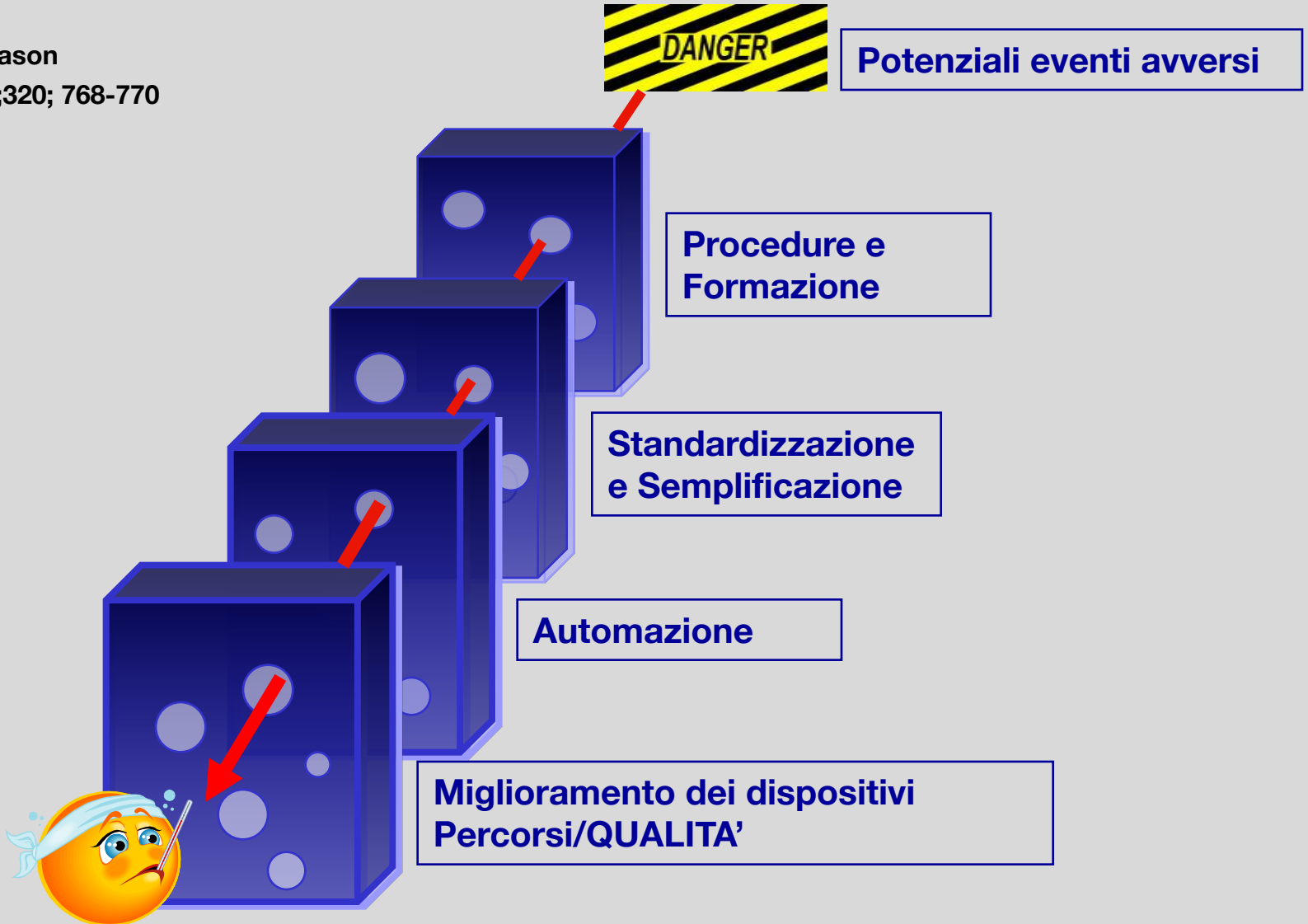
Sconosciuta

Sconosciuta





James Reason
BMJ 2000;320; 768-770





L'Operatore Sanitario

COMPITI DI BASE

- **Conoscenza** dell'influenza che possono avere i **propri comportamenti** (es. ansia) sui parametri che si andranno ad analizzare
- Uno degli obiettivi principali dell' operatore sanitario che andrà ad effettuare il prelievo è **ridurre l'ansia** del paziente, che è uno dei fattori generali di vasocostrizione. Un'atmosfera calma è il requisito più importante per eseguire un buon prelievo
- Un' **atmosfera** frenetica, così come una stanza fredda o mani troppo fredde del personale che effettua il prelievo, possono condurre a vasocostrizione

LE REGOLE SONO PRECISE E RIGOROSE A VARIO GRADO DI FORZA

ESEMPIO

Stati d' ansietà: > albumina, glucosio, lattato, CHOL, fibrinogeno

Stasi venosa: dopo 3 min di applicazione del laccio emostatico > Proteine, Trigliceridi, Colesterolo, Ferro, CK, GOT

Altri errori: Ago di piccolo calibro, Presenza di disinfettante sul sito del prelievo, Prelievo in zone edematose, Violento mescolamento del sangue, provette mal riempite o errate

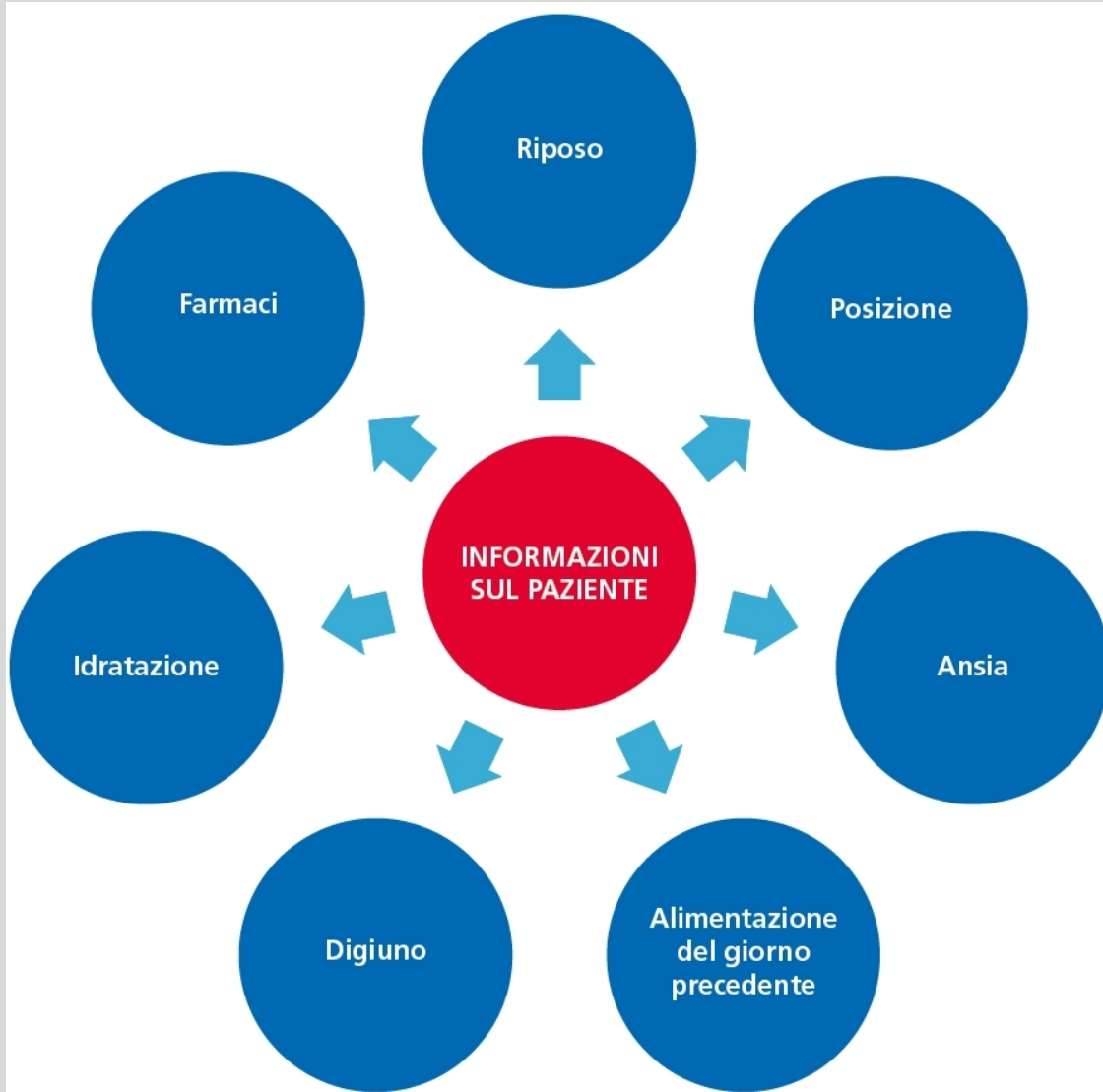


Figura 2 Fattori che possono influenzare l'esito delle analisi.



L'Operatore Sanitario

METODOLOGIA

- **Identificazione del paziente e degli esami richiesti**
- **Tipo e sede del prelievo**
- **Stasi venosa**
- **Materiale utilizzato per il prelievo**
- **Additivi (es anticoagulanti)**
- **Tempo e modalità di conservazione del campione**
- **Trasporto del campione**



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo



Materiale necessario per il prelievo di sangue

- Controllare il materiale



Preparare il materiale

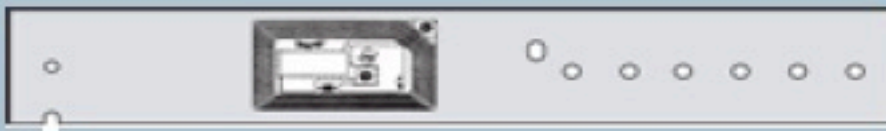
- Compilare in modo completo il foglio di laboratorio
- Iscrizione sulle provette Vacutainer (notare il no del paziente assolutamente prima della presa di sangue)
- Montare l'ago sul supporto



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

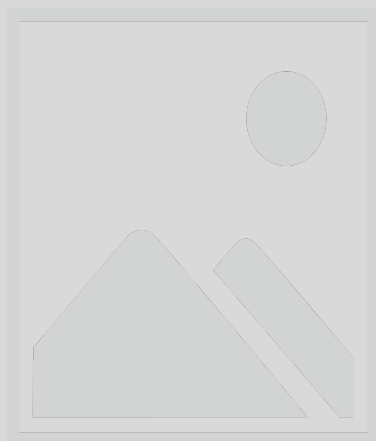
Etichette e provette

Identificazione del paziente mediante braccialetto con Bar-Code o sistema RFID





LA FASE PREANALITICA: Il prelievo



K₃EDTA
EMOCROMO, VES, ECC..



Na CITRATO
COAGULAZIONE, BIOL. MOLEC.



MONIODIO ACETATO
GLICEMIA (conservaz).



GEL SEPARATORE (siero)
CHIMICA, ECC..



HOLDER



**Winged Set for Blood
Collection or Infusion**

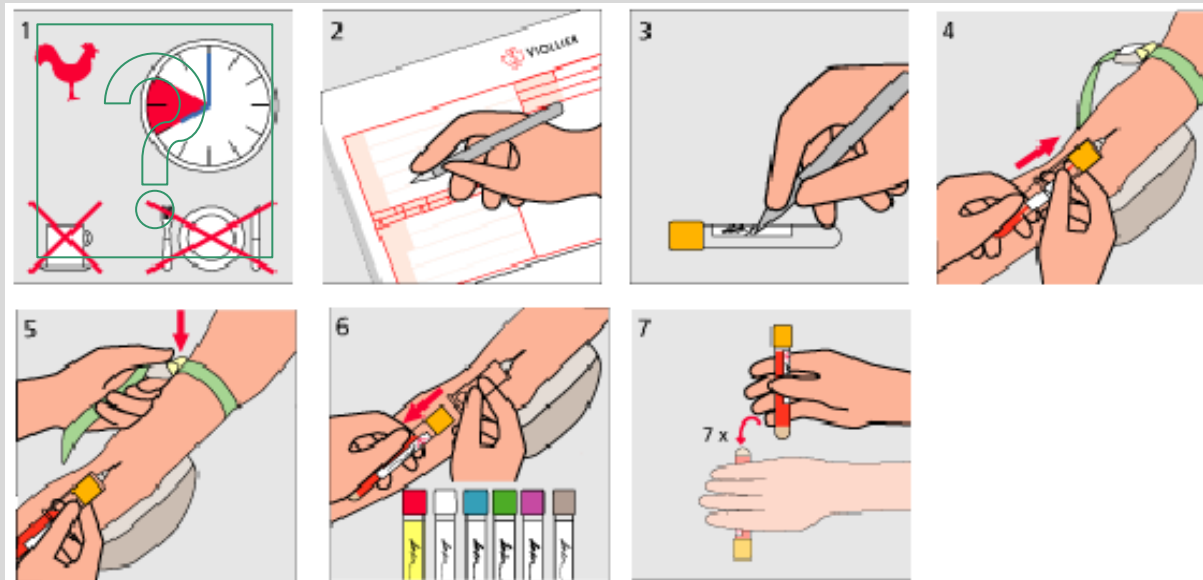
AGHI (gauge - 20 = 0,9 mm)



CODICE A BARRE

LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

LA SEQUENZA



Sequenza di prelievo



1. Provetta siero con gel, giallo-oro (siero)



2. Provetta sterile, rossa (siero)



3. Provetta sieroteca con gel, bianca (siero)



4. Provetta citrato, celeste (plasma)



5. Provetta litio-eparina, verde (plasma)



6. Provetta EDTA, lilla (plasma)



7. Provetta glucosio, grigia (plasma)



Il neonato possiede 80 ml/kg di sangue
in TIN perde, per esami di laboratorio, circa 4-5 ml di sangue al giorno*

*(Rubaltelli F.F. Vademecum neonatologico SEE Firenze, 1999)

PRELIEVO ?



ARTERIOSO



VENOSO



CAPILLARE

Quale utilizzare?



**Dipende dal tipo di indagine
laboratoristica per il quale viene
utilizzato**

Prelievo arterioso

Indispensabile nella determinazione di:

pH

pressioni parziali dei gas ematici

Il prelievo arterioso può sostituire il venoso se quest'ultimo risulta difficile da eseguire.



Prelievo capillare. Cosa è???? Perché????



L'insieme di sangue proveniente da arteriole, piccole vene, capillari e fluido intracellulare e interstiziale



Quando si utilizza il prelievo capillare?

- Possono essere ottenute piccole quantità di sangue senza rischi di anemia
- Il prelievo venoso nei **bambini** può essere difficoltoso e potenzialmente pericoloso
- Le vene superficiali sono o non accessibili o fragili
- Pazienti **obesi** o **ustionati**
- Pazienti con **predisposizione trombotica**



Siti di utilizzo

1. Dita



2. Tallone



3. Lobo





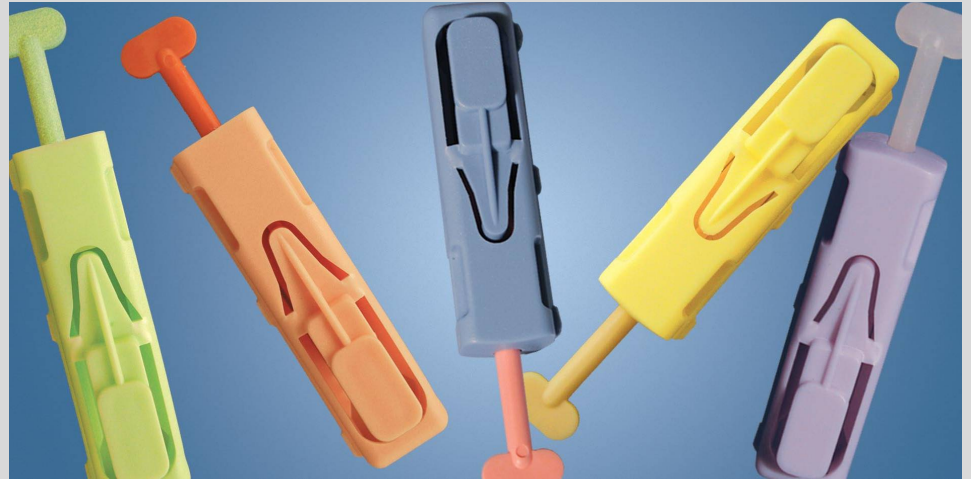
Prelievo capillare

Inconvenienti

- Spremitura eccessiva
- Diluizione con liquido interstiziale:
lancetta tagliente, compressione lontana dal foro,
evitare zone edematose
- Emolisi:
eliminare bolle d'aria, centrifugare e separare il
plasma
- Formazione di coaguli (calamita e ferretto)
- Evitare le zone traumatizzate



Safety Lancet



La Safety Lancet è un sistema progettato per perforare la pelle per la raccolta di sangue capillare per prevenire il rischio di ferite da aghi.

Viene utilizzato nel neonato dove i prelievi ripetuti portano ad una tumefazione del tallone



Safety Lancet

- 1 Option for the heel puncturing (neonatal vers.)
- Colour code

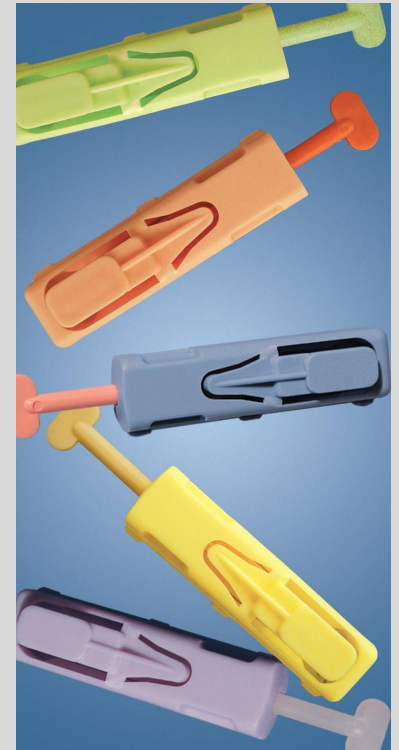
Mini -> 1.8 mm -> needle 26 G (low)

Normal -> 1.8 mm -> needle 21 G (medium)

Extra -> 3.0 mm -> needle 21 G (medium strong)

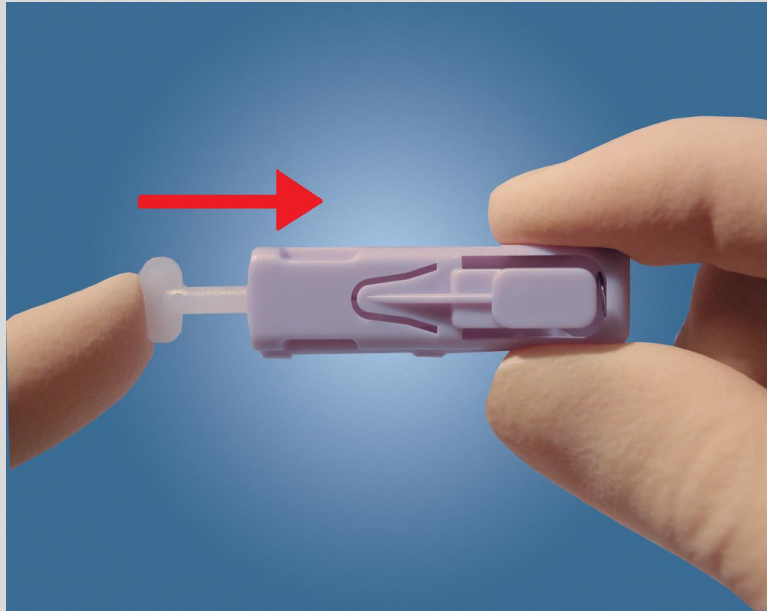
Super -> 3.0 mm -> blade 0.8 mm (strong)

Neonatal -> 1.8 mm -> blade 1.2 mm (medium strong)

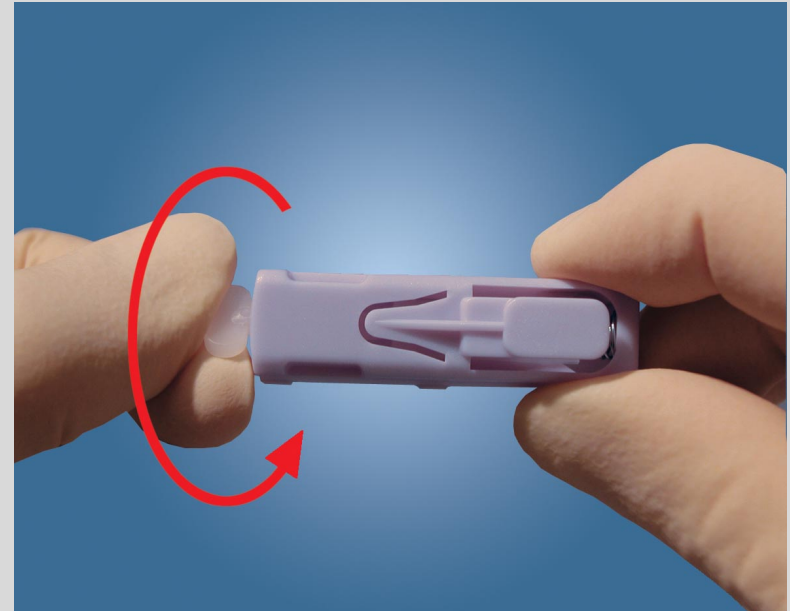




Safety Lancet



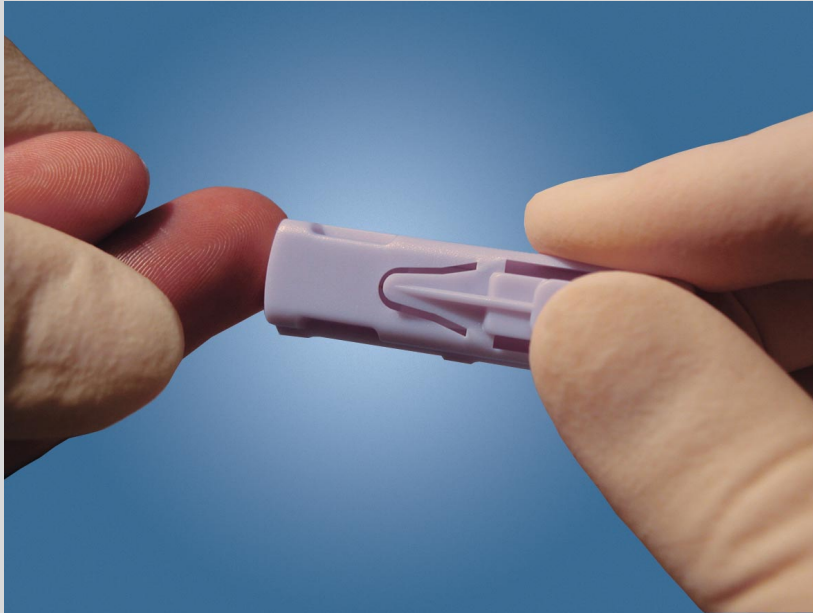
1. Push the lancet cap into the main body of the device until it clicks



2. Twist the cap until it separates from the device



Safety Lancet



3. Press the firing button



4. Collect blood



Raccolta sangue capillare





Scelta materiale di partenza per analisi diverse

La **coagulazione** del sangue consiste in una cascata di attivazioni proteolitiche di specifiche proteasi, che culmina nella trasformazione del fibrinogeno in fibrina

Gli **anticoagulanti** sono sostanze che impediscono tale trasformazione non interferendo però con l'analisi stessa

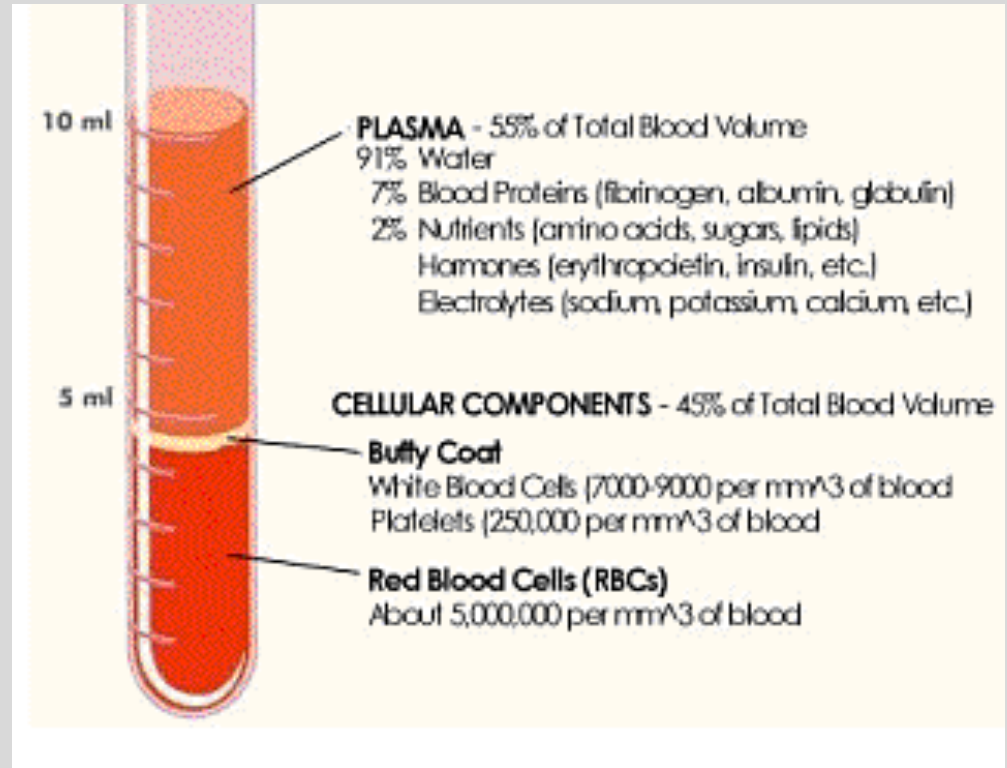
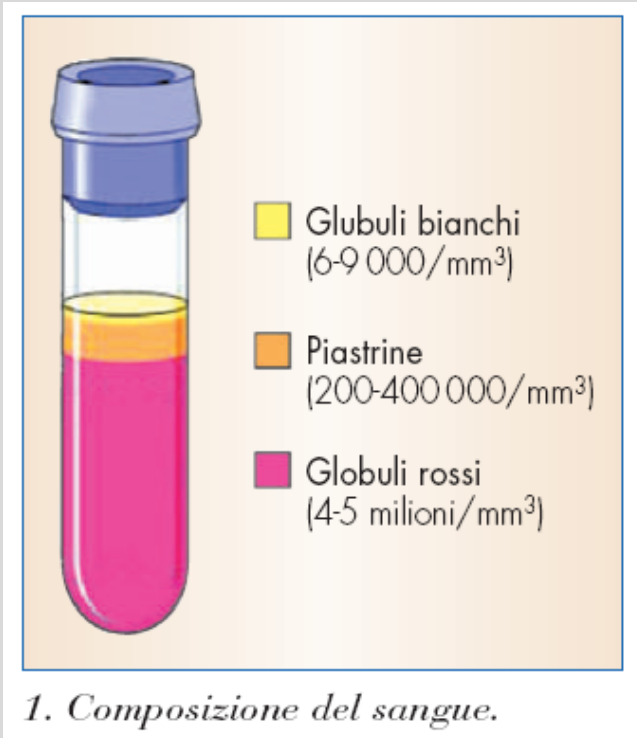
Siero: frazione liquida del sangue dopo centrifugazione di un campione separato dal coagulo

Plasma: frazione liquida del sangue dopo centrifugazione in presenza di un anticoagulante



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

ANTICOAGULANTI



Il non corretto utilizzo degli anticoagulanti è una delle più frequenti cause di errore preanalitico

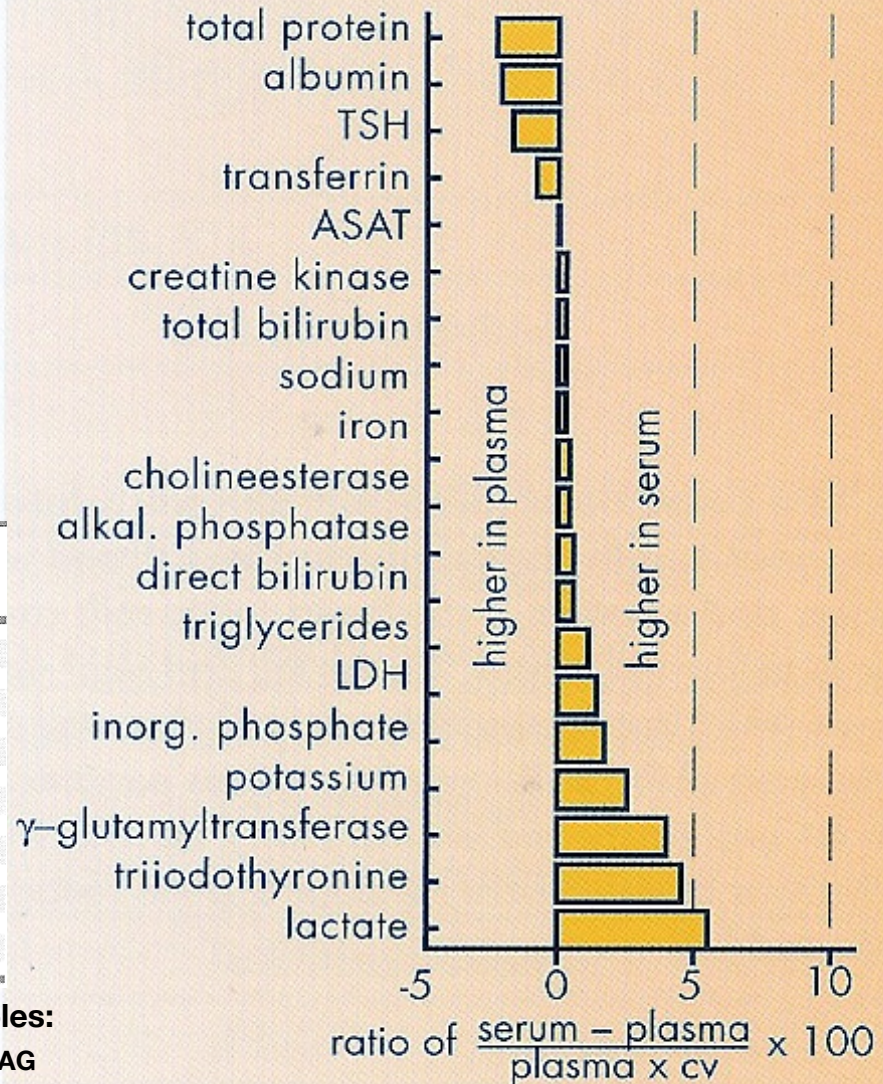


LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

Molti analiti presentano valori diversi di concentrazioni se dosati su plasma o siero

VARIAZIONE SIERO/PLASMA

Analyte	% change in comparison to the mean in plasma	Main cause of the serum/plasma difference
Potassium	+6.2	Lysis of the cells, particularly the platelets*
Inorganic phosphate	+10.7	Release from cellular elements
Total protein	-5.2	Effect of fibrinogen
Ammonia	+38	Thrombocytolysis, hydrolysis of glutamine
Lactate	+22	Release from cellular elements



W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples: Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG



Anticoagulanti impiegati per indagini di laboratorio su sangue periferico

Sostanza chimica	Azione	Concentrazione	Indicazioni	Controindicazioni
EDTA	Chelante Ca	1.0 mg/ml	Emocromo, Morfologia Frazioni Hb	Resistenze osmotiche
Citrato Na	Chelante Ca	0.011 M Sangue/citrato 9:1 / 4:1	Coagulazione funzionalità piastrinica	Studi morfologici Elevata diluizione
Ossalati (Na, K, Li, NH ₄)	Chelante Ca	1-2 mg/ml	Att. emolitiche complemento- dipendenti	Qualsiasi altra indagine
Sali eparina (Li, K, NH ₄)	Cofattore AT III	20 UI/ml	Chim.-clinica Microbiol., resist. Osmot.	Morfologia Elettroliti (Li, K, ...)



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

Citrate

BD Vacutainer® Citrate Tubes with 3.2% buffered sodium citrate solution are used for routine coagulation studies.



TEST DI COAGULAZIONE (1:10)

Tempo di protrombina (PT) via estrinseca e comune

Tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) via intrinseca e comune

Se il rapporto aumenta per diminuito riempimento di sangue della provetta, i valori di PT e aPTT aumentano



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

EDTA

acido etilendiamminotetracetico

BD Vacutainer® spray-coated K₂EDTA Tubes are used for whole blood hematology determinations and immunohematology testing.



FORTISSIMO CHELANTE DEL CALCIO

Lega anche altri cationi divalenti (zinco, magnesio, rame)

Sale di sodio o di potassio

Sia la solubilità sia il pH dell'EDTA dipendono dal tipo di sale

Subiscono variazioni: GR, Neutrofili e Monociti (rigonfiamento, modificazioni struttura nucleare), Piastrine (divengono sferiche, varia MPV)

Può indurre: pseudopiastrinopenie (in vitro), satellitismo piastrinico su leucociti, aggregazione leucociti



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

Sali eparina (Na, K, Li, NH₄)

- Mucopolisaccaride acido PM >6000 Dalton
- Indicazioni principali: tutte le indagini di laboratorio, particolarmente osmolarità eritrocitaria (alto PM non altera Osmolarità plasmatica), misura volume cellulare (non piastrine può indurre aggregazione)
- Controindicazioni: studi morfologici cellule ematiche (intenso colore blu)



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

ALTRI ADDITIVI

INIBIZIONE DELLA DEGRADAZIONE DEL GLUCOSIO

Fluoruro di sodio: enolasi

Iodoacetato di litio: gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi
3 ore per far effetto
efficacia di 3 giorni

Mannosio: esochinasi precoce ma breve durata

INIBIZIONE DELLA AGGREGAZIONE PIASTRINICA

Miscela CPT

Citrato trisodico + piridossalfosfato + trisidrossimetilamminometano

CONSERVAZIONE DEI GLOBULI ROSSI

Soluzioni contenenti destrosio



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

Si raccomanda la sequenza:

A. Provetta per siero senza additivi (sangue intero)



B. Provetta con citrato per coagulazione (plasma)



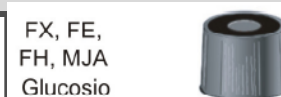
C. Provetta con eparina (plasma)



D. Provetta con EDTA per emocromo (plasma)



E. Eventuali altre provette



Se si preleva con butterfly in sistema sotto vuoto, per le provette di coagulazione, se il tubicino del butterfly non è pieno di sangue, si rischia di sbagliare il rapporto di diluizione sangue/soluzione di citrato.



LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

Miscelazione delle provette

Il numero suggerito di inversioni della provetta si conforma agli standard NCCLS H3-A5.

La miscelazione insufficiente o la miscelazione in ritardo delle provette sottovuoto può provocare la coagulazione in ritardo. In tubi con gli anticoagulanti, la miscelazione inadeguata può provocare emolisi e/o risultato della prova errata. Contare solamente sulla forza di flusso di sangue durante il prelievo è insufficiente per realizzare una miscelazione soddisfacente.

Agitare **DOLCEMENTE** la provetta a sinistra e destra e riposizionarlo in posizione dritta.



Questa è un'inversione completa.

NON SHAKERARE le provette. La miscelazione vigorosa può causare schiuma o l'emolisi!

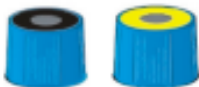
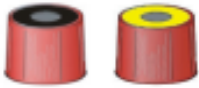
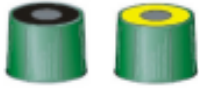







LA FASE PREANALITICA: Il prelievo

Miscelazione delle provette

Il numero di inversioni delle provette dipende:

- dal tipo di anticoagulante
- dal tempo necessario ad interagire coi fattori della coagulazione
- dalle modalità di azione che non alterino la composizione del siero/plasma o degli elementi cellulari

Tipo di provetta		Numero di inversioni
9NC CTAD		4 volte
Siero Siero/Gel		5-10 volte
LH, LH/Gel NH, AH Plasma		5-10 volte
K3E K2E/Gel		8-10 volte
FX, FE, FH, MJA Glucosio		5-10 volte
ACD, CPDA		5-10 volte
Elementi in tracce		5-10 volte
4NC VES		5-10 volte



Gel separativi

- Sono sostanze inerti, gelatinose, con peso specifico intermedio tra quello delle cellule e quello del siero che in seguito a centrifugazione vanno a stratificarsi fra la parte cellulare e quella liquida del campione
- Oltre ai vari gel vengono utilizzate palline di polistirolo rivestite di eparina



Uso gel separativi

Variazione giornaliera (media 12 misurazioni nelle 24 ore)

es: il K in 24 ore > del 4% in presenza di gel e del 20% se non è presente il gel

	Con gel (%)	Senza gel (%)	CV
K	> 4	> 20	0.59
P	> 3.36	> 7.68	0.73
Cre.	> 1.4	> 1.9	2.8
LDH	> 4.32	> 17	2.9
SGOT	> 1.4	> 5.76	1.11
Glu.	< 6.48	< 10	1.24
PT	> 0.5	> 0.72	0.85
Trig.	nessuna	nessuna	1.41
Col.	> 0.7	0.2	0.81
Col. HDL	> 0.48	> 0.48	2.16
Amilasi	> 0.7	0.72	3.39
CK	> 0.7	> 0.92	1.52
Na	> 0.5	nessuna	0.44

	Con gel (%)	Senza gel (%)	CV
Mg	> 3.36	> 1.4	2.18
Ac. urico	> 4.56	> 3.36	1.58
Urea	> 1.2	> 2.88	3.06
GGT	> 1.44	> 0,2	0.94
GPT	< 0.48	< 1.2	3.28
Ca	< 0.24	> 0,024	1.04
Fe	< 0.05	< 0.05	0.83
Bil. tot.	< 0.5	nessuna	3.01
Bil. dir.	> 0.1	> 0.2	7.75
CHE	nessuna	nessuna	0.78
ALP	nessuna	< 0.48	2.13
Cl	> 0.5	nessuna	0.51

(*) Brignani et al.: Relazione VII Congr. Soc. It. Enz. Clinica, 1985

(**) Landneson et al.: Am. J. Clin. Pathol. 62, 1974



Modalità di utilizzo materiale di prelievo



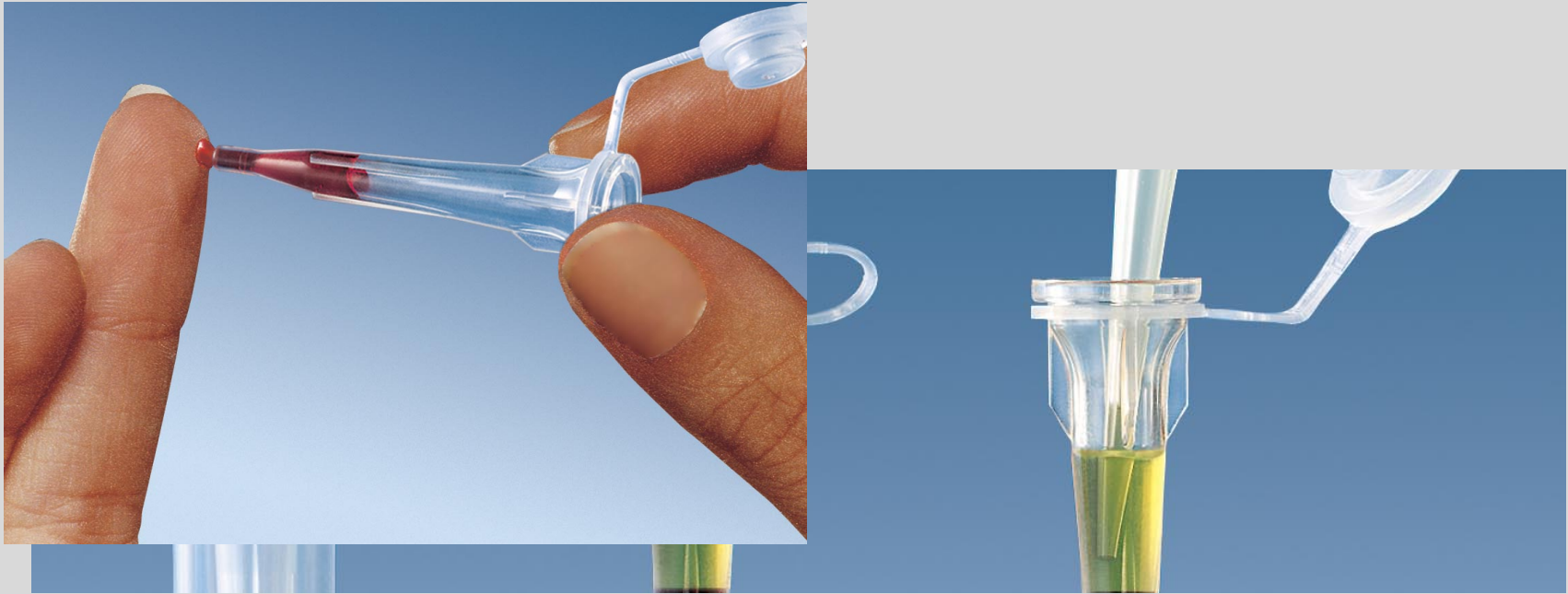


Standardizzazione microprovette

il colore del tappo ha un valore pratico: la provetta viene riconosciuta a colpo d'occhio

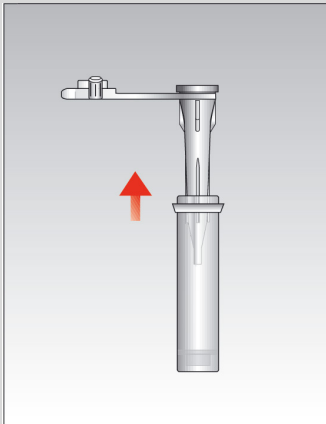
Anticoagulante	Codice colore	Codice colore Vacutainer
Nessuno	Bianco	Rosso
Citrato Na	Giallo	Azzurro/Nero
KF (EDTA)	Rosso	Grigio
K (EDTA)	Verde	Lilla
Monoiodoacetato	Nero	Grigio
Li Eparina	Blu	Verde



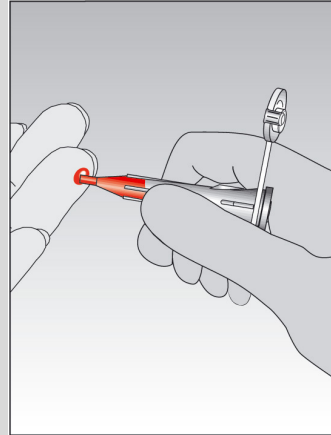


Queste provette contengono 300 μ l di sangue

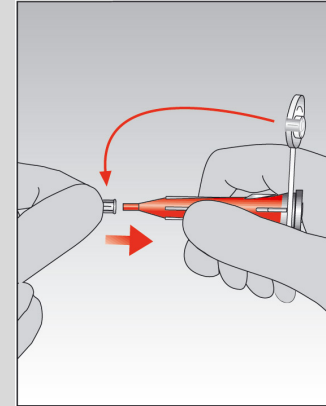
Per un profilo ematico di routine è sufficiente il plasma (o siero) contenuto in due provette



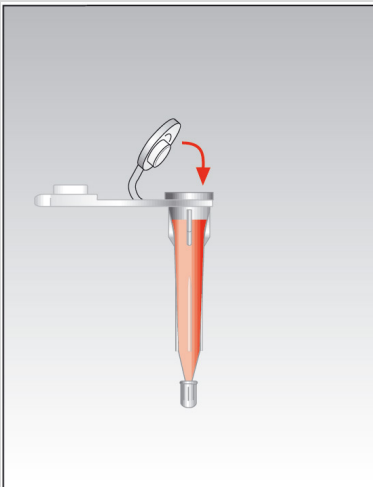
1. Rimuovere la provetta dal contenitore cilindrico



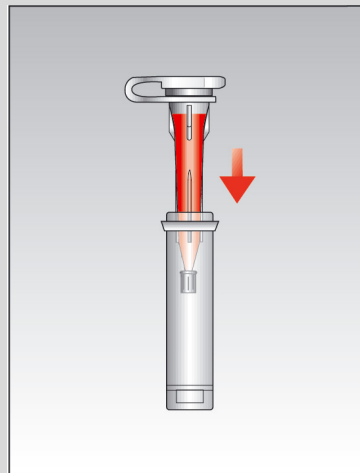
2. Mantenere il capillare in posizione orizzontale o lievemente inclinato e riempire la provetta



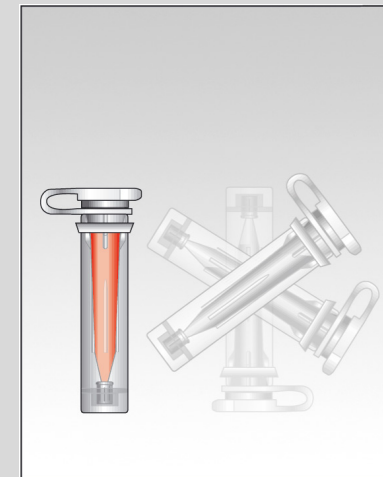
3. Tappare l'apertura inferiore con il tappo più piccolo



4. Chiudere la provetta

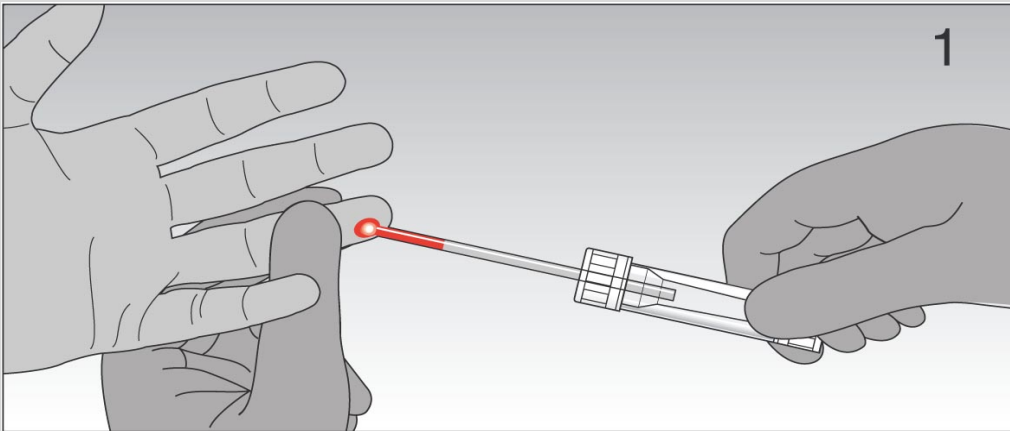


5. Riposizionare la provetta nel contenitore

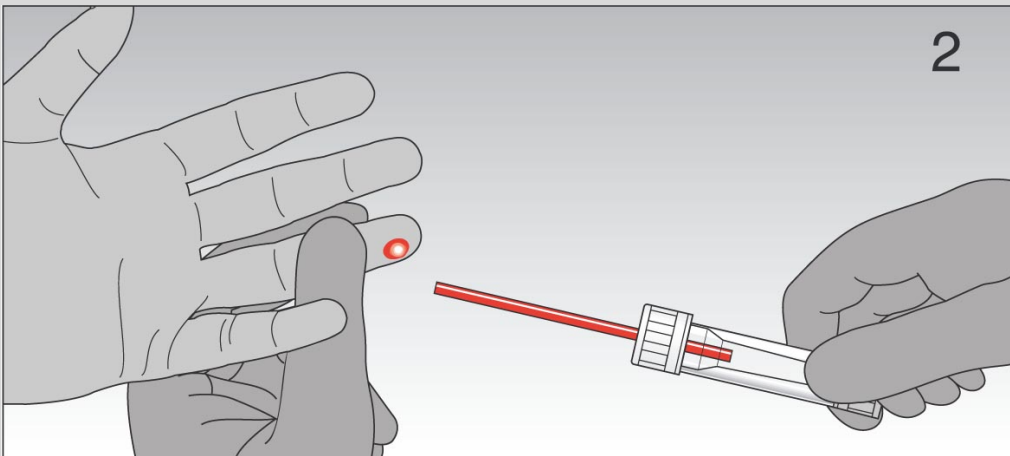




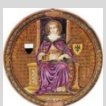
Tecnica di prelievo



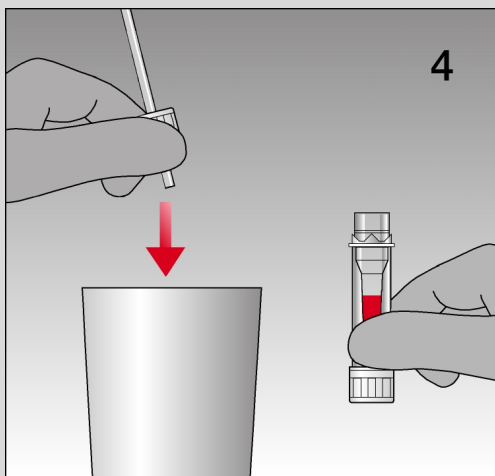
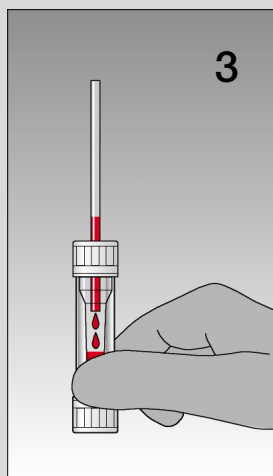
1. **Mantenere il capillare in posizione orizzontale o lievemente inclinato e raccogliere il sangue nel capillare (100 o 200 μ l)**



2. **Il prelievo termina quando il capillare è completamente pieno.**

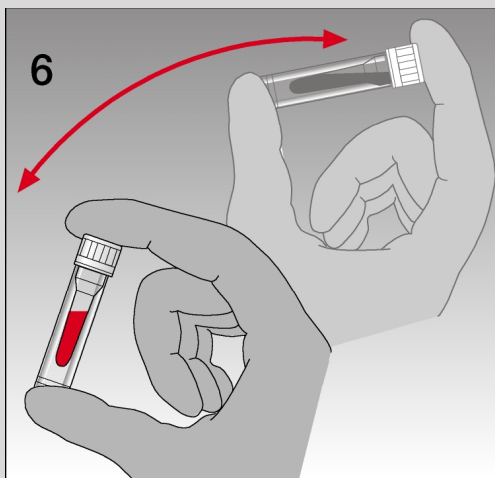
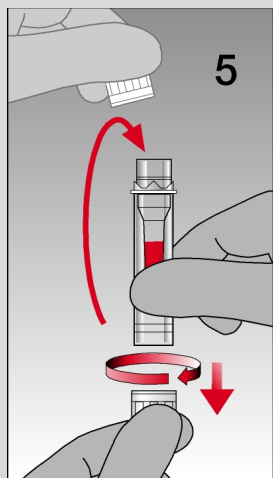


Tecnica di utilizzo



3. Posizionare la provetta in modo che il sangue contenuto nel capillare possa scendere nel contenitore

4. Togliere il tappo con il capillare in esso inserito



5. Togliere il tappo dal fondo della provetta e chiuderla

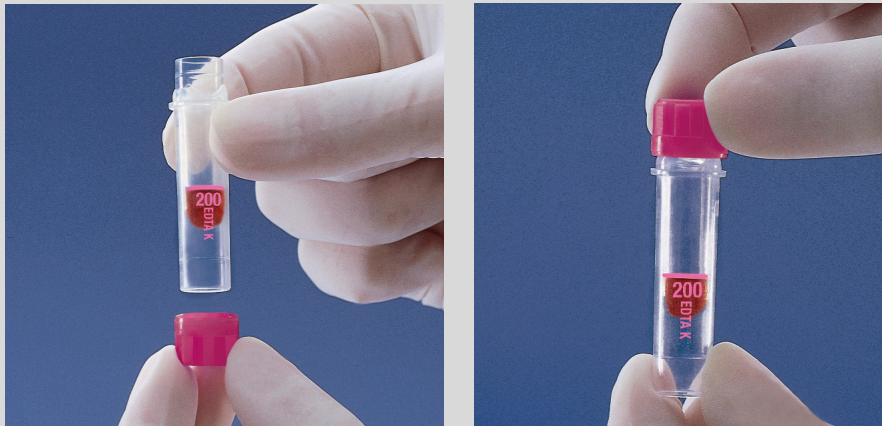
6. Agitare delicatamente



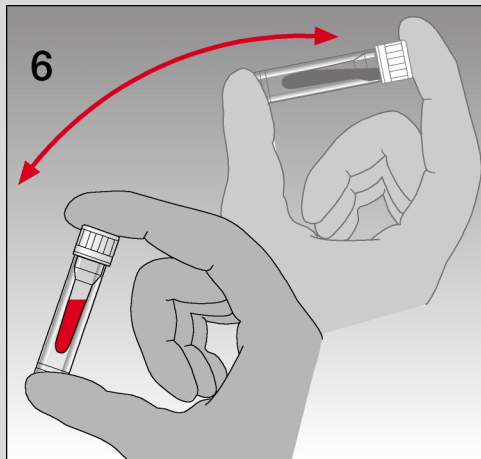
- 1. Svitare il tappo, rimuoverlo dalla provetta e posizionarlo alla base**



- 2. Raccogliere il sangue per gocciolamento usando il bordo della provetta**



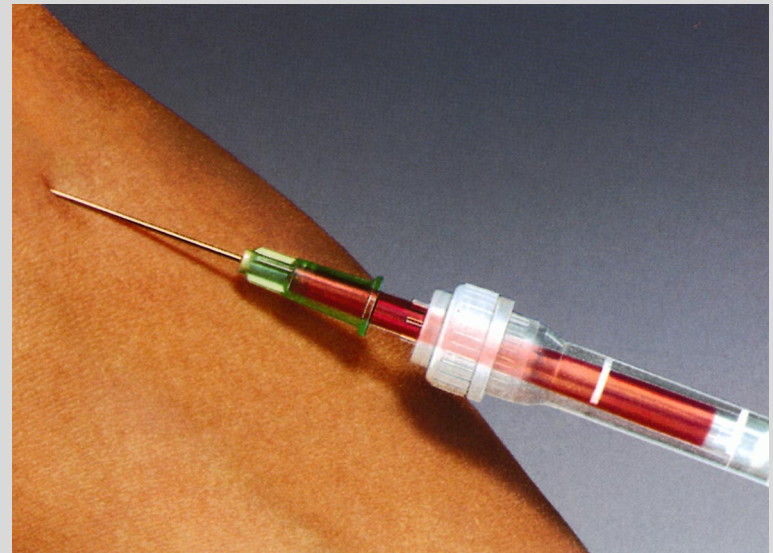
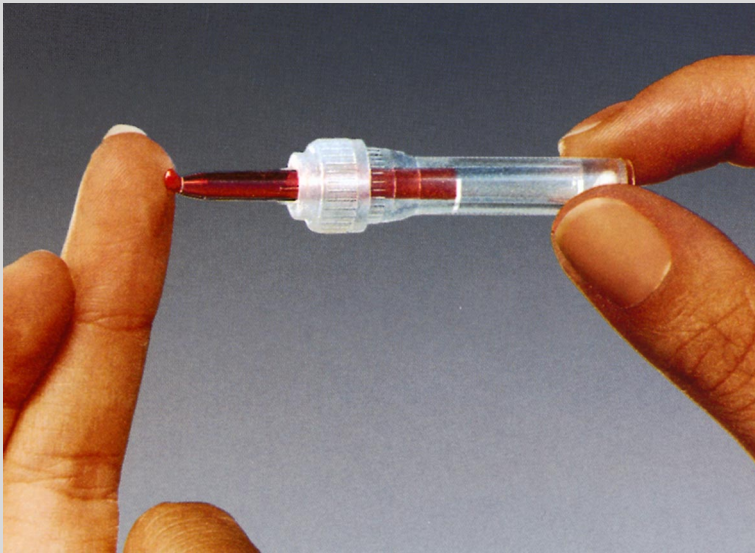
3. Rimuovere il tappo dalla base e chiudere la provetta



4. Agitare leggermente

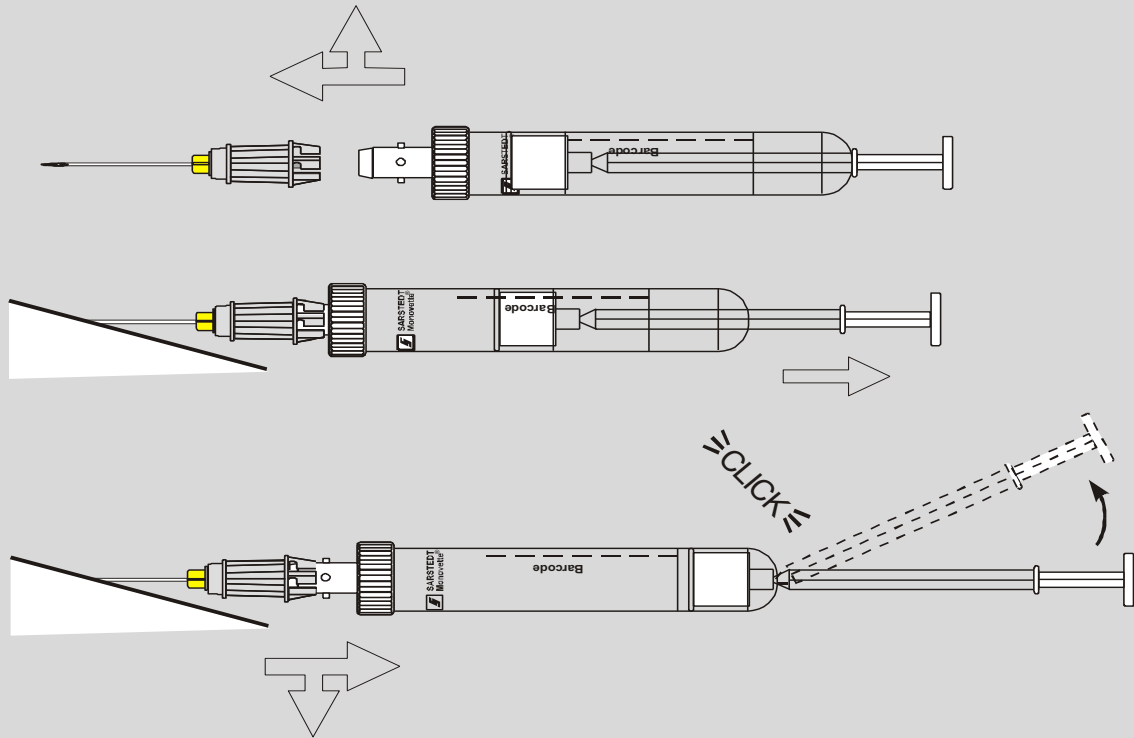
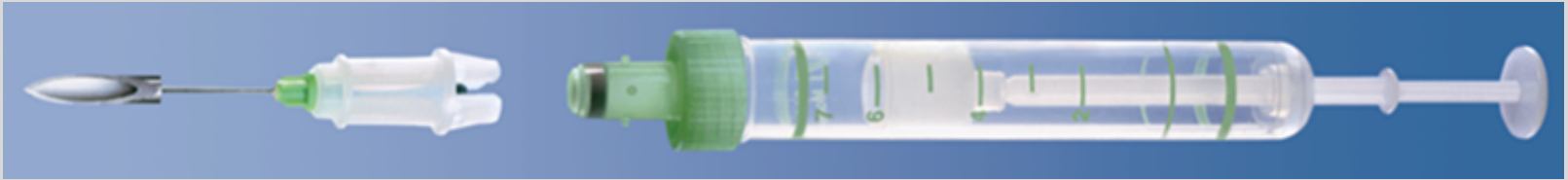


Prelievo capillare e venoso in un unico sistema





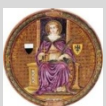
Microprelievo a siringa per coagulazione





Volume di campione richiesto per esami emocromocitometrici

Metodo	Sysmex XE 2100	Abbot CD 4000	Coulter LH 750
Automatico	115 μ l	300 μ l	200 μ l
Manuale chiuso	115 μ l	300 μ l	200 μ l
Manuale aperto	115 μ l	200 μ l	130 μ l
Prediluito	--	50 μ l	40 μ l



Volume di campione richiesto per esami di chimica clinica

Strumento	µl/test	ISE µl/test
Ilab 600 (IL)	2 - 40	24
Vitros 250 (Johnson & Johnson)	10 - 11	--
Konelab 30 (Dasit)	1 - 120	50
Express Plus (Chiron)	3 - 30	--



Volume di campione richiesto per test coagulativi

Strumento	$\mu\text{l}/\text{test}$
ACL 600 (IL)	24
Symex CA 530 (Dasit)	10 - 100



Differenze fra prelievo capillare e venoso per l'emocromo

Parametro	Capillare 1 giorno	Venoso 1 giorno	P	Capillare 14 giorno	Venoso 14 giorno	P
Hb (g/dl)	19.36±2.32	17.06±1.70	0.001	16.89±1.96	15.83±1.83	0.001
Hct (%)	61.17±7.18	54.6±5.68	0.001	47.37±5.68	44.67±5.56	0.001
RBC (x10 ⁶ /μl)	5.59±0.37	4.99±0.69	0.001	4.81±0.55	4.53±0.54	0.001
MCV (fl)	110.22±5.01	110.43±5.97	0.830	98.38±5.08	98.54±4.84	0.164
MCH (pg)	34.9±1.76	34.73±1.49	0.192	35.13±1.88	34.98±1.76	0.126
MCHC (g/dl)	31.68±1.37	31.31±1.20	0.001	35.69±0.92	35.48±0.88	0.030
RDW (%)	18.31±1.84	18.46±1.90	0.093	15.40±1.20	15.43±1.21	0.516
Piastrine (x10 ³ /μl)	168.56±62.9	208.01±78.9 1	0.001	344.8±135. 6	403.1±134.1	0.001
MPV (fl)	8.90±1.10	8.59±0.97	0.001	8.29±0.95	7.83±0.84	0.001



CONCLUSIONI

- Possono esserci variazioni fra dosaggi effettuati su plasma o su siero
- Possiamo trovare variazioni fra dosaggi effettuati su sangue prelevato da capillare o da siringa

per cui

è importante uniformare la tipologia di prelievo

e possibilmente

nel neonato effettuare prelievi capillari



LA VARIABILITA'

- **Biologica**
- **Analitica**



❖ **La Variabilità totale (V_t)** esprime l'incertezza derivata

- dalle caratteristiche del metodo di misura
- dal componente da analizzare
- dal paziente

ed è il risultato dell'interazione tra:

❖ ***Variabilità analitica (V_a)*** esprime il grado di incertezza del risultato di un esame proprio di ogni singola tecnica adottata

❖ ***Variabilità biologica (V_b)*** l'intervallo entro cui vengono a cadere i valori dei parametri biochimici



Variabilità biologica

LA VARIAZIONE DEI PARAMETRI BIOCHIMICI

E' essenziale saper distinguere e valutare la **variabilità biologica** su base **fisiologica**, o **patologica**

I parametri biochimici possono variare

1) *fisiologicamente*

2) *patologicamente*

VARIAZIONI FISILOGICHE

Esempio:

A. *variazioni per sesso*

B. *variazioni per età*

C. *variazioni circadiane*

D. *stato fisiologico (gravidanza, nutrizione, ecc..)*

E. *altro,*



VARIAZIONI FISILOGICHE

- 1- influenze **genetiche**
- 2- influenze **fisiologiche a lungo termine** (età, sesso, ambiente e clima, stato nutrizionale, stile di vita)
- 3- influenze **fisiologiche a breve termine** (cibo, ciclo, fumo, alcol, caffè, veglia, sonno, esercizio, altitudine, idratazione)
- 4- **assunzione di farmaci** e droghe d'abuso
- 5- **fisiopatologia generale** (febbre, shock, trauma, stress, dolore, ansia)



VARIAZIONI FISILOGICHE

1-NEONATI

2-BAMBINI

3-MASCHI ADULTI

4-FEMMINE ADULTE

5-GRAVIDANZA

6-POPOLAZIONE GERIATRICA



VARIAZIONI FISIOLOGICHE

LA VARIABILITA' BIOLOGICA

		CVi	CVg	I (%)	B (%)	ET (%)
P, S-	Aptoglobina	20,4	36,4	10,2	10,4	27,3
S-	Aspartato amminottransferasi (AST)	11,9	17,9	6,0	5,4	15,2
U-	Azoto, escrezione	13,9	24,2	7,0	7,0	18,4
S-	Basofili, conta	28,0	54,8	14,0	15,4	38,5
S-	Beta2-Microglobulina	5,9	15,5	3,0	4,1	9,0
S-	Beta-Carotene	36,0	39,7	18,0	13,4	43,1
S-	Beta-Criptoxantina	36,7	ND	18,4	ND	ND
S-	Beta-Globuline	10,1	9,1	5,1	3,4	11,7
S-	Bicarbonato	4,8	4,7	2,4	1,7	5,6
S-	Bilirubina coniugata	36,8	43,2	18,4	14,2	44,5
S-	Bilirubina totale	25,6	30,5	12,8	10,0	31,1
S-	C Peptide	9,3	13,3	4,7	4,1	11,7
S-	C3 complemento	5,2	15,6	2,6	4,1	8,4
S-	C4 complemento	8,9	33,4	4,5	8,6	16,0
S-	CA 125 antigene	29,2	48,2	14,6	14,1	38,2
S-	CA 15.3 antigene	6,2	62,9	3,1	15,8	20,9
S-	CA 19.9 antigene	16,2	102,0	8,0	25,8	39,0

CVi, variabilità biologica intraindividuale; CVg, variabilità biologica interindividuale; I (%), traguardo di imprecisione (0,5 CVi); B (%), traguardo di inesattezza $[0,25 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2}]$; ET (%), errore totale accettabile $(B + 1,65I)$; ND, non disponibile.



VARIAZIONI FISIOLOGICHE

La variabilità biologica: L' ETA'

Nell' anziano

- **non varia:** escrezione delle proteine, Na, K, Cl, CO₂, pH, Ca tot, proteine totali, enzimi epatici, bilirubina tot, Mg
- **aumenta:** Ca ionizzato, glucosio, insulina, LH, FSH, TSH
Tg, gGT, urea, IgA, LDL, HDL, Cu, LDH5, gastrina
- **diminuisce:** fosfato e testosterone (solo uomini), estriolo, IgM, IgD, (solo donne), androsterone, progesterone, T3 e T4, Zn, Fe, Hb, G.R., leucociti, piastrine



VARIAZIONI FISILOGICHE

Variazioni esterne

Stagione: ormoni tiroidei aumentano d' inverno
vit D aumenta in primavera ed estate

Geografia: poliglobulia da altitudine

Fumo di tabacco: 1-2h aumento: glucosio, ac grassi
cronico: aumento CEA, WB, diminuzione: vitamine, ACE

Farmaci: contraccettivi orali alterazione fattori della coagulazione

Es fisico: aumento CK, disidratazione modifica concentrazione analiti

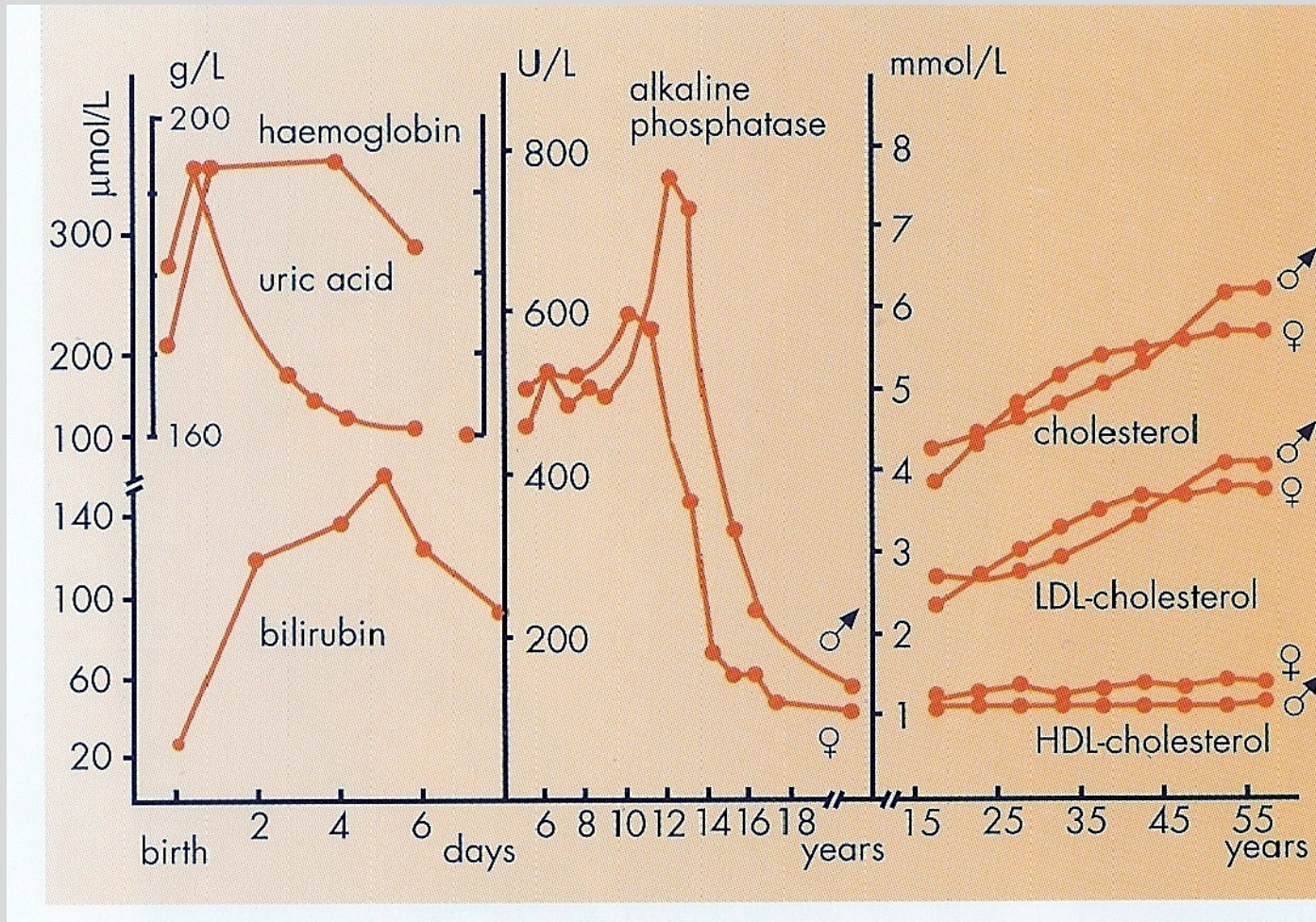
Digiuno: da 24 h **dim** P e K e **aum** Bilirubina e Trigliceridi
da 48 h **dim** CHOL, Trigliceridi, APO, GGT, Urea, Proteine

Pasto: Glucosio (*da valutare*), Trigliceridi (12 ore), Bilirubina e Acidi biliari (6 ore), CHOL (6 ore), Vit B 12 - Ac Folico (6 ore), Ferro (6 ore)



VARIAZIONI FISILOGICHE

ETA'

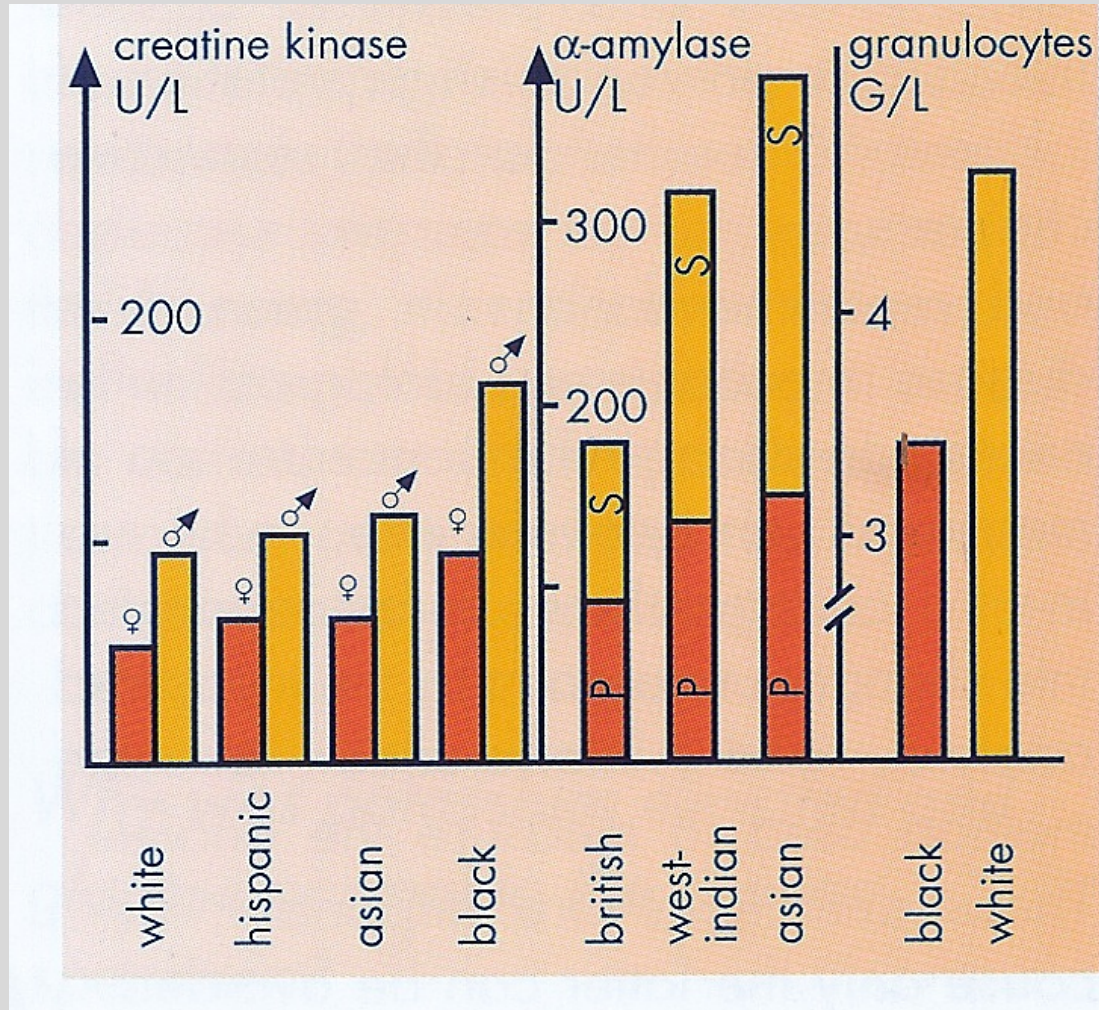


W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG



VARIAZIONI FISILOGICHE

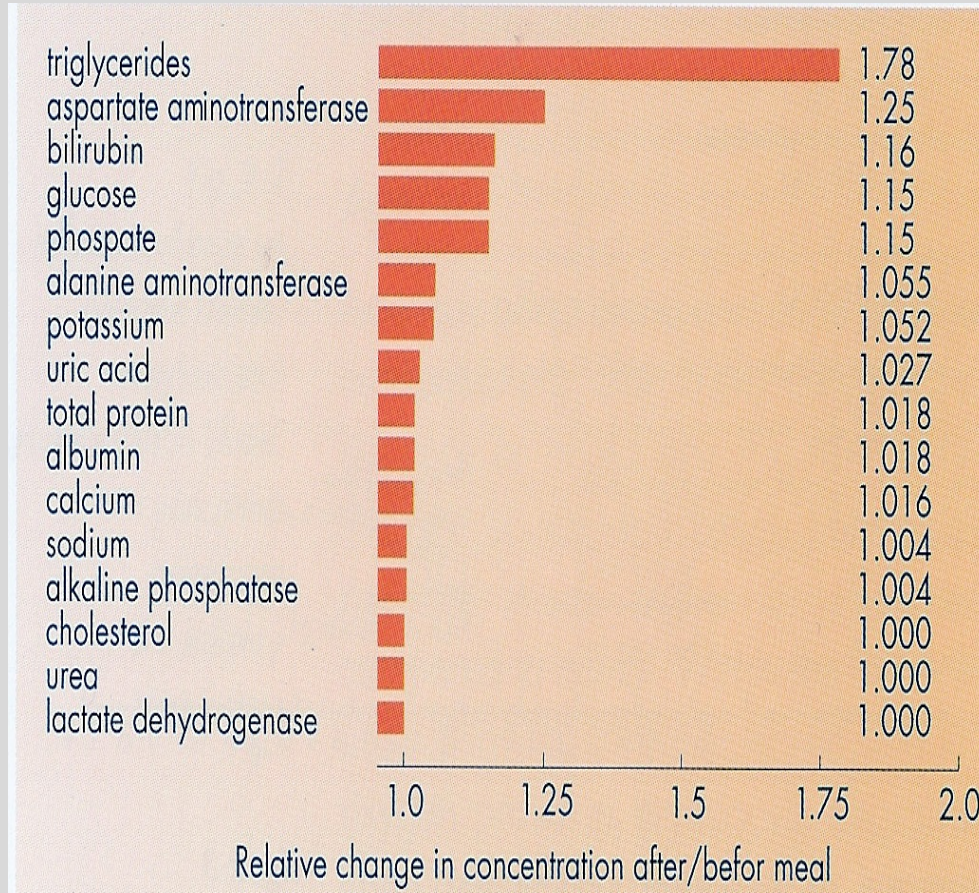
RAZZA



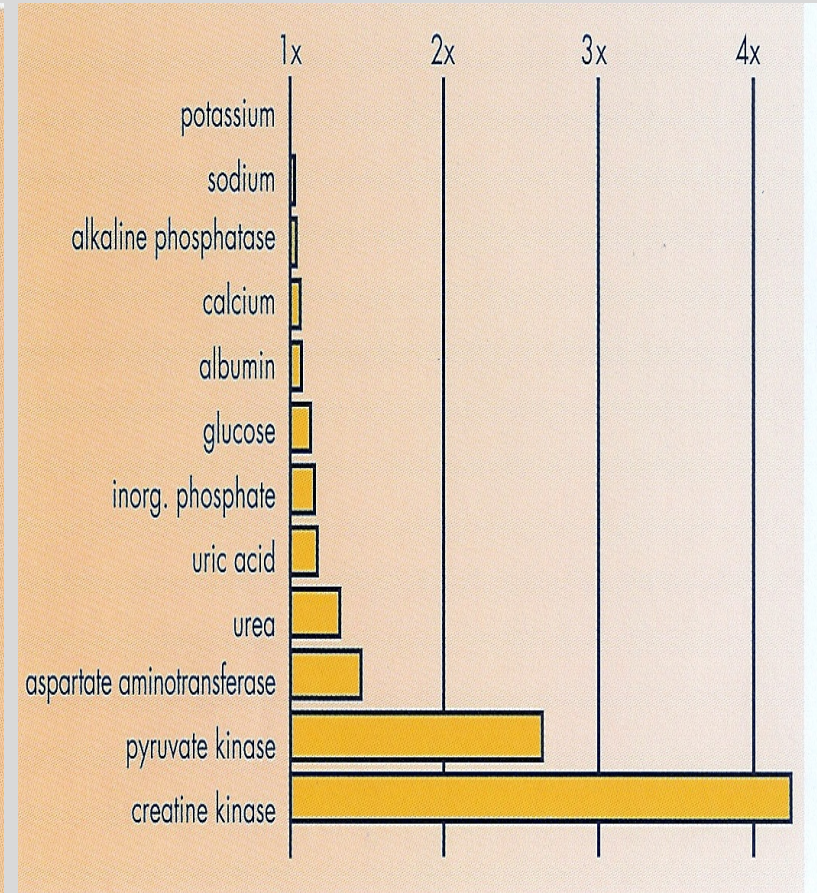
W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG



VARIAZIONI FISIOLOGICHE



Dieta



Sforzo



VARIAZIONI FISIOLOGICHE

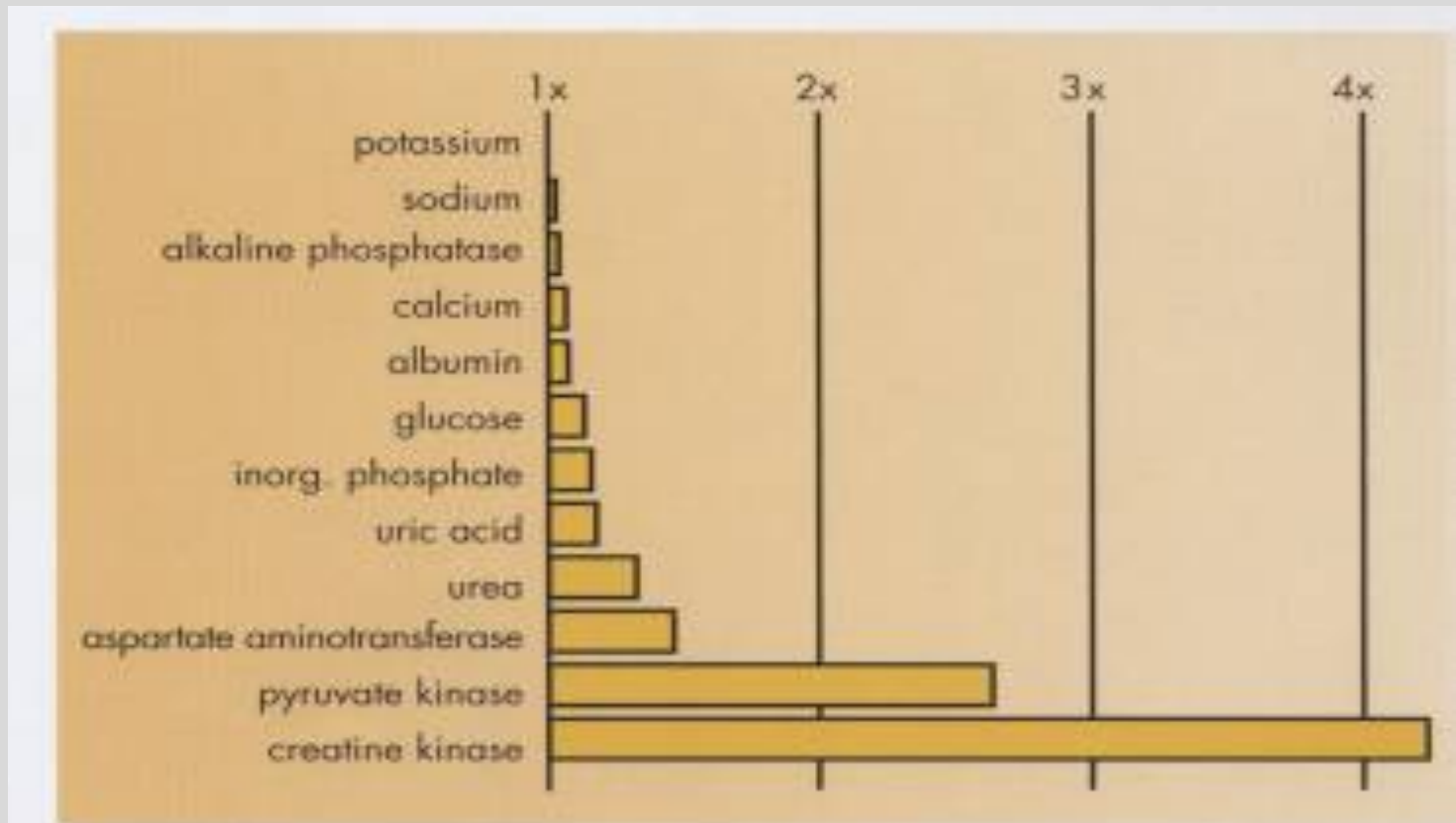


L'attività sportiva modifica alcuni parametri di laboratorio

W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 –GIT VERLAG



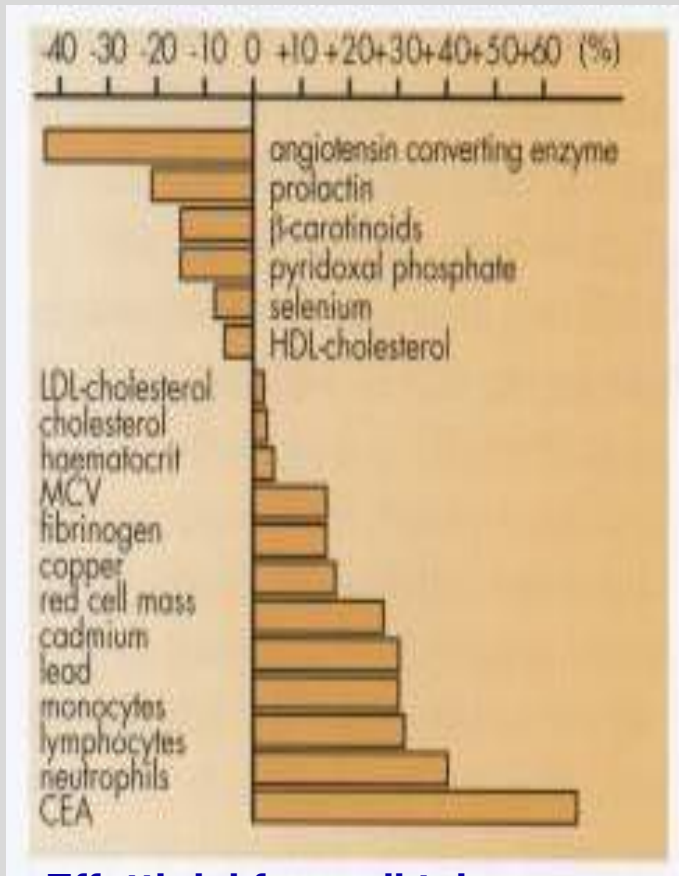
VARIAZIONI FISILOGICHE



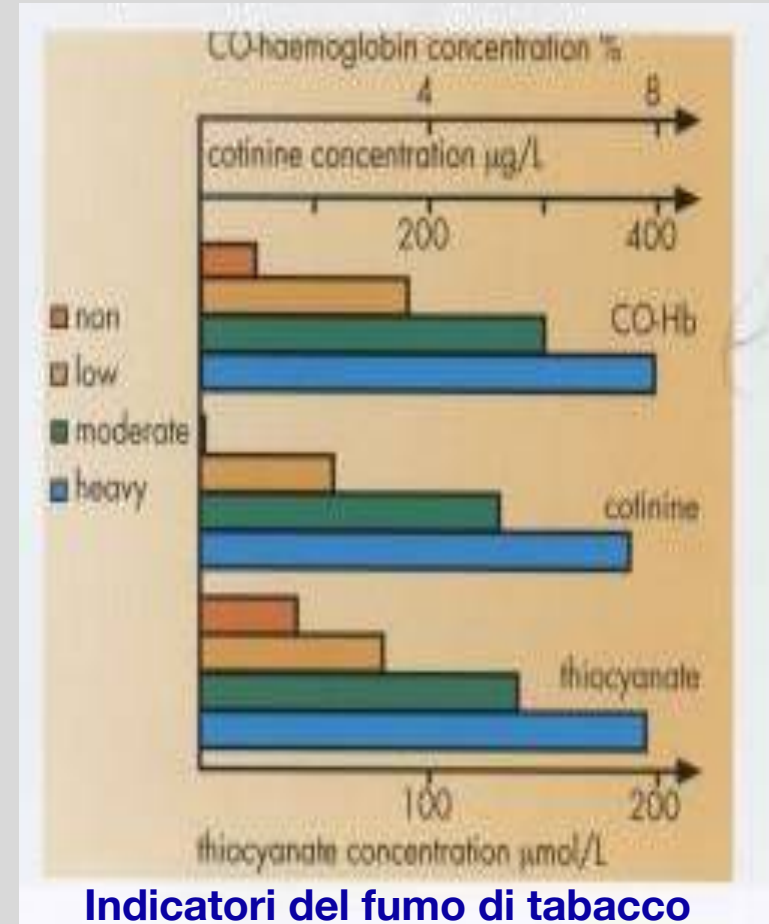
Incremento di alcune concentrazioni analitiche dopo una maratona

W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG

VARIAZIONI FISILOGICHE



Effetti del fumo di tabacco

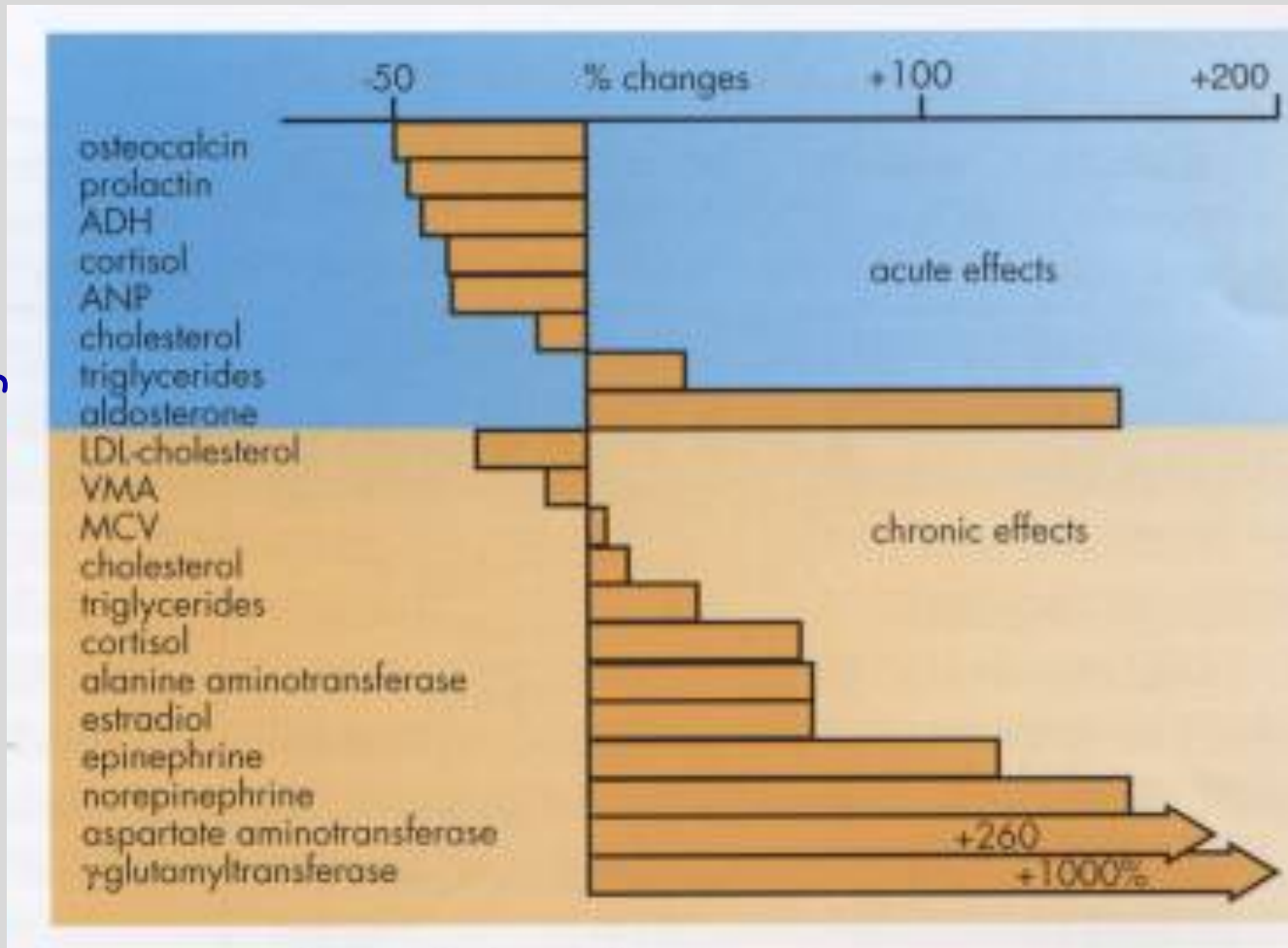


Indicatori del fumo di tabacco



VARIAZIONI FISIOLOGICHE

Effetti acuti e cronici dell'ingestione di alcool



W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG



VARIAZIONI FISILOGICHE

La posizione del corpo

Variazione dei parametri in conseguenza al cambiamento di posizione

Increase when changing from lying down to sitting up	Parameter
Up to 10 %	Haemoglobin
	Leukocytes
	Total calcium
	Aspartate amino transferase
	Alkaline phosphatase
	Thyroxin
	Immunglobulin G and A
	Albumin
	Total protein
	Cholesterol
Triglycerides	
Between 10 and 20 %	Haematocrit
	Cholesterol
	HDL-cholesterol
	Apolipoprotein
	Erythrocytes
More than 50 %	Adrenaline
	Renin
	Noradrenaline

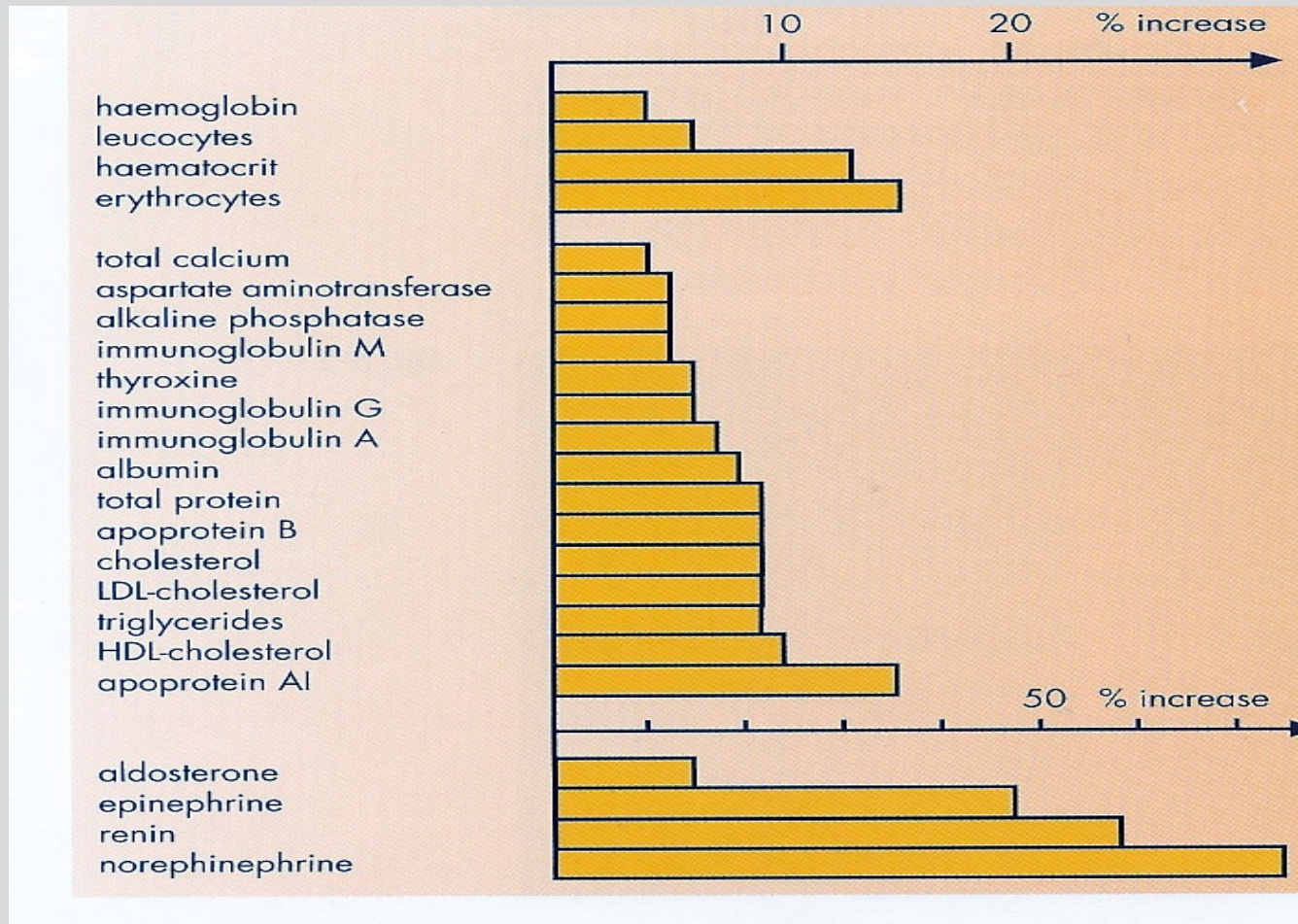
W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - **Samples:**
Form the Patient to the Laboratory 2001 –GIT VERLAG



VARIAZIONI FISILOGICHE

La posizione del corpo

Postura

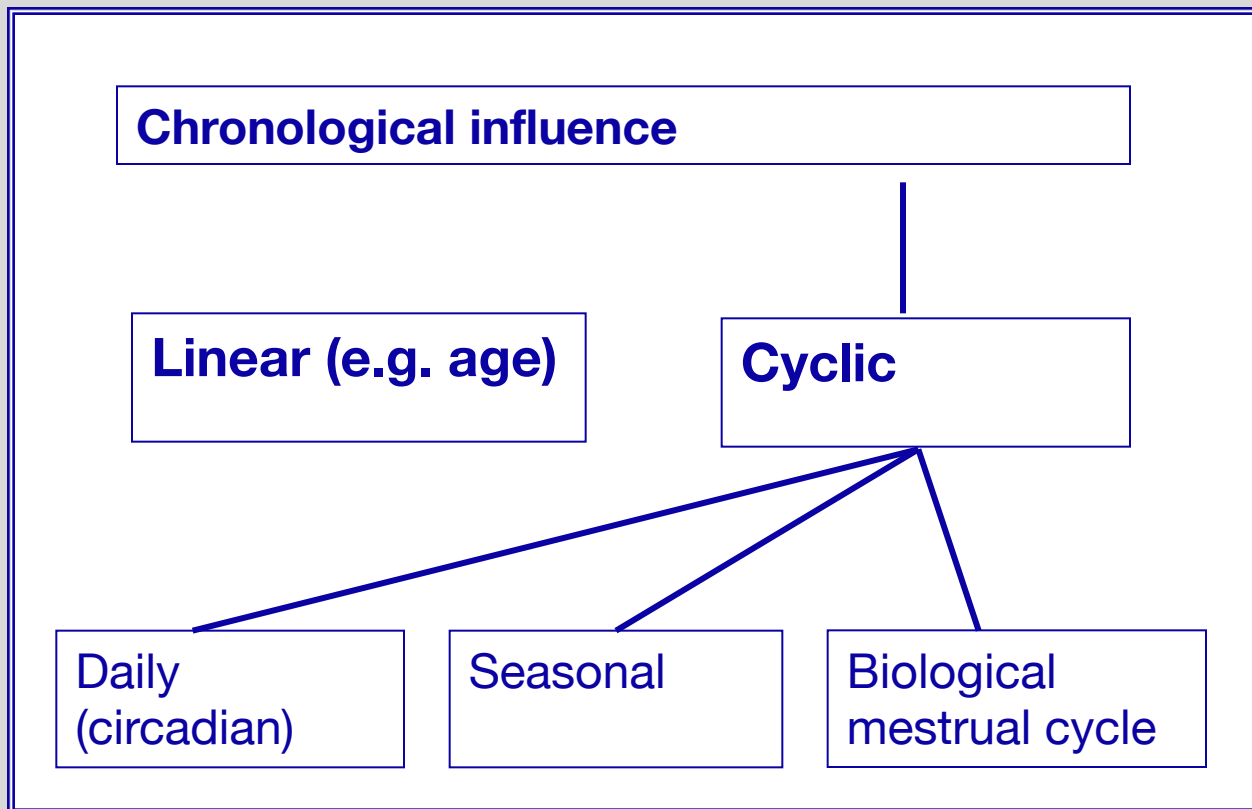


W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG



VARIAZIONI FISIOLOGICHE

La variabilità biologica: RITMI CIRCADIANI



Variabilità crono-biologica



ETIOLOGIA DI ALCUNE VARIAZIONI FISILOGICHE

La variabilità biologica: RITMI CIRCADIANI

Il **RITMO CIRCADIANO** è la variazione di concentrazione sierica o urinaria di una sostanza nell' arco della giornata

Ritmo **ULTRADIANO** = inferiore alle 24 ore

Ritmo **INFRADIANO** = superiore alle 24 ore



ETIOLOGIA DI ALCUNE VARIAZIONI FISILOGICHE

1. Le più importanti variazioni circadiane

ANALITA	h PICCO	% VARIAZIONE
Na	13.00	2
K	11.00	19
Glucosio	18.00	59
Fosforo	22.00	38
Urea	23.00	25
Colesterolo	22.00	11
Bilirubina tot	7.00	62
Proteine tot	18.00	8
GGT	10.00	960
TSH	2.00	206
Cortisolo	7.30	1111
Melatonina	3.00	211
Ferro	12.08	32
Aldosterone	8.00	95



ETIOLOGIA DI ALCUNE VARIAZIONI FISILOGICHE

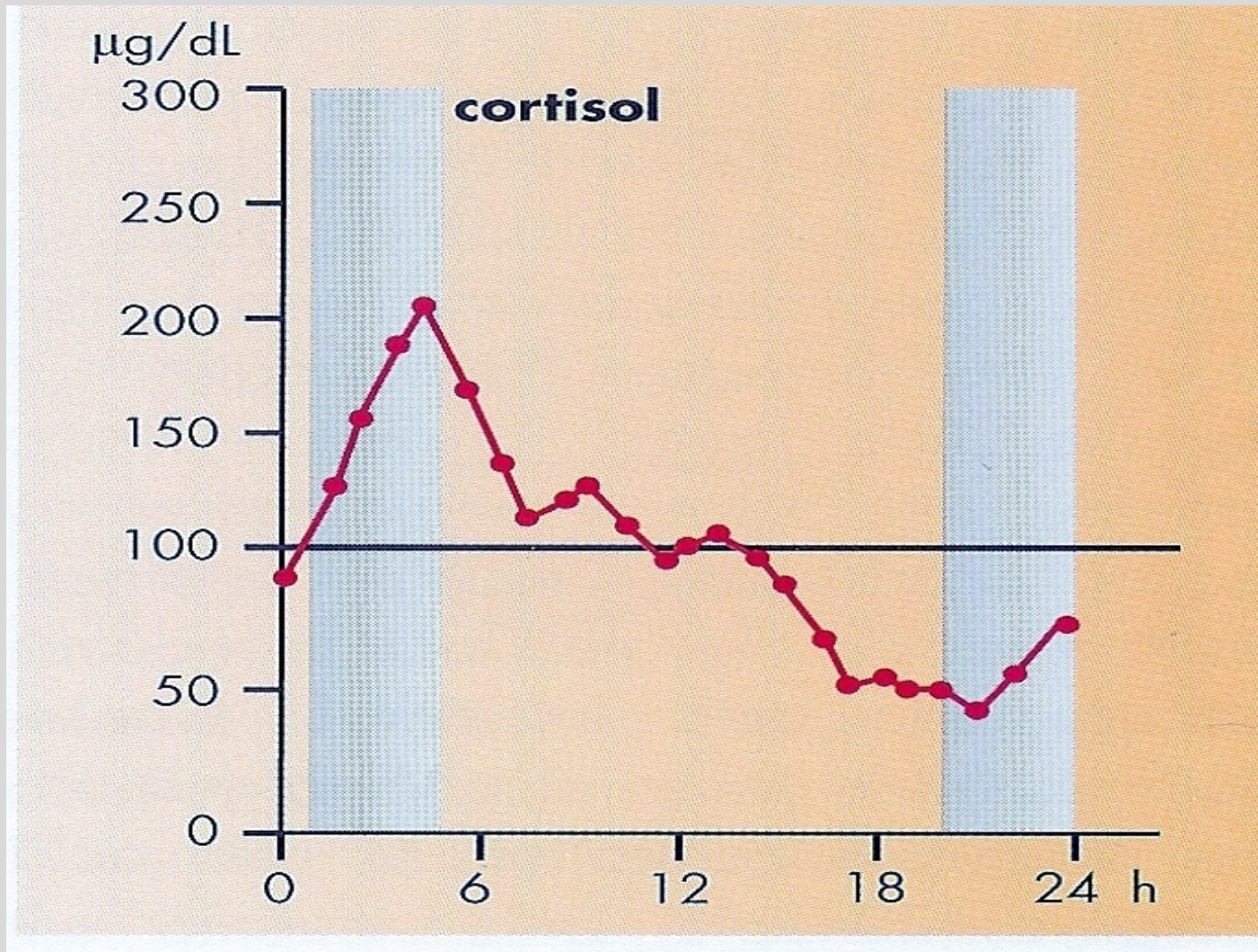
1. Le più importanti variazioni circadiane

ANALITA	h PICCO	% VARIAZIONE
WBC	19.00	38
RBC	4.30	10
Linfociti	1.30	67
Neutrofili	17.00	61
Cell CD4+	0.30	51
URINE		
Volume	3.00	278
Peso specifico	16.00	193
Ca	16.00	333
Creatinina	21.08	30
Na	20.12	54



ETIOLOGIA DI ALCUNE VARIAZIONI FISIologiche

Variazione circadiana





ETIOLOGIA DI ALCUNE VARIAZIONI FISILOGICHE

Variazioni circadiane

Analytes	Maximum (time of day)	Minimum (time of day)	Amplitude (percentage of daily mean)	Analytes	Maximum (time of day)	Minimum (time of day)	Amplitude (percentage of daily mean)
ACTH	6–10	0–4	150–200	Norepinephrine (S,U)	9–12	2–5	50–120
Cortisol (S,U)	5–8	21–3	180–200	Haemoglobin	6–18	22–24	8–15
Testosterone	2–4	20–24	30–50	Eosinophils	4–6	18–20	30–40
TSH	20–2	7–13	5–15	Iron (S)	14–18	2–4	50–70
T ₄	8–12	23–3	10–20	Potassium (S)	14–16	23–1	5–10
Somatotropin	21–23*	1–21	300–400	Phosphate (S)	2–4	8–12	30–40
Prolactin	5–7	10–12	80–100	Sodium (U)	4–6	12–16	60–80
Aldosterone	2–4	12–14	60–80	Phosphate (U)	18–24	4–8	60–80
Renin	0–6	10–12	120–140	Volume (U)	2–6	12–16	60–80
Epinephrine (S)	9–12	2–5	30–50	Body temp.	18–20	5–7	0.8–1.0°C



ETIOLOGIA DI ALCUNE VARIAZIONI FISILOGICHE






Le più importanti variazioni in gravidanza

ANALITA	EXTIMATED CHANGE
Albumina	0.75
α 1- glicoproteina acida	0.66
Fosfastasi alcalina	2-3
CA 125	2
Creatinina	0,7
1,25 diidrossi vitamina D	2
Eritropoietina	2
Estradiolo	10
Ac grassi liberi	1,7
Ferritina	0,25
Ferro	0,65
Thyroxine-binding globulin	2-3
Transferrina	1.7



VARIABILITA' ANALITICA

Ha inizio dal momento in cui viene prelevato il campione biologico

-  emolisi
-  stasi venosa
-  trasporto
-  conservazione
-  ecc...



VARIABILITA'

da errori durante la raccolta del campione

- Campioni emolitici
- **Campioni Insufficienti**
- **Campioni non Idonei**
- **Campioni Coagulati**
- **Incompleta o scorretta identificazione del campione**

Criteri di non accettabilità: il campione non sarà processato

Emolisi: **rottura dei globuli rossi con conseguente liberazione nel siero (o plasma) delle sostanze in essi contenute**

Cause:

- ❖ **Emolisi osmotica o chimica (contaminanti)**
- ❖ **Emolisi meccanica:**
 - aspirazione energica,**
 - riempimento provetta errato,**
 - rapporto sangue /anticoagulante**
 - agitazione eccessiva**
 - centrifugazione prematura o eccessiva**
- ❖ **Emolisi fisica (luce, temperatura, congelamento, tempi di attesa)**
- ❖ **Emolisi biologica**



EMOLISI

Lisi anomala degli eritrociti con conseguente rilascio dell'emoglobina e di altri componenti contenuti nei globuli rossi.

Per convenzione è **definito emolitico** un campione il cui siero o plasma presentino dopo centrifugazione un caratteristico colore rosato o rosso, imputabile a un processo di emolisi che ha prodotto un aumento di concentrazione di emoglobina libera **uguale o superiore 0,3g/L**

**La causa di emolisi può essere: in vitro
in vivo**



EMOLISI

Emolisi in vitro

E' un artefatto tecnico che può dipendere da vari fattori:

- **Presenza di acqua, alcol o altri disinfettanti nell'ago, nella siringa e nelle provette**
- **Eccessiva forza aspirante al momento del prelievo o energica pressione esercitata sullo stantuffo al momento dell'espulsione del sangue dalla siringa**



EMOLISI

Emolisi in vitro

- *accesso venoso difficile*
- *vena piccola o fragile*
- *aghi con diametro piccolo*
- *dispositivi butterfly e cateteri*

- *eccessiva agitazione del campione dopo il prelievo*



EMOLISI

Emolisi in vitro

- **trasporto non corretto**
- **conservazione errata del campione, specie in condizioni inadeguate di bassa o alta temperatura**
- **contatto prolungato del plasma o del siero con gli elementi corpuscolati**
- **centrifugazione protratta ad alta velocità o eseguita prima che si sia completamente formato il coagulo**



EMOLISI

Emolisi in vivo

Patologie caratterizzate da emolisi in vivo

- ➔ **traumi degli eritrociti per la presenza di protesi valvolari cardiache, ustioni estese, esercizi fisici intensi, traumi muscolari**
- ➔ **presenza di agenti infettivi come il Plasmodio della malaria e la Bartonella Bacilliformis**
- ➔ **difetti emoglobinici**
- ➔ **forme immunomediate come le reazioni trasfusionali e la porpora trombocitopenica**



EMOLISI

Emolisi in vivo

Gli effetti della rottura degli eritrociti sui risultati dei test di laboratorio sono di diversi tipi:

- ➡ effetto diretto dell'emoglobina su alcuni metodi e su diverse reazioni
- ➡ effetto dovuto alla liberazione di emoglobina e di altri componenti intracellulari

Il risultato finale è l'inattendibilità del risultato!!!



EMOLISI

EFFETTI DELL'EMOLISI SUI TEST DI COAGULAZIONE

Sui test coagulativi se la lisi è modesta (emoglobina libera <0,9g/L) il campione è ancora analizzabile

Una lisi moderata (emoglobina libera pari a 1,7g/L) già influenza significativamente diversi parametri della coagulazione, in particolare il PT risulta sovrastimato e l'aPTT risulta diminuito

Una lisi accentuata pari a una concentrazione di emoglobina libera di 3,4g/L influenza significativamente il fibrinogeno, che risulta sottostimato



EMOLISI

Le **problematiche** legate ai campioni emolitici sono essenzialmente due:

- ▶ Campioni con emolisi non identificabile
- ▶ Gestione dei risultati di campioni emolitici

Il più delle volte campioni con emolisi modesta possono sfuggire ad una ispezione visiva.

*Per questo deve essere prevista la quantificazione della interferenza mediante **gli indici di siero** eseguiti automaticamente dallo strumento sul campione prima dei dosaggi*

Interferenza da emolisi

L' Emoglobina nel plasma (o siero) causa errore nelle determinazioni colorimetriche per:

❖ **Cause fisiche:**

assorbimento naturale a 405 e 550-575 nm

❖ **Cause chimiche:**

inibizione reazioni di diazotazione

inibizione attività lipasica

**L' emolisi è visibile (dopo centrifugazione)
per concentrazioni di Hb > 20 mg/dl**

**Risposta analitica
Decremento: RBC/Hb/Hct**



EMOLISI

INDICI DEL SIERO

APPLICAZIONE

Sono stati individuati, secondo la possibile etiologia di interferenza, 3 gruppi di analiti:

A) Gruppo I

Anailti con valori aumentati a causa di rilascio dell' elevata concentrazione intraeritrocitaria

Aspartato Aminotransferasi (AST, GOT)

Alanina Aminatransferasi (ALT, GPT)

Creatinina

Latticodeidrogenesi (LDH)

Potassio (K)



EMOLISI

B) Gruppo 2

Analiti a bassa concentrazione che subiscono la diluizione della lisi intraeritrocitaria

**Albumina
Cloro
Glucosio
Sodio (Na)**

C) Gruppo 3

Analiti che subiscono interferenza chimica o spettro fotometrica per la variazione della colorazione del siero

**Fosfatasi alcalina
Bilirubina
Creatinasi (CK)
Ferro
Gamma-gt (γ gt)
Lipasi
Magnesio (Mg)
Fosforo (P)
Urea**

Interferenze da emolisi

Livelli di concentrazione di alcuni analiti nel GR e nel plasma

Analita	GR	Plasma
Glucosio	74 mg/dl	90 mg/dl
Na	16 mM/l	140 mM/l
K	100 mM/l	4.4 mM/l
Cl	52 mM/l	104 mM/l
LDH	58.000 U/l	360 U/l
AST	500 U/l	25 U/l

Risposta analitica plasmatica aumentata per:

K/LDH/AST/ALT/P/Mg/Ammonio

Variabilità



VALORI SOGLIA individuati per non eseguire il test

Le indicazioni del Documento di consenso della SIBIoC-SIMeL stabiliscono le soglie in maniera indifferenziata secondo i seguenti valori:

Valori soglia di emolisi (Hb sierica):

Lieve: <0.9g/L

Modesta: 5-6g/L

Elevata: >6g/L.



Valutando statisticamente il livello di emolisi in corrispondenza del quale, prima dell' introduzione dell' indice, veniva attribuita la NC: “CAMPIONE EMOLITICO”; è stata rivista la soglia che fa scattare la regola esperta su LIS (Sistema Informatico di Laboratorio).

ANALITA	SOGLIA- IH
K	70
BILD	60
LDH	30
CK	200
CK-MB	200
AST	60
ALT	200
TROPONINA	100
INSULINA	30
APTOGLOBINA	10

Tab. 2 – Valori soglia utilizzati

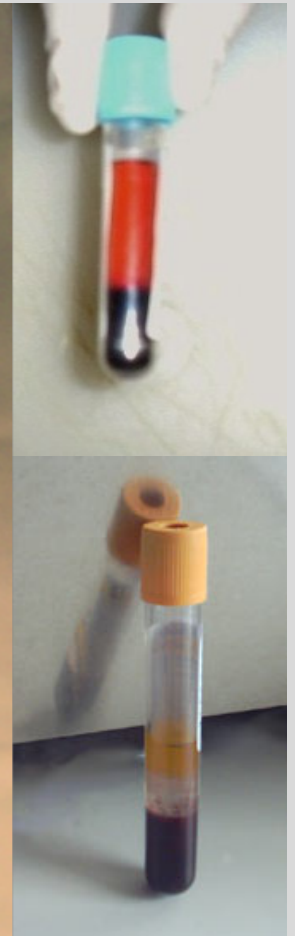
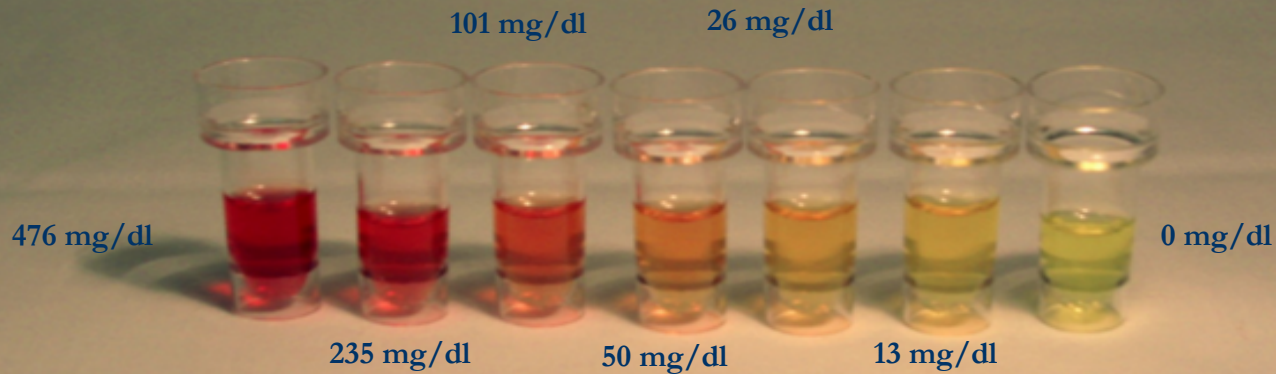
N.B. per TROPONINA, INSULINA E APTOGLOBINA, per mancanza di statistica di confronto, sono stati presi come riferimento i valori soglia della Ditta.



EMOLISI

Emolisi

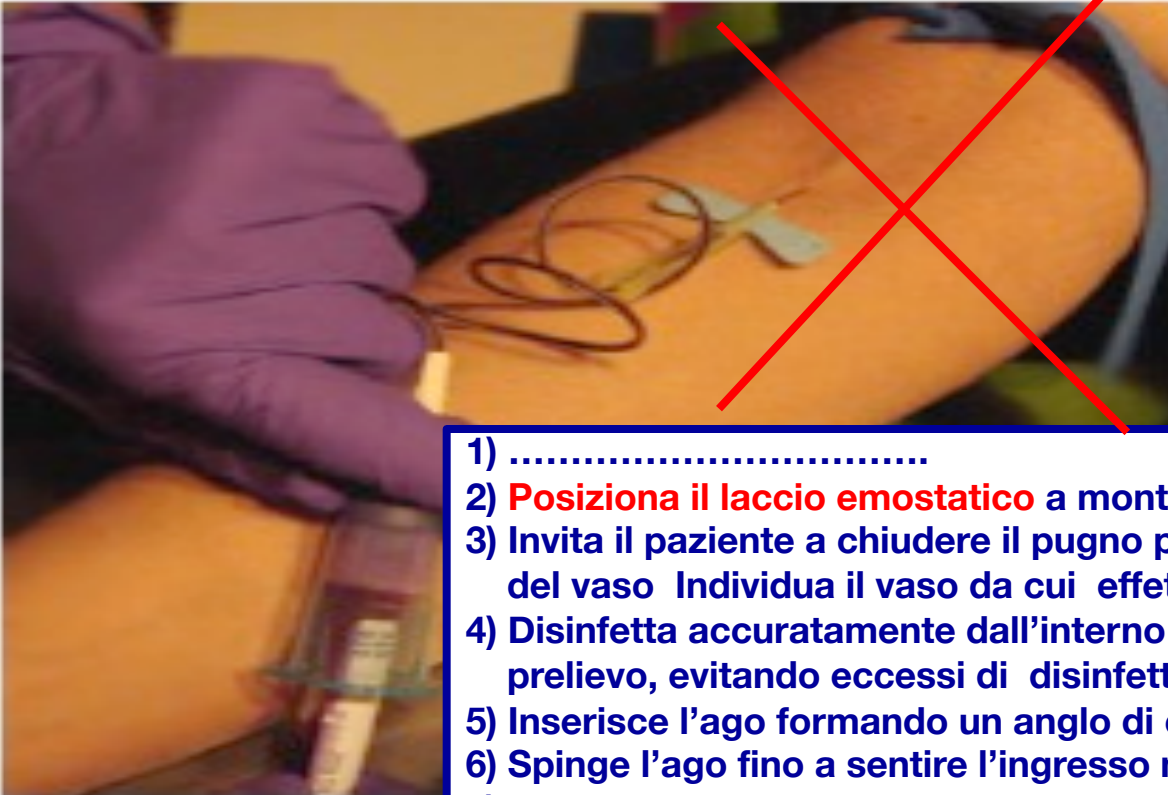
Il campione emolitico può essere segnalato in fase pre-analitica solo dopo centrifugazione





STASI VENOSA

TEST COAGULATIVI



- 1)
- 2) **Posiziona il laccio emostatico** a monte della vena
- 3) Invita il paziente a chiudere il pugno per facilitare l'individuazione del vaso Individua il vaso da cui effettuare il prelievo
- 4) Disinfetta accuratamente dall'interno all'esterno la parte del prelievo, evitando eccessi di disinfettante
- 5) Inserisce l'ago formando un angolo di circa 45 gradi con la cute
- 6) Spinge l'ago fino a sentire l'ingresso nel vaso
- 7) Appena vede il sangue fluire, **slaccia il laccio emostatico** e invita il paziente a rilasciare il pugno
- 8)



STASI VENOSA

Dopo 1 min stasi venosa:

Variazioni clinicamente significative: albumina, calcio, potassio

Differenze statisticamente significative: alanina aminotransferasi, albumina, calcio, colesterolo totale, creatin-chinasi, ferro, potassio

Variazioni accettabili dei parametri coagulativi

Dopo 3 min stasi venosa:

Variazioni clinicamente significative: alanina aminotransferasi, albumina, calcio, cloro, colesterolo totale, glucosio e potassio

Differenze statisticamente significative: alanina aminotransferasi, albumina, calcio, cloro, colesterolo totale, creatin-chinasi, creatinina, glucosio, ferro e potassio

Variazioni clinicamente significative per PT, fibrinogeno e D-Dimero

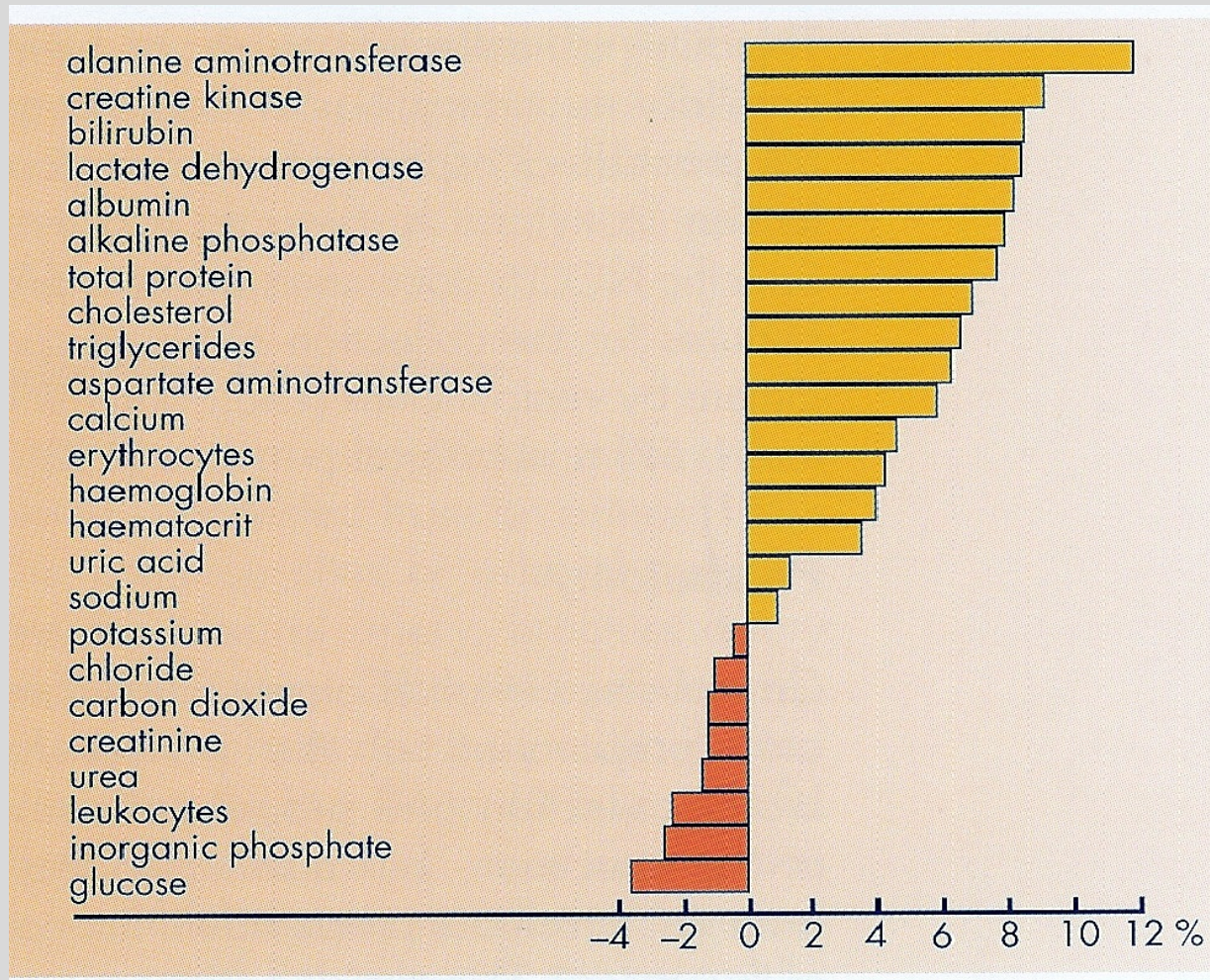
Lippi G. et al. Clin Chem Lab Med. 2005;43:869

Lippi G. et al. Blood Coagul Fibrinolysis. 2005;16:453



STASI VENOSA

Variazioni % dopo 6' dall'applicazione
del laccio



W.G.Guder, S. Narayanan, h. Wisser, B. Zawta - Samples:
Form the Patient to the Laboratory 2001 -GIT VERLAG



TRASPORTO

Errori più diffusi

Tempo di consegna non rispettato

Ammoniemia: *è importante una esecuzione tempestiva per ottenere risultati corretti, indipendentemente dalle temperature di trasporto dei campioni interi* (Giavarina et al. RIMeL/IJLM 2006;2:170)

INR: *preanalytical variables and Off-Site Blood Collection Influence on the Result of the Prothrombin Time/INR Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy* (J.H.H van Geest-Daalderop et al. Clin Chem. 2005;51:561)

Trasporto incongruo

Emogasanalisi, Ormoni e Analiti termoinattivabili: *richiedono un trasporto rapido e i contenitori che assicurino una conservazione a bassa temperatura“* ...Most frequently, errors in urinalysis occur before the specimen entered the laboratory. ...New tools to collect and transport urine specimens reliably are encouraged. ...The storage procedure or preservatives used during the transport are important.” (Kouri T et al. Scan J Clin Lab Invest 2000;60:1)



TRASPORTO

STABILITA' ANALITI IN SANGUE INTERO A TEMPERATURA AMBIENTE

ORMONI → 1 settimana

Na+, ACIDO URICO, COLESTEROLLO, TRIGLICERIDI → 3gg

AMILASI, TRANSAMINASI → 4 gg

GLUCOSIO , LIPASI → meno di 4h

AMMONIO → rapido aumento

GLUCOSIO: ↓↓↓ a tutte le temperature (metabolizzato)

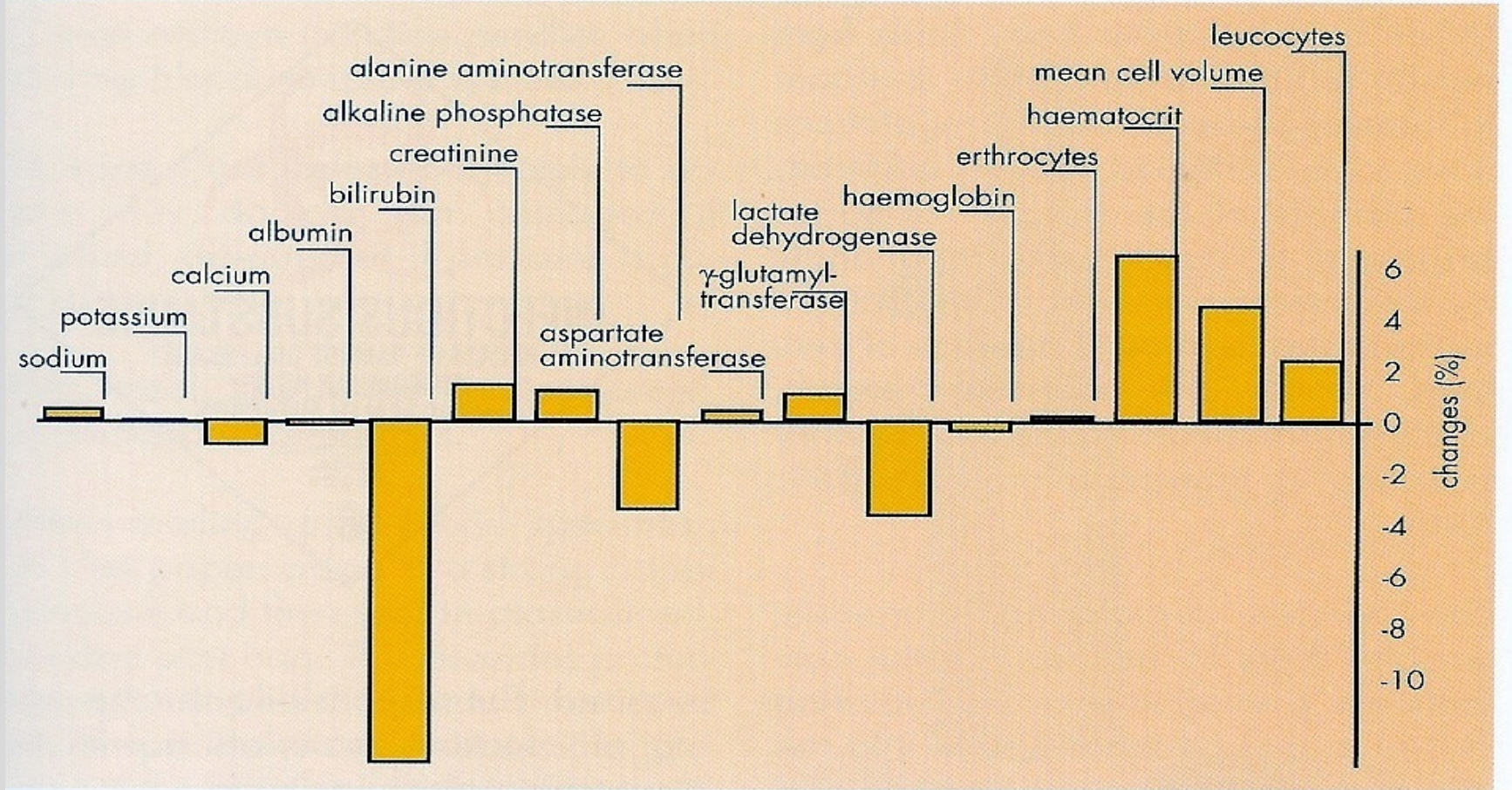
K+: ↑↑↑ per lisi eritrocitaria e piastrinica

Instabilità massima permissibile:

Tempo massimo permissibile è definito come il periodo di tempo in cui i requisiti massimi di stabilità sono raggiunti per il 95% dei campioni



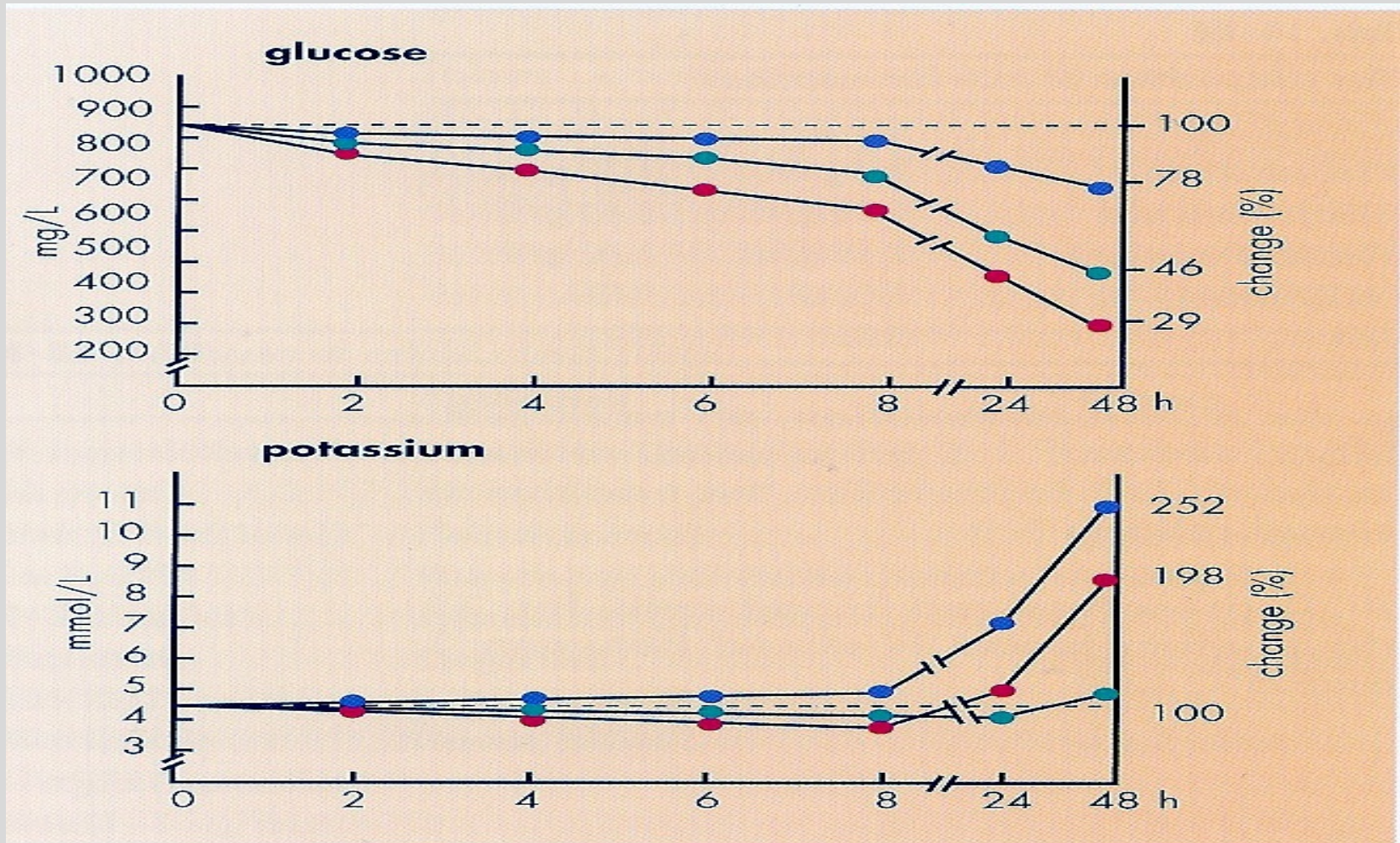
TRASPORTO



Stabilità durante il trasporto



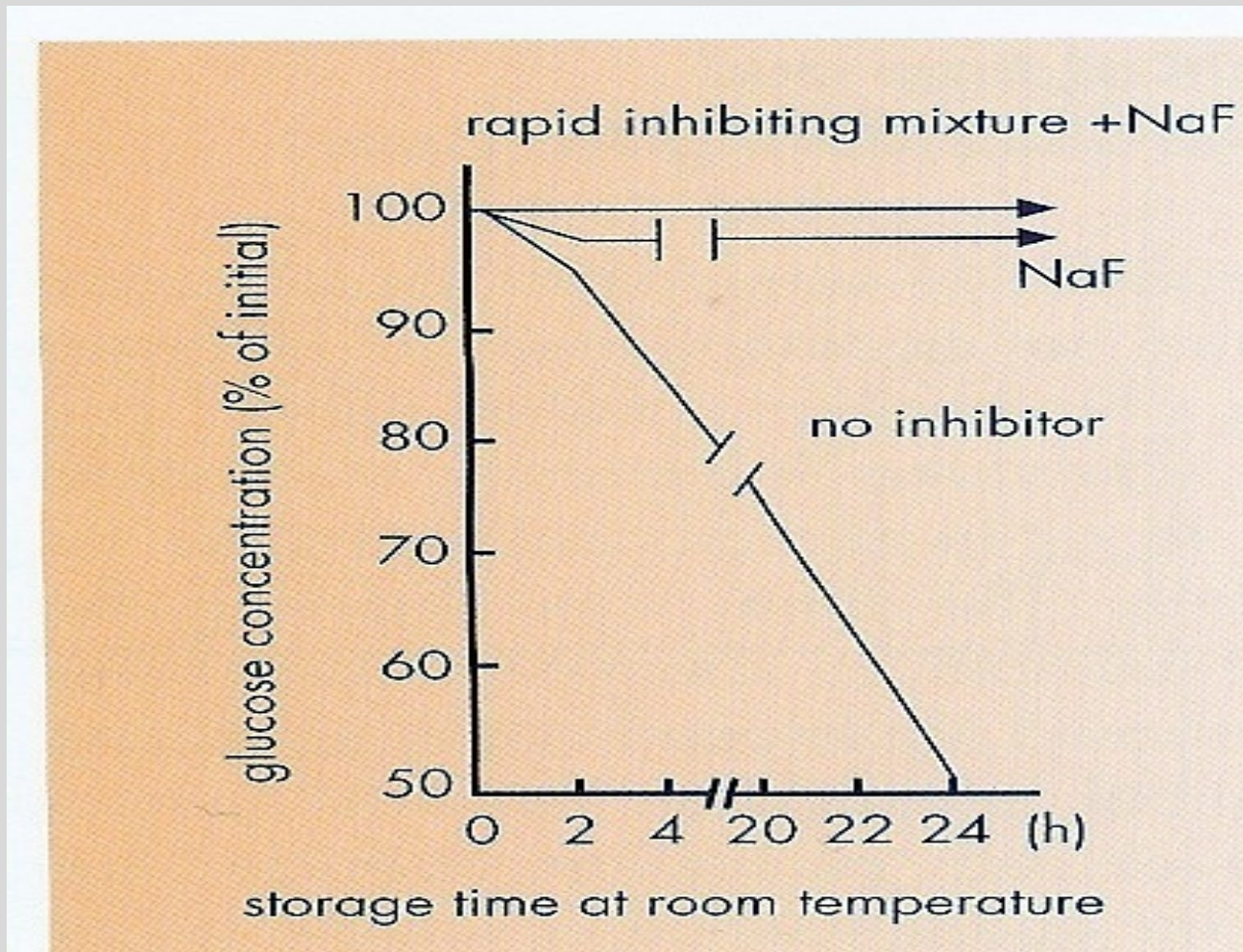
TRASPORTO



Effetto del tempo e della temperature sui campioni senza anticoagulante conservati



TRASPORTO



Conservazione del glucosio in campioni con inibitore della glicolisi



CONSERVAZIONE

Errori più diffusi

1. Temperatura non idonea

Storage of serum or whole blood samples?

Effects of time and temperature on 22 serum analytes

“.....When separated serum was stored at + 9 degrees C for seven days, the mean changes in inorganic phosphate and lactate dehydrogenase exceeded significantly the maximum allowable inaccuracy.

In serum at room temperature, inorganic phosphate, uric acid, HDL-cholesterol and triacylglycerols increased continuously, whereas bilirubin, LDL-cholesterol, creatine kinase and aspartate aminotransferase decreased more than the guidelines permit during the storage.....”

Heins M. et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1995;33:231



CONSERVAZIONE

Errori più diffusi

2. Contatto prolungato del siero con il clot di cellule

Stability Studies of Twenty-Four Analytes in Human Plasma and Serum

“.....La conservazione dei campioni non centrifugati per oltre 24 ore ha provocato cambiamenti significativi nella maggior parte degli analiti...”

.....Tutti gli analiti nel plasma e nel siero separati immediatamente dalle cellule dopo centrifugazione erano stabili.....”

B.L. Boyanton and K.E. Blick Clin Chem. 2002;48:2242



CONSERVAZIONE

Errori meno diffusi e meno identificabili

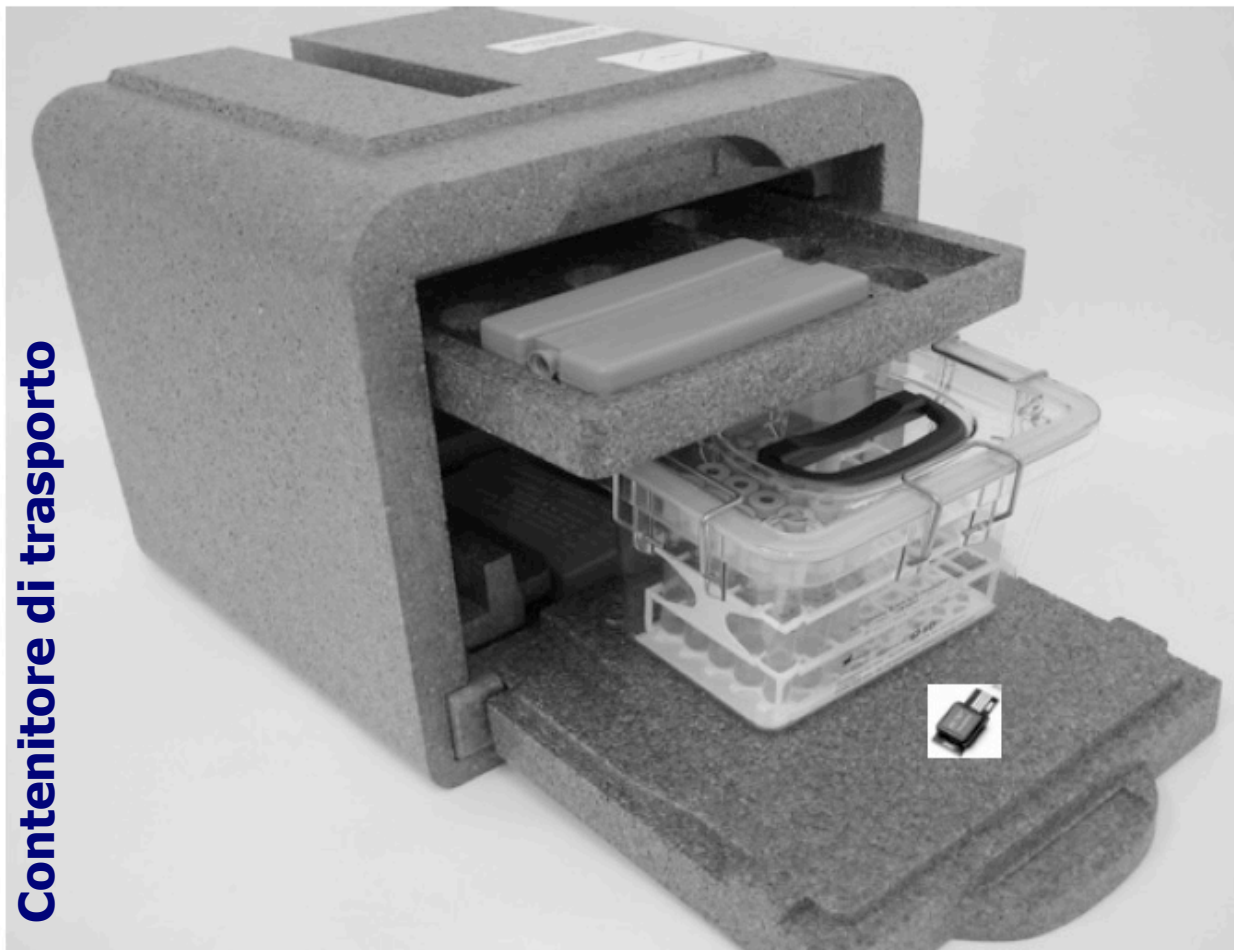
1. Presenza di emolisi non visibile
2. Variabili fisiche legate allo stato del paziente
3. Modalità e dispositivi utilizzati per l'esecuzione del prelievo
4. Contaminazione del campione da liquidi di infusione

La contaminazione del campione è successiva a prelievi da accessi venosi (cateteri, dispositivi a permanenza). Anche prelievi eseguiti dallo stesso braccio in sedi lontane dalla via infusiva possono essere contaminati

Per quanto concerne le misure preventive, il prelievo da accessi venosi può essere considerato idoneo previo scarto di un volume uguale al volume del catetere o della via infusiva (in genere, almeno 3 ml di sangue)

TRASPORTO

LA NORMATIVA



Contenitore di trasporto



VERIFICA

SI EFFETTUA ALL'ARRIVO IN LABORATORIO

Campione insufficiente

*E' la **seconda causa** per i campioni non idonei*

*Il campione insufficiente può essere **valutato visivamente***

Il campione insufficiente può dare problemi di dosaggio proprio perché insufficiente

*L'alterato **rapporto anticoagulante/sangue** influisce in modo significativo sui test della **coagulazione** con variazioni dei risultati di **PT e aPTT (aumento)**, mentre in ematologia comporta modificazioni osmotiche che influiscono sulle caratteristiche **morfologiche dei leucociti***



VERIFICA

Campione non idoneo

A seconda del costituente da esaminare e quindi del tipo di campione di elezione (ad es. sangue intero, plasma o siero) va scelto il tipo di provetta o materiale biologico di raccolta più idoneo



VERIFICA

Campione coagulato

E' una delle cause principali di non accettabilità in ematologia e nella coagulazione

Il campione coagulato può essere segnalato

- 1. in fase pre-analitica - solo attraverso il controllo visivo della provetta, capovolta lentamente per mettere in evidenza eventuali microcoaguli**
- 2. in fase pre-analitica - mediante tecnologie che rilevano, tramite sensori, la presenza di fibrina**
- 3. in fase analitica - - mediante tecnologie che rilevano, tramite sensori, la presenza di fibrina**



VERIFICA

Scorretta identificazione del campione

Il campione coagulato può essere segnalato

1. Campioni non etichettati:

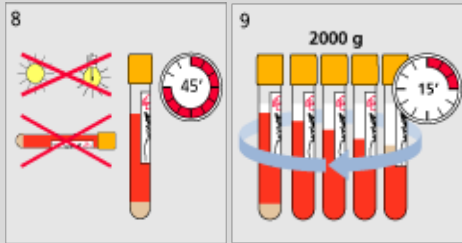
non identificazione del paziente

2. Campioni etichettati in modo non corretto:

*incompleta identificazione del paziente;
scambio pazienti*



VERIFICA



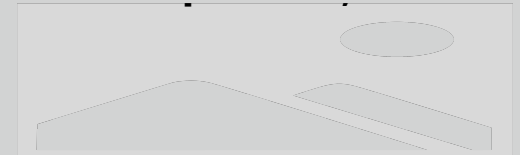
Vacutainer siero con gel
2000 - 3000 g

Condizioni ottimali di centrifugazione

Per la centrifugazione controllare che la forza centrifuga relativa (g) sia sufficiente per ottenere una separazione ottimale fra siero / plasma e cellule sanguigne.

La verifica della forza centrifuga relativa (g) è di particolare importanza per le provette contenenti un gel separatore poichè determina la stabilità della barriera tra siero e cellule sanguigne

Il numeri di giri / min. (rpm) da programmare sulla centrifuga si calcola a partire dalla forza centrifuga relativa (g) necessaria ed il raggio (r) in cm misurando la distanza fra l'asse di rotazione ed il fondo della provetta, secondo la formula:



centrifugazione

