

Chimica clinica

Serie di guide didattiche



SERVIZI DIDATTICI PER LA CHIMICA CLINICA DI ABBOTT DIAGNOSTICS

DESTINATARI DELLA GUIDA

Con la presente guida didattica si intende soddisfare le esigenze di apprendimento di base dei tecnici di laboratorio che hanno fatto di recente il proprio ingresso nel campo della medicina dei laboratori clinici. Tutte le persone che si occupano di chimica clinica o che operano nei laboratori clinici troveranno in questa guida informazioni di loro interesse. I lettori tipici della guida saranno tecnici dei laboratori medicali e tecnici medicali, supervisori e responsabili di laboratorio, infermieri, personale di supporto dei laboratori e personale di laboratorio degli studi medici.

UTILIZZO DELLA GUIDA DIDATTICA

Per massimizzare i vantaggi offerti, all'inizio di ogni sezione della presente guida didattica è riportata una Panoramica, che consente di passare rapidamente in rassegna gli obiettivi e il contenuto della sezione. Viene quindi elencata una serie di obiettivi didattici. Questi dipendono dai concetti esposti in ogni sezione. Alla fine di ogni sezione è inoltre disponibile un breve quiz di revisione, che aiuta a ricordare i concetti presentati. Se si risponde in modo errato a una domanda, è possibile rileggere la parte del testo corrispondente prima di passare alla sezione successiva.

Alla fine della guida didattica è riportato un glossario da utilizzare come riferimento rapido. Sono inoltre indicati risorse e riferimenti ad altre letture consigliate che consentono di approfondire gli argomenti esposti.

AUTORE:

Roberta Reed, Ph.D.

REDATTORI ABBOTT:

David Armbruster, Ph.D., DABCC, FACB, Director, Clinical Chemistry
Kelley Cooper, MT (ASCP), CLS (NCA), Global Clinical Chemistry Marketing

PREFAZIONE

La chimica clinica è un campo molto interessante che combina analisi e apparecchiature con l'informatica e la gestione del flusso di lavoro, dell'efficienza del personale e dell'automazione dei volumi più elevati. Il settore è in continua evoluzione e richiede personale con competenze relative alle metodologie e ai rispettivi limiti, alle tecnologie e alle apparecchiature per la risoluzione dei problemi, oltre che nozioni sulla gestione e capacità di adattare i processi alle nuove esigenze cliniche. In sintesi, il laboratorio è un servizio offerto al medico che fornisce i risultati delle analisi, fondamentali per la diagnosi e la gestione dei pazienti. Il laboratorio è, tuttavia, un componente fondamentale del team sanitario e interviene nella gestione dell'utilizzo, nelle efficienze operative e sul miglioramento dei risultati ottenuti con i pazienti. Ho avuto l'onore di ricevere una richiesta di collaborazione alla stesura di questa versione della *Guida didattica di chimica clinica*, probabilmente perché ho accumulato quasi 30 anni di esperienza seguendo gli studenti nei laboratori clinici e aiutando i medici a soddisfare le esigenze dei pazienti.

Questa Guida didattica è un punto di partenza fondamentale che fornisce le nozioni di base non solo della chimica clinica ma anche della medicina di laboratorio. Contiene informazioni relative alla qualità e alle metodologie che si utilizzano nell'attività giornaliera di analisi dei campioni. Una vasta gamma di persone, che include chi studia per diventare infermiere, i ricercatori, gli studenti di medicina, il personale residente, gli amministratori di laboratorio e gli ispettori degli enti preposti, oltre ai tecnici medicali, troverà in questa guida contenuti utili per le attività quotidiane e una spiegazione di quanto accade nei laboratori clinici, se non sono esperti dell'aspetto scientifico dell'attività. Mi auguro che tutti i lettori possano trovare utile la guida, come già è successo ai miei studenti e tecnici in passato.



James H. Nichols, Ph.D., DABCC, FACB
Professore di Patologia, Microbiologia e Immunologia
Direttore medico di chimica clinica
Direttore medico, Test Point of Care
Vanderbilt University School of Medicine

4918D TVC (The Vanderbilt Clinic)
1301 Medical Center Drive
Nashville, TN 37232-5310
(615) 343-5708
FAX (615) 343-9563
james.h.nichols@vanderbilt.edu

SOMMARIO

| | |
|---|-----|
| INTRODUZIONE | |
| GUIDA DIDATTICA DI CHIMICA CLINICA | 5 |
| SEZIONE 1 | |
| INTRODUZIONE ALLA CHIMICA CLINICA | 6 |
| SEZIONE 2 | |
| PRINCIPI DELLA MISURAZIONE | 18 |
| SEZIONE 3 | |
| STRATEGIE DI ANALISI PER LA SELEZIONE DI UN ANALITA SPECIFICO | 30 |
| SEZIONE 4 | |
| ACCURATEZZA | 41 |
| SEZIONE 5 | |
| FONTI DI ERRORE | 55 |
| SEZIONE 6 | |
| ANALISI DI CHIMICA CLINICA COMUNI | 66 |
| SEZIONE 7 | |
| ANALISI NELLA PRATICA CLINICA | 88 |
| SEZIONE 8 | |
| UNITÀ DI MISURA | 105 |
| APPENDICE | |
| APPENDICE A: GLOSSARIO DEI TERMINI | 112 |
| APPENDICE B: RIFERIMENTI | 115 |
| APPENDICE C: RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE | 116 |

INTRODUZIONE

GUIDA DIDATTICA DI CHIMICA CLINICA

Nel termine di "scienza dei laboratori clinici" sono incluse diverse specializzazioni quali la chimica clinica, l'ematologia, l'immunologia, la microbiologia, la sierologia, la tossicologia e le analisi delle urine. In questa guida didattica si esplorerà in particolare la specializzazione più importante, ovvero la chimica clinica, che prevede una vasta gamma di analisi ed è un'area fondamentale delle attività ospedaliere e dei laboratori. La chimica clinica si basa su molte metodologie diverse, con analisi manuali e completamente automatizzate, e mira ad esaminare analiti sia molto comuni che rari, unisce le conoscenze di chimica di base con la biochimica, l'informatica, le competenze tecniche e altre discipline, sovrapponendosi ad altre aree di interesse, come la tossicologia e l'endocrinologia.

Considerati l'ambito e la profondità della chimica clinica, sull'argomento sono stati scritti molti libri di grande interesse. Tali testi vengono continuamente rivisti e aggiornati per restare al passo con gli sviluppi in questa disciplina così dinamica. La presente guida didattica intende essere una semplice introduzione alla materia, un'introduzione ai concetti fondamentali che illustra le nozioni minime di base. La guida intende rispondere a domande elementari sulla chimica clinica e stimolare ulteriore interesse nella materia. I lettori troveranno particolarmente utile l'Appendice B con riferimenti a informazioni più dettagliate e complete sulla materia.

Speriamo che questa *Guida didattica di chimica clinica* di Abbott Diagnostics si dimostri uno strumento utile e che aiuti i lettori a creare delle basi solide nel campo della medicina di laboratorio.

SEZIONE 1

INTRODUZIONE ALLA CHIMICA CLINICA

PANORAMICA

In questa sezione si definisce l'ambito delle analisi di chimica clinica, dai tipi di campioni biologici che in genere si sottopongono ad analisi alla corretta interpretazione dei risultati.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Descrivere i tipi di analiti che è possibile valutare utilizzando le analisi di chimica clinica
- Individuare i diversi tipi di campioni biologici che si possono utilizzare per le analisi
- Descrivere le modalità corrette di interpretazione dei risultati

CONCETTI CHIAVE

1. Le analisi di chimica clinica misurano le concentrazioni o le attività delle sostanze (ioni, molecole, complessi) presenti nei fluidi corporei.
2. Per le analisi si possono utilizzare diversi tipi di fluidi corporei, ad esempio sangue intero, plasma, siero, urine e liquido cerebrospinale.
3. L'interpretazione medica dei risultati delle analisi si basa sul confronto rispetto a un intervallo di riferimento, che riflette la gamma dei valori previsti per gli individui sani o un livello deciso dai medici (MDL) per la diagnosi e il trattamento della patologia.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015 e il sito web Lab Tests Online, www.labtestsonline.org.

La chimica clinica è una scienza quantitativa che si occupa della misurazione delle quantità di sostanze biologicamente rilevanti (denominati analiti) presenti nei fluidi corporei. I metodi per la misurazione di queste sostanze sono progettati in modo rigoroso allo scopo di fornire valutazioni accurate della loro concentrazione. I risultati delle analisi di chimica clinica vengono confrontati a intervalli di riferimento o a livelli decisi dai medici (MDL) allo scopo di assegnare un significato diagnostico e clinico ai valori.

ANALITI PIÙ COMUNI

La chimica clinica è la branca della medicina di laboratorio che si occupa principalmente delle molecole. Le analisi in un laboratorio di chimica clinica consentono di misurare le concentrazioni di ioni biologicamente significativi (sali e minerali), piccole molecole organiche e macromolecole (soprattutto proteine). Per ulteriori informazioni su analiti specifici, consultare la Sezione 6.

ANALITI PIÙ COMUNI NEI LABORATORI DI CHIMICA CLINICA

| IONI, SALI E MINERALI | PICCOLE MOLECOLE ORGANICHE | MACROMOLECOLE |
|---|------------------------------|------------------------------------|
| Potassio | Metaboliti | Proteine di trasporto |
| Sodio | Glucosio | Albumina |
| Calcio | Colesterolo | Transferrina |
| Cloro | Urea | Aptoglobina |
| Magnesio | Acido lattico | Ferritina |
| Fosforo | Bilirubina | Proteina totale |
| Biossido di carbonio (CO ₂) | Creatinina | Enzimi |
| Piombo | Trigliceridi | Lipasi |
| Ferro | Ammoniaca | Amilasi |
| | Cistatina C | Alanina aminotransferasi (ALT) |
| | Farmaci terapeutici | Aspartato aminotransferasi (AST) |
| | Vancomicina | Fosfatasi alcalina (AlkP) |
| | Teofillina | Lattato deidrogenasi (LD) |
| | Digossina | Creatinchinasi (CK) |
| | Fenitoina | Proteine specifiche |
| | Acido valproico | Immunoglobuline (IgA, IgG, IgM) |
| | Tossicologia | Complemento C3 |
| | Alcol (etanolo) | Complemento C4 |
| | Salicilato (Aspirina) | Proteina C-reattiva (CRP) |
| | Acetaminofene | Lipoproteine |
| | Droghe di abuso (DOA) | Lipoproteina ad alta densità (HDL) |
| | Cocaina | Lipoproteina a bassa densità (LDL) |
| | Barbiturici | Lipoproteina (a) |
| | Anfetamine | Marcatore del diabete |
| | Oppiacei | Emoglobina A1c (HbA1c) |
| | Cannabinoidi | |

COMBINAZIONI DI ANALISI (PANNELLI)

Quando una singola analisi non è sufficiente a valutare una condizione patologica, è possibile ricorrere a una combinazione di diverse analisi. I risultati di tale combinazione possono evidenziare in modo più chiaro lo stato del paziente rispetto a una singola analisi. Le analisi di questo tipo, eseguite sul medesimo campione, vengono spesso ordinate in gruppo e denominate pannello o profilo.

I tipi di pannelli e le analisi specifiche incluse nei pannelli sono un'espressione delle pratiche locali, regionali o nazionali. Anche pannelli con lo stesso nome possono includere analisi che differiscono in base alla singola struttura.

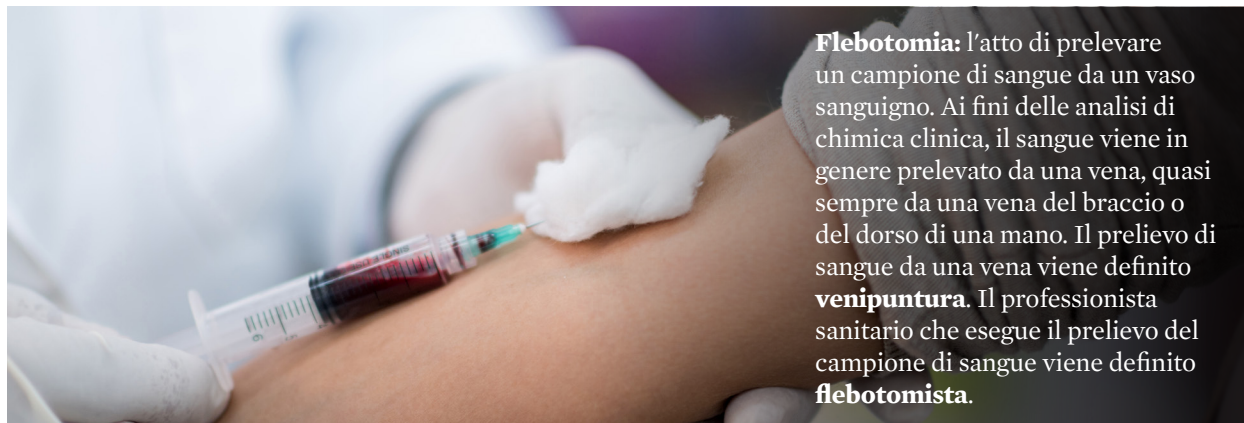
ESEMPI DI PANNELLI DI ANALISI TIPICI

| PANNELLO ELETTROLITI | PANNELLO EPATICO (PROFILO DEL FEGATO) | PROFILO METABOLICO COMPLETO |
|---|--|--|
| Sodio (Na) Potassio (K) Cloro (Cl) Biossido di carbonio (CO ₂) | Albumina Proteina totale Fosfatasi alcalina Alanina aminotransferasi (ALT) Aspartato aminotransferasi (AST) Bilirubina totale Bilirubina diretta | Sodio (Na) Potassio (K) Cloro (Cl) Biossido di carbonio (CO ₂) Glucosio Creatinina Urea Calcio Proteina totale Albumina Alanina aminotransferasi (ALT) Aspartato aminotransferasi (AST) Fosfatasi alcalina (AlkP) Bilirubina totale |

| PANNELLO METABOLICO DI BASE | PROFILO LIPIDICO |
|--|--|
| Sodio (Na) Potassio (K) Cloro (Cl) Biossido di carbonio (CO ₂) Glucosio Creatinina Cloro (Cl) Urea (azoto ureico nel sangue; BUN) | Colesterolo totale Colesterolo LDL Colesterolo HDL Trigliceridi |

CAMPIONI BIOLOGICI

Il sangue è il fluido biologico prelevato più di frequente per le analisi cliniche di laboratorio. Viene in genere prelevato da una vena (nel braccio) direttamente in una provetta sottovuoto. In genere una provetta può contenere circa 5 ml di sangue, quantità sufficiente per eseguire molte analisi di chimica clinica, dal momento che gli analizzatori automatizzati richiedono campioni molto ridotti (di norma tra i 2 e i 100 μ l) per una singola analisi. In alcuni casi, quando il prelievo di sangue da una vena è particolarmente difficile, è possibile prelevare un campione di sangue capillare mediante una puntura cutanea e la raccolta di alcune gocce di sangue dal sito della puntura. Un tipico esempio è l'uso del sangue ottenuto con il prelievo dal tallone dei neonati.



Flebotomia: l'atto di prelevare un campione di sangue da un vaso sanguigno. Ai fini delle analisi di chimica clinica, il sangue viene in genere prelevato da una vena, quasi sempre da una vena del braccio o del dorso di una mano. Il prelievo di sangue da una vena viene definito **venipuntura**. Il professionista sanitario che esegue il prelievo del campione di sangue viene definito **flebotomista**.

Altri fluidi biologici (matrici) spesso utilizzati per le analisi sono l'urina, la saliva, il liquido cerebrospinale (CSF), il liquido amniotico, il liquido sinoviale, il liquido pleurico, il liquido peritoneale e il liquido pericardico. Tali fluidi contengono spesso gli stessi analiti biologici di interesse, ad esempio glucosio e proteine, ma differiscono per proprietà chimiche e fisiche. Le differenze nelle caratteristiche dei fluidi vengono definite differenze delle matrici. I metodi di analisi progettati per determinare un analita nel plasma sanguigno non è idoneo per la determinazione del medesimo analita negli altri fluidi (matrici). Quando si utilizza un metodo per l'analisi di un fluido diverso dal plasma sanguigno o dal siero, è importante verificare che il metodo sia idoneo per il tipo di campione di fluido disponibile.

FLUIDI COMUNEMENTE UTILIZZATI PER LE ANALISI DI CHIMICA CLINICA

Sangue (sangue intero, siero o plasma)

Urina

Liquido cerebrospinale (CSF)

Liquido amniotico

Saliva

Liquido sinoviale (liquido che si trova nelle cavità delle giunture)

Liquido pleurico (prelevato dal sacco che circonda i polmoni)

Liquido pericardico (prelevato dal sacco che circonda il cuore)

Liquido peritoneale (denominato anche liquido ascitico; dall'addome)

SANGUE

Il sangue è il campione che si utilizza più spesso per le analisi del laboratorio clinico. Il sangue è costituito da due parti principali: una porzione liquida (detta plasma, che contiene ioni e molecole disciolte) e una porzione cellulare (globuli rossi, globuli bianchi e piastrine). La maggior parte degli analiti di chimica clinica si trovano nel plasma. Parte della preparazione del sangue per la valutazione di tali analiti consiste nella rimozione delle cellule. Questa operazione si esegue mediante centrifugazione del campione, che consente di isolare le cellule sul fondo della provetta del prelievo e rimuovere la porzione liquida da analizzare.

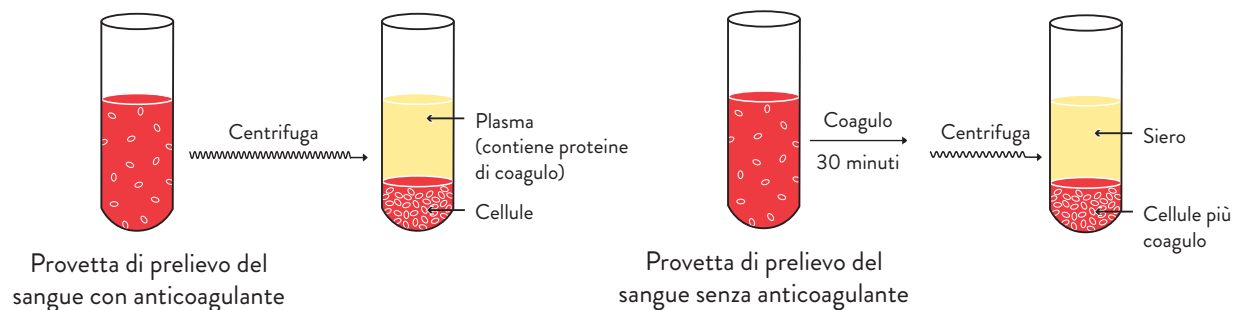


Figura 1-1: Preparazione di siero e plasma.

Se un campione di sangue viene prelevato in una provetta che contiene un additivo che ne impedisce la coagulazione (definito anticoagulante), la porzione liquida del sangue viene chiamata **plasma**. Se il sangue viene raccolto in una provetta priva di anticoagulante, il sangue formerà un coagulo. Un coagulo è un composto semisolido gelatinoso di proteine legate che si forma in un processo a più fasi che si definisce cascata coagulativa. Durante la centrifugazione, il coagulo scende verso il fondo della provetta insieme alle cellule. Il liquido sovrastante che ne risulta viene chiamato **siero**. Il siero contiene tutti i componenti del plasma, fatta eccezione per le proteine della coagulazione, che vengono consumate nella cascata di reazioni che danno origine al coagulo di sangue.

Alcune analisi di chimica clinica si eseguono meglio sul plasma, altre sul siero e altre ancora si possono eseguire indifferentemente su plasma o siero.

Le provette utilizzate per il prelievo di sangue sono dotate di colori differenziati secondo un codice che segnalano quali additivi, se presenti, sono contenuti nella singola provetta. Gli additivi possono essere anticoagulanti che consentono di preparare il plasma o delle sostanze che proteggono gli analiti dalla degradazione chimica o metabolica.

Nota: alcuni tipi di anticoagulanti possono non essere compatibili con alcuni tipi di analisi. Ad esempio, l'EDTA è un anticoagulante che impedisce la coagulazione del sangue sequestrando gli ioni di calcio necessari per le reazioni di coagulo. I campioni di plasma prelevati utilizzando provette con EDTA sono quindi in genere non idonei per la misurazione del calcio e per tutti i metodi di analisi che prevedono una fase di reazione che dipende dalla disponibilità del calcio.

TIPI DI PROVETTE PER IL PRELIEVO DI SANGUE COMUNEMENTE UTILIZZATE PER LE ANALISI DI

| ADDITIVO NELLA PROVETTA** | COLORE DEL TAPPO | CAMPIONE | COMMENTO |
|--|------------------|----------|---|
| Nessuno | Rosso | Siero | Il coagulo richiede almeno 30 minuti a temperatura ambiente |
| Attivatore coagulo silicone | Rosso/nero | Siero | Il silicone velocizza il processo di coagulo rispetto all'assenza di attivatori |
| Trombina | Grigio/giallo | Siero | Velocizza il processo di coagulo in modo significativo al fine di produrre siero in pochi minuti: si utilizza in genere per le analisi urgenti (STAT) |
| Eparina di litio | Verde | Plasma | Campione di plasma preferito per la maggior parte delle analisi chimiche, non idoneo per l'analisi del litio |
| Eparina di sodio | Verde | Plasma | Si utilizza per l'analisi del litio, non idoneo per l'analisi del sodio |
| EDTA (acido etilendiamminotetraacetico come sale di sodio o potassio) | Lavanda | Plasma | Si utilizza in alcuni casi per delle analisi chimiche e di norma in ambito ematologico |
| EDTA di potassio in provetta in plastica speciale | Beige o marrone | Plasma | Si utilizza per l'analisi del piombo nel sangue; le provette sono certificate per un contenuto estremamente basso di piombo |
| Fluoruro di sodio/ossalato di potassio | Grigio | Plasma | Si utilizza per le analisi del glucosio. Il fluoruro di sodio inibisce il metabolismo del glucosio da parte dei globuli bianchi |

*Per ulteriori informazioni visitare il sito web www.bd.com/vacutainer

**Alcune provette di prelievo contengono anche un gel di silicone inerte che si frappone tra le cellule e il siero o plasma durante la centrifugazione. Il gel sigilla le cellule sul fondo della provetta e impedisce alle sostanze emesse dalle cellule di contaminare il siero o plasma. Queste provette sono definite di separazione del siero (contrassegnate con SST) o di separazione del plasma (contrassegnate con PST).

URINA

L'urina è un altro fluido utilizzato spesso per le analisi nei laboratori di chimica clinica. È particolarmente indicata per le analisi che mirano a valutare la funzione renale, analisi che prevedono l'esame delle deiezioni escrete dai reni, e per la ricerca di metaboliti che vengono rapidamente eliminati dal flusso sanguigno accumulandosi nelle urine, quali le droghe di abuso. In alcuni casi è utile conoscere le concentrazioni di una sostanza sia nel siero che nelle urine, allo scopo di valutare il livello di escrezione dell'analita, per accertarsi che l'escrezione sia ai livelli previsti o per determinare la presenza di perdite non previste.

I campioni di urina possono essere concentrati o diluiti, a seconda dello stato di idratazione e della funzione renale del paziente. Queste differenze nelle urine possono influire sulla quantità di una sostanza rilevata in un campione in momenti diversi. Poiché la creatinina viene escretata a livelli abbastanza costanti nel tempo, gli analiti delle urine vengono talvolta normalizzati in base alla quantità di creatinina nel campione allo scopo di compensare le differenze nello stato di idratazione del paziente e i campioni concentrati piuttosto che diluiti.

L'urina è anche relativamente facile da prelevare dalla maggior parte delle persone, anche se sono previste tecniche speciali per neonati e bambini piccoli. Per le analisi di laboratorio si utilizzano diversi tipi di campioni di urina, che provengono da una raccolta a diverse ore del giorno e per diversi periodi di tempo.

| TIPO DI CAMPIONE DI URINA | UTILIZZO |
|---|--|
| Campione prelevato al mattino appena svegli | Fornisce un campione di urina concentrato che contiene l'accumulo notturno dei metaboliti. Utile per il rilevamento di proteine o analiti insoliti. |
| Casuale | Campione comodo da prelevare in qualsiasi momento. Spesso utilizzato per le analisi di routine. |
| A tempo | Viene prelevata la produzione di urina di 2 - 6 ore per ottenere un campione rappresentativo; la durata del prelievo dipende dagli analiti. |
| 24 ore | Viene prelevata l'intera produzione di urina in un periodo di 24 ore. Equivale al prelievo temporizzato, ma si utilizza per i metaboliti la cui velocità di escrezione può variare a seconda dell'ora del giorno e quando è necessario un prelievo di 24 ore perché il campione sia rappresentativo. |

Spesso, quando i campioni di urina non vengono sottoposti immediatamente ad analisi dopo il prelievo, l'urina deve essere trattata con un conservante. Un conservante è una sostanza che impedisce la degradazione degli analiti di interesse. La maggior parte dei conservanti viene aggiunta per ridurre il metabolismo batterico o per impedire la decomposizione chimica degli analiti di interesse. Questi risultati si ottengono in genere regolando il pH entro una certa gamma acida o basica. Alcuni dei conservanti più comuni dell'urina sono il fosfato di potassio, l'acido benzoico, il bicarbonato di sodio, l'acido acetico, l'acido idrocloridrico e l'acido bórico.

ALTRI FLUIDI

I fluidi diversi da sangue e urina, come il liquido amniotico, il liquido sinoviale, il liquido peritoneale, il liquido pleurico e il liquido pericardico, si utilizzano in scenari clinici specifici e vengono analizzati per valutare solo pochi analiti speciali.

Il liquido amniotico viene in genere utilizzato per verificare la salute del feto. Il liquido spinale si utilizza soprattutto per le diagnosi di pazienti che evidenziano sintomi di patologie quali meningite o sclerosi multipla oppure di pazienti che potrebbero aver subito lesioni cerebrovascolari. Le analisi chimiche di fluidi quali il liquido peritoneale, il liquido pericardico o il liquido pleurico si eseguono di solito per valutare l'origine del fluido e determinare se proviene da vasi sanguigni a causa di differenze di pressione (nel qual caso viene definito trasudato ed è relativamente povero di proteine) oppure a causa di infiammazioni o lesioni (nel qual caso viene definito essudato ed è relativamente ricco di proteine). La saliva si usa di rado nei test da laboratorio clinico, ma viene considerato un campione valido perché la sua composizione riflette i livelli di plasmatici di molte sostanze a basso peso molecolare come le droghe o l'alcol.

La saliva si può prelevare senza i problemi connessi alla privacy che interessano il prelievo di urina sotto osservazione per i test per le droghe di abuso, consentendo di sorvegliare il soggetto durante il prelievo del campione ed evitando i rischi di adulterazione o sostituzione da parte del paziente. La saliva presenta dei vantaggi anche nel caso degli ormoni come il cortisolo nei pazienti pediatrici, quando il prelievo di sangue è troppo doloroso o fonte di stress.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I risultati delle analisi sono in genere espressi in numeri con unità di misura che si riferiscono alla quantità di analita rilevata in un determinato volume di fluido (concentrazione). I risultati delle analisi di un paziente vengono messi a confronto con un intervallo di riferimento, basato sui valori documentati che caratterizzano in genere le persone sane. Gli intervalli di riferimento possono essere definiti in vari modi. Alcuni di questi sono basati su valori di consenso che derivano da decisioni a livello medico; tali valori sono riconosciuti dai professionisti della sanità come indicatori validi per la diagnosi e le decisioni di natura medica. Altri intervalli di riferimento, in particolare quelli relativi ad analisi per le quali non esiste consenso a livello medico, sono basati su analisi statistiche eseguite sui risultati registrati per la popolazione sana.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO CON VALORI DI CONSENSO

Quando i risultati delle analisi si possono correlare alle decisioni dei medici (MDL), gli intervalli di riferimento vengono definiti in base al consenso tra i professionisti della sanità. I valori sono in sostanza basati sui risultati di ricerche ed esperienze cliniche. Ad esempio, l'American Diabetes Association (ADA) ha utilizzato i risultati di molte ricerche cliniche per sviluppare i valori di consenso per la glicemia e l'emoglobina A1c. L'American Heart Association (AHA) e l'Expert Panel del National Cholesterol Education Program (NCEP) hanno valutato il ruolo dei lipidi come fattori di rischio per le cardiopatie e, sulla base di molte studi di ricerca, hanno individuato gli intervalli ideali per colesterolo, trigliceridi, HDL e LDL.

ESEMPI DI INTERVALLI DI RIFERIMENTO BASATI SU VALORI DI CONSENSO/DECISIONI MEDICHE PER LE ANALISI DI CHIMICA CLINICA

| ANALITA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO | GRUPPO DI CONSENSO |
|-------------------------------------|--|---|
| Glucosio (a digiuno) | <100 mg/dl (<5,5 mmol/l) non diabetici 100-125 mg/dl (5,5-6,9 mmol/l) prediabetici ≥126 mg/dl (>7,0 mmol/l) diabetici | American Diabetes Association (ADA) |
| Colesterolo | Ideale - <200 mg/dl (<5,2 mmol/l) Rischio moderato - 200-239 mg/dl (5,2-6,2 mmol/l) Rischio elevato - >240 mg/dl (>6,2 mmol/l) | American Heart Association (AHA) e National Cholesterol Education Program (NCEP) |
| Trigliceridi | <150 mg/dl (<1,7 mmol/l) | American Heart Association (AHA) e National Cholesterol Education Program (NCEP) |
| Antigene prostatico specifico (PSA) | <4 ng/ml (<4 µg/l) | American Cancer Society (ACS) |
| Emoglobina A1c | 4-6% non diabetici (20 - 42 mmol/mol) <7% obiettivo per diabetici (53 mmol/mol) | American Diabetes Association (ADA) (DCCT/NGSP)* e International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)* |

*L'American Diabetic Association basa i propri intervalli di riferimento sui risultati del Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) e sui valori standardizzati in base al National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). L'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) consiglia di utilizzare gli intervalli di riferimento espressi in mmol di emoglobina A1c per mole di emoglobina sulla base del proprio programma di standardizzazione.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO STATISTICI

Quando le analisi non sono associate in modo chiaro a una determinata patologia o condizione oppure quando le prove cliniche non sono sufficienti a definire un intervallo di riferimento specifico, si adotta un approccio statistico. L'intervallo di riferimento in questo caso si basa di solito sulla distribuzione statistica dei valori ottenuti dalle analisi eseguite su centinaia di persone sane. La figura riportata di seguito è un esempio di intervallo di risultati che si ottengono per il calcio.

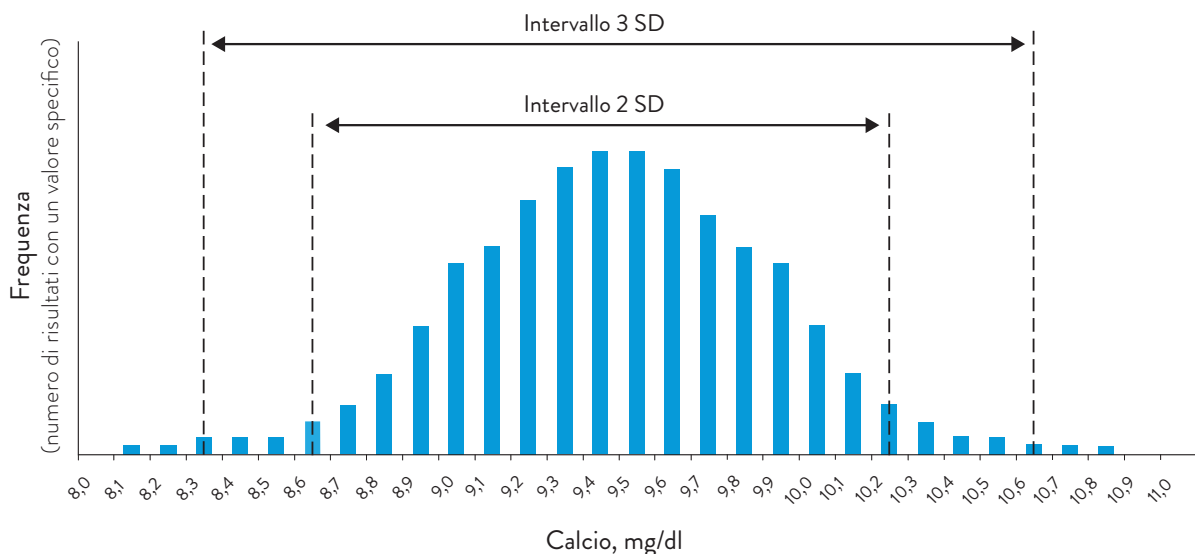


Figura 1-2: Distribuzione del calcio in adulti sani.

L'intervallo dei risultati deriva dai valori che si registrano più spesso nella popolazione sana. Per una tipica distribuzione a campana (gaussiana), come illustrato per il calcio, circa il 66% di tutti i risultati sono inclusi entro una deviazione standard (SD) della media (1 SD). Circa il 95% di tutti i valori sono inclusi entro due deviazioni standard della media e circa il 99% di tutti i valori sono compresi entro tre deviazioni standard della media. L'intervallo di riferimento viene in genere selezionato in modo da catturare il 95% centrale delle persone sane e viene definito in modo da corrispondere all'intervallo tra -2 SD e +2 SD (definito intervallo 2 SD). In alcuni casi l'intervallo viene definito in modo da catturare il 99% centrale delle persone sane e caratterizzato in modo da corrispondere all'intervallo tra -3 SD e +3 SD (definito intervallo 3 SD). Seguendo l'esempio fornito per il calcio, un intervallo di riferimento 2 SD corrisponde a 8,6 - 10,2 mg/dl, mentre un intervallo di riferimento 3 SD corrisponde a 8,3 - 10,6 mg/dl. Nel primo caso, è previsto che il 5% o cinque persone sane su cento facciano registrare risultati delle analisi all'esterno dell'intervallo di riferimento, più alti o più bassi. Nel secondo caso, è previsto che solo l'1% o una persona sana su cento faccia registrare risultati delle analisi all'esterno dell'intervallo di riferimento. Per la maggior parte delle analisi chimiche si utilizzano gli intervalli di riferimento 2SD, mentre solo per alcune, come il test della troponina, si utilizzano gli intervalli di riferimento 3SD (99° percentile) per separare le persone sane dai pazienti con una patologia.

Molti analiti, tuttavia, non evidenziano una distribuzione gaussiana normale nella popolazione sana. I valori possono rivelarsi spostati verso un lato della media o creare lunghe code verso l'alto o il basso di valori che distorcono la curva a campana. In questi casi l'intervallo di riferimento si può stimare utilizzando statistiche non parametriche che non partono da alcun presupposto relativo alla forma della curva. Nelle analisi non parametriche i valori dei risultati vengono classificati dal basso verso l'alto e si esclude il 2,5% dei valori da ciascuna estremità della scala, definendo il 95% centrale dei valori. Un intervallo di riferimento 2SD corrisponde ai valori che comprendono il 95% centrale, o la media +/- 2SD, della distribuzione dei risultati registrati nella popolazione sana, indipendentemente dalla distribuzione dei risultati gaussiana (a campana) o non gaussiana (irregolare). Allo stesso modo, un intervallo di riferimento 3SD comprende il 99% della distribuzione dei risultati registrati nella popolazione sana.

Se l'intervallo dei valori registrati nella popolazione sana tende ad avvicinarsi allo zero e non sussistono rischi di natura medica per i valori più bassi, l'intervallo di riferimento a volte viene espresso come compreso tra zero e un numero che rappresenta il limite superiore del 95° o 99° percentile della popolazione sana. Può anche essere più semplicemente espresso come minore (<) di tale numero.

I valori previsti possono variare in popolazioni sane diverse, nel qual caso vengono considerati intervalli di riferimento differenti. La maggior parte delle differenze derivano da sesso, età o gruppo etnico. Gli intervalli specifici per le popolazioni sono di natura statistica e vengono definiti per ciascuna popolazione in base a fattori di suddivisione prescelti.

ESEMPI DI INTERVALLI DI RIFERIMENTO CHE VARIANO IN BASE ALLE DIVERSE POPOLAZIONI

| ANALITA | POPOLAZIONE | INTERVALLO DI RIFERIMENTO* |
|------------------------|----------------------------|---|
| Fosfatasi alcalina | Maschi età 20-50 anni | 53-128 U/L (0,90-2,18 μ kat/l) |
| | Femmine età 20-50 anni | 42-98 U/L (0,71-167 μ kat/l) |
| | Maschi età \geq 60 anni | 56-119 U/L (0,95-2,02 μ kat/l) |
| | Femmine età \geq 60 anni | 53-141 U/L (0,90-2,40 μ kat/l) |
| Creatinichinasi | Maschi | 25-130 U/L (0,43-2,21 μ kat/l) |
| | Femmine | 10-115 U/L (0,17-1,96 μ kat/l) |
| Creatinina nelle urine | Neonati | 8-20 mg/kg/giorno (71-177 μ mol/kg/giorno) |
| | Bambini** | 8-22 mg/kg/giorno (71-194 μ mol/kg/giorno) |
| | Adolescenti** | 8-30 mg/kg/giorno (71-265 μ mol/kg/giorno) |
| | Maschi adulti | 14-26 mg/kg/giorno (124-230 μ mol/kg/giorno) |
| | Femmine adulte | 11-20 mg/kg/giorno (97-177 μ mol/kg/giorno) |

Nota: gli intervalli di riferimento sono riportati nei libri di testo di chimica clinica, sui siti web di carattere medicale e nei manuali forniti dai produttori di materiali e apparecchiature utilizzati per le analisi. I valori riportati sono spesso diversi e derivano dalle differenze di metodo e popolazione utilizzati. Poiché i laboratori possono adottare metodi diversi e servire popolazioni differenti, è importante che ogni laboratorio verifichi che gli intervalli di riferimento per le analisi da eseguire siano appropriati. A tal fine in genere si analizzano campioni ottenuti da persone sane per confermare che i risultati coincidono con gli intervalli di riferimento riportati.

*I valori di riferimento o previsti per gli adulti sani vengono forniti in questo capitolo al fine di incanalare la discussione. Sono i valori estratti dalla 5a edizione di *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, a meno di diversa indicazione. I valori possono variare in base a popolazioni di pazienti, luoghi e metodologie di dosaggio e devono essere verificati dai laboratori prima dell'uso.

**La definizione e la convalida degli intervalli di riferimento pediatrici presentano problemi specifici, poiché è raro che si prelevi sangue da bambini sani. In letteratura esistono esempi di intervalli di riferimento sia pediatrici che per adulti per un singolo metodo di analisi che possono risultare utili nella valutazione di test con intervalli di riferimento pediatrici separati.

GUIDA PER LA DEFINIZIONE DEGLI INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Il Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) pubblica le linee guida C28, fornendo indicazioni per la definizione degli intervalli di riferimento per le analisi dei laboratori clinici. Ulteriori informazioni sono disponibili sul sito web del CLSI: www.clsi.org.

LIMITI DEGLI INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Il modo corretto per interpretare gli intervalli di riferimento è considerarli come linee guida. Quando non è compreso nell'intervallo di riferimento previsto, il risultato delle analisi deve servire come segnale di un possibile problema. Il risultato deve essere interpretato nel contesto dell'anamnesi del paziente e degli altri rilievi clinici.

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 1

1. Quale dei seguenti analiti è un oggetto tipico delle analisi di chimica clinica?
 - A Calcio
 - B Positività a E. coli
 - C Ottano
 - D Additivi alimentari
2. Citare cinque tipi di fluido corporeo che è possibile utilizzare per le analisi in un laboratorio di chimica clinica:
 - 1 _____
 - 2 _____
 - 3 _____
 - 4 _____
 - 5 _____
3. In che modo un laboratorio può verificare l'intervallo di riferimento da utilizzare per un'analisi specifica?
 - A Chiamando un altro laboratorio
 - B Utilizzando i valori riportati in un libro di testo
 - C Analizzando campioni di persone sane
 - D Cercando su un sito web di argomento medicale
4. In genere, con quale frequenza viene rilevato un risultato di analisi di un paziente che supera 3 SD del valore medio dell'analita?
 - A 1 su 5
 - B 1 su 20
 - C 1 su 100
 - D Mai
5. Che tipo di additivo è stato aggiunto a una provetta di prelievo con il tappo rosso?
 - A Eparina di litio o di sodio
 - B EDTA di potassio
 - C Trombina
 - D Nessun additivo

SEZIONE 2

PRINCIPI DELLA MISURAZIONE

PANORAMICA

In questa sezione sono descritti i principi ottici (fotometrici) ed elettrochimici (potenziometrici) applicati per le misurazioni e che vengono utilizzati più di frequente per valutare le concentrazioni di analiti nei laboratori di chimica clinica.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Descrivere le basi dei metodi ottici come assorbanza, turbidimetria e nefelometria
- Descrivere la differenza tra endpoint e cinetica
- Descrivere il principio della misurazione potenziometrica
- Descrivere il ruolo dei calibratori

CONCETTI CHIAVE

1. Le reazioni cliniche degli analiti producono elementi che si possono rilevare utilizzando metodi ottici; le variazioni nell'assorbimento, nella diffusione o nell'emissione della luce da parte di tali elementi viene utilizzata per determinare la concentrazione dell'analita.
2. Con i metodi potenziometrici le variazioni delle concentrazioni degli ioni vengono rilevate come differenze di potenziale tra due elettrodi.
3. Per stabilire una relazione tra la grandezza di un segnale ottico o elettrico e la concentrazione di analita corrispondente, si utilizzano calibratori e soluzioni a concentrazione nota.

La quantificazione degli analiti chimici di routine è in genere basata su uno di due principi di misurazione: la misurazione della luce (fotometria o spettrofotometria) o la misurazione del potenziale elettrochimico (potenziometria). Esistono molte varianti della fotometria e della potenziometria, che tuttavia hanno sempre in comune il fatto che il segnale (ovvero la quantità di luce o di tensione elettrica) si può correlare in modo prevedibile alla quantità di analita nella soluzione.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015.

FOTOMETRIA

La fotometria si fonda sulla misurazione della luce mediante un fotorilevatore. La luce può essere assorbita da una sostanza disciolta nella soluzione (assorbanza), diffusa o rifratta da particelle sospese nella soluzione (turbidimetria o nefelometria) oppure emessa da una sostanza che assorbe la luce su una lunghezza d'onda e l'emette su un'altra lunghezza d'onda (fluorescenza).

Per ogni analisi vengono selezionate lunghezze d'onda specifiche in base alle proprietà della sostanza soggetta a misurazione. Una fonte luminosa tipica (lampada) genera luce con un'ampia gamma di lunghezze d'onda. Una lampada visibile a occhio nudo produce luce a lunghezze d'onda comprese tra 400 nm (luce violetta) e 700 nm (luce rossa). Una lampada a luce ultravioletta produce luce a lunghezze d'onda comprese tra circa 200 e 400 nm. Per selezionare la lunghezza d'onda desiderata dallo spettro di luce prodotto dalla fonte luminosa, si utilizza un dispositivo chiamato monocromatore o dei filtri. Il monocromatore disperde la luce (in modo molto simile a un prisma) e consente di selezionare una fascia di lunghezze d'onda molto stretta da dirigere verso la cuvetta del campione.

Cuvetta: contenitore in materiale trasparente che contiene le soluzioni da sottoporre ad analisi con metodi ottici

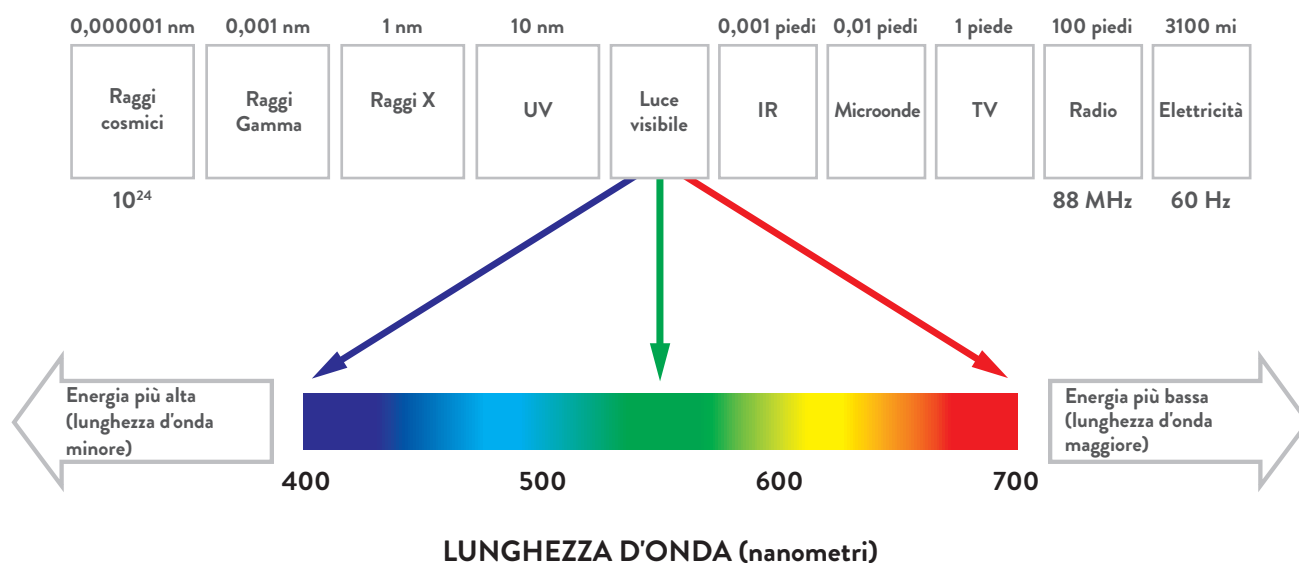


Figura 2-1: Spettro elettromagnetico.

ASSORBANZA

Quando un analita ha un colore intrinseco (o genera un colore per reazione chimica), la luce visibile viene assorbita quando passa attraverso una soluzione che contiene l'analita (o i prodotti della reazione). L'assorbanza selettiva di determinate lunghezze d'onda dallo spettro della luce bianca attribuisce il colore alla soluzione. Una soluzione che contiene, ad esempio, emoglobina appare rossa perché la luce nella gamma del verde dello spettro (lunghezze d'onda di 500 - 600 nm) viene assorbita in modo selettivo (rimossa dallo spettro del bianco). Se si misura la riduzione della luce verde che si verifica al passaggio attraverso la soluzione, è possibile ottenere un'indicazione della quantità di emoglobina presente. Nella **Figura 2-2** è illustrata la configurazione utilizzata per misurare la luce assorbita, ovvero la differenza tra la luce emessa dalla fonte luminosa (I_0) e la luce che raggiunge il fotorilevatore (I_s).

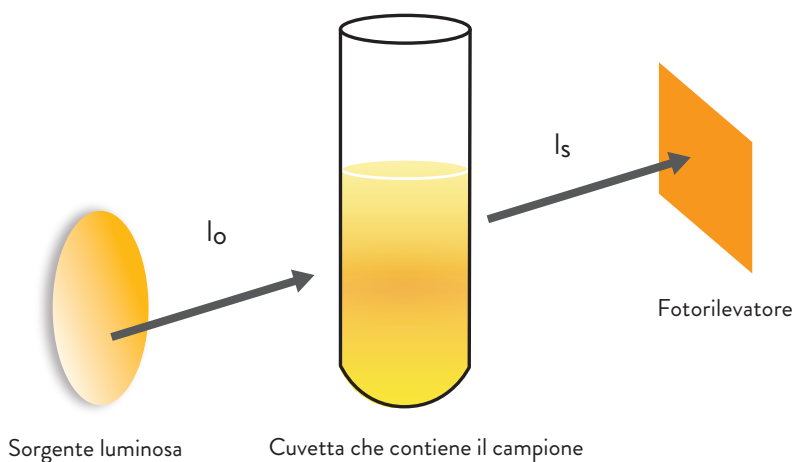


Figura 2-2: Fotometria dell'assorbimento.

I composti che non hanno una colorazione visibile spesso assorbono la luce nella gamma dell'ultravioletto ed è possibile utilizzare la relativa assorbanza esattamente come accade per l'assorbanza della luce visibile. La lunghezza d'onda specifica della luce scelta si basa sulle proprietà di assorbimento del composto sottoposto a misurazione.

Con l'aumentare della quantità di una sostanza nella soluzione, si riduce la quantità relativa di luce che passa attraverso la soluzione e raggiunge il fotorilevatore. Tale riduzione della luce viene definita assorbanza. Esiste una formula, denominata legge di Beer, che descrive la relazione tra concentrazione e luce assorbita. Per un determinato metodo, $A = \epsilon lc$ dove ϵ sia il coefficiente di estinzione, l la lunghezza della cuvetta e c la concentrazione.

Legge di Beer

$A = \epsilon lc$; ϵ = coefficiente di estinzione; l = lunghezza della cuvetta; c = concentrazione

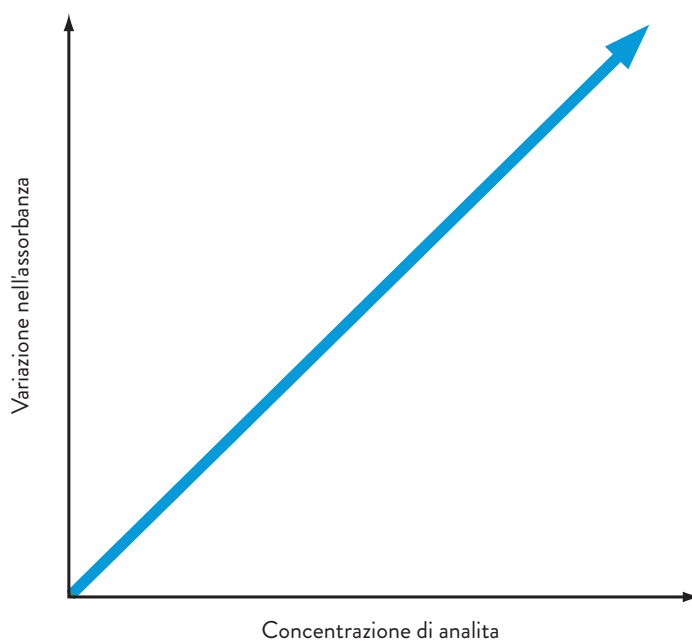


Figura 2-3: Legge di Beer.

TURBIDIMETRIA E NEFELOMETRIA

Alcune analisi si basano sulla formazione di particelle non solubili che interferiscono con il passaggio della luce attraverso la soluzione. L'analita reagisce con un reagente aggiunto per produrre particelle non solubili che restano sospese nella soluzione. Quando la luce colpisce tali particelle, una parte viene riflessa in varie direzioni. A una maggiore concentrazione dell'analita corrisponde un maggior numero di particelle che impediscono il passaggio della luce attraverso la soluzione facendo aumentare la quantità di luce riflessa.

È possibile misurare la riduzione della luce che passa direttamente attraverso la soluzione (turbidimetria) o l'aumento della luce riflessa in una direzione diversa (nefelometria). In turbidimetria, il rivelatore viene posizionato in asse con la luce incidente e la luce rilevata diminuisce con l'aumentare delle particelle di analita presenti. In nefelometria, il rivelatore viene posizionato angolato rispetto al percorso del fascio luminoso, per evitare il rilevamento della luce che passa attraverso il campione. Il dispositivo nefelometrico rileva la luce diffusa dalle particelle; la quantità di luce che raggiunge il rivelatore aumenta con l'aumentare del numero di particelle di analita presenti. Spesso questi metodi si utilizzano con degli anticorpi e rappresentano un tipo di analisi immunometrica, nello specifico, immunoturbidimetria e immunonefelometria. Gli anticorpi presenti nei reagenti provocano la formazione di complessi o lattici con le molecole dell'analita e questi grandi aggregati di particelle migliorano la riflessione della luce, facendo aumentare il segnale analitico misurato.

I metodi turbidimetrico e nefelometrico vengono spesso scelti per misurare proteine quali la transferrina o la prealbumina, due importanti proteine di trasporto del sangue. Le proteine sono molecole relativamente grandi che si possono facilmente legare con cross-link mediante anticorpi selettivi, in modo da produrre particelle aggregate delle dimensioni più adatte a riflettere la luce nella gamma visibile o della luce ultravioletta. Le analisi per alcune droghe di abuso consentono di quantificare la concentrazione della sostanza nel campione del paziente misurando le variazioni di torbidità provocate dalla competizione tra la sostanza nel campione del paziente e la sostanza legata a microparticelle con gli anticorpi aggiunti alla soluzione.

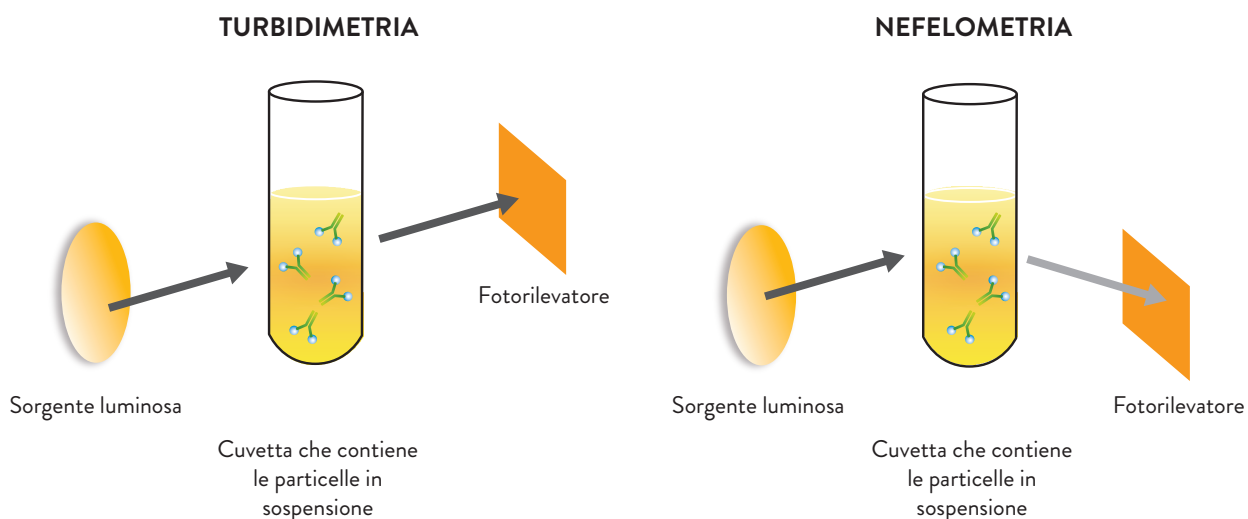


Figura 2-4: Turbidimetria e nefelometria.

FLUORESCENZA

Alcuni tipi di strutture chimiche sono in grado di assorbire la luce su una lunghezza d'onda e di emettere luce su un'altra lunghezza d'onda. Tali sostanze sono denominate composti fluorescenti o fluorofori. In ogni caso la luce incidente è su una lunghezza d'onda più corta e a un'energia più elevata della luce emessa. Quindi una sostanza che assorbe la luce blu (lunghezza d'onda 400) può emettere una luce verde a energia più bassa (lunghezza d'onda 500).

Il rivelatore viene posizionato a un angolo di 90° rispetto alla luce incidente, in modo da rilevare solo la luce emessa e non quella incidente residua che passa direttamente attraverso il campione o quella riflessa dal campione o dalla cuvetta. La concentrazione del composto fluorescente è direttamente proporzionale alla quantità di luce emessa dal campione.

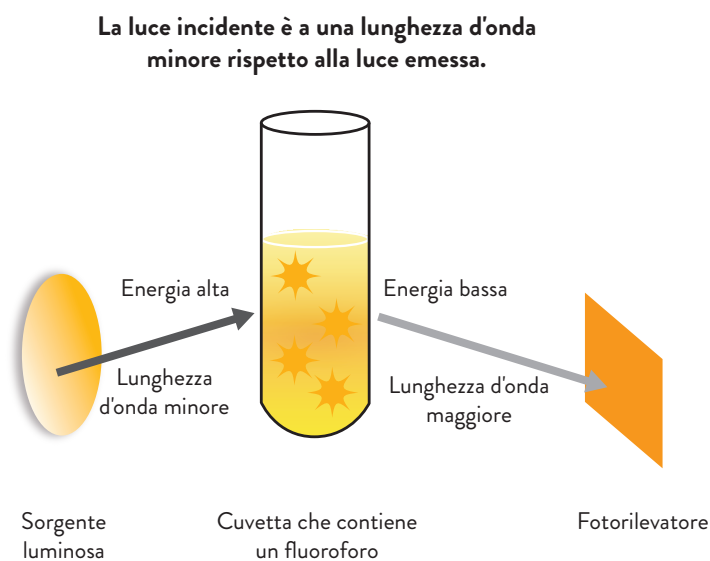


Figura 2-5: Fotometria fluorescente.

Gli analiti di interesse in chimica clinica non sono fluorescenti per natura. Vengono invece incorporate delle molecole fluorescenti come reagenti che aiutano a rilevare gli analiti. Ad esempio, per i metodi immunologici per la misurazione dei marker tumorali come il CA-125 (marker del cancro alle ovaie) e il CA15-3 (marker del cancro al seno) si utilizzano anticorpi con associato un composto fluorescente. L'anticorpo riconosce e si lega al marker tumorale. Gli anticorpi in eccesso (non legati) vengono eliminati e la quantità di luce fluorescente generata è direttamente proporzionale alla quantità di marker tumorale presente nel campione.

Chemiluminescenza è l'emissione di luce che deriva da una reazione chimica. È simile alla fluorescenza, esistono infatti delle molecole che, a causa della propria struttura, quando reagiscono con altre molecole producono luce invece che calore. Per alcuni metodi immunologici per la misurazione degli ormoni e dei marker tumorali si utilizza una molecola chemiluminescente. Dopo che un anticorpo selettivo si è legato all'analita nel campione del paziente, gli anticorpi non legati vengono separati da quelli legati, mentre viene aggiunto un secondo anticorpo legato a una molecola chemiluminescente. Una volta stabilito il legame con il complesso creato dal primo anticorpo, si aggiunge alla miscela una sostanza chimica al fine di creare un segnale chemiluminescente proporzionale alla quantità di analita presente nel campione. Una variante di questa tecnica prevede la generazione del segnale chemiluminescente mediante pulsazioni trasmesse alla miscela con una corrente elettrica, che sostituisce la reazione chimica. Questo metodo viene denominato elettrochemiluminescenza.

POTENZIOMETRIA

La potenziometria si basa sulla misurazione di un potenziale elettrico tra due elettrodi. Uno degli elettrodi (il sensore di misurazione) reagisce al contatto con gli ioni presenti nella soluzione. Il potenziale tra il sensore di misurazione e un elettrodo di riferimento stabile cambia con il variare della concentrazione degli ioni. I metodi potenziometrici sono più indicati per la misurazione degli ioni (elettroliti) quali il sodio, il potassio e il cloro.

La variazione della tensione è una funzione complessa della concentrazione di ciascuno ione descritta in una relazione logaritmica denominata equazione di Nernst.

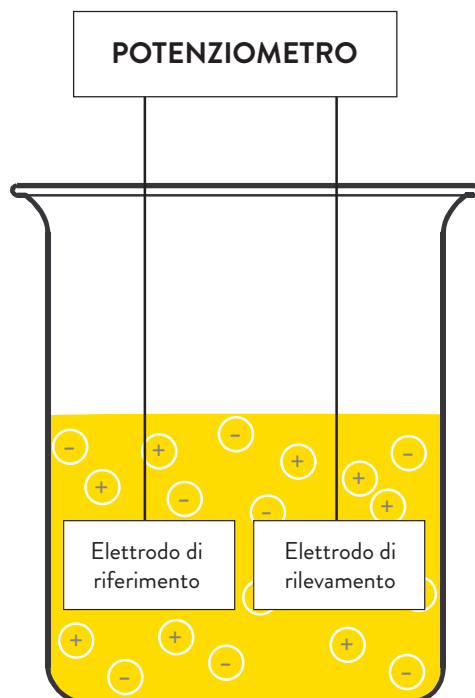


Figura 2-6: Analisi degli elettroliti.

La potenziometria misura l'attività degli ioni o la concentrazione degli ioni nella soluzione. Poiché gli ioni interagiscono tra loro e con l'acqua nei campioni reali, i campioni clinici non rappresentano l'opzione ideale. La misurazione della concentrazione effettiva di uno ione richiederebbe una soluzione diluita all'infinito, in cui si annullerebbero tutte le interazioni tra gli ioni. La differenza tra la concentrazione misurata dagli elettrodi in laboratorio e la concentrazione in una soluzione idealmente diluita viene descritta dal coefficiente di attività. Il coefficiente di attività è costante in determinate condizioni. Tuttavia, le differenze in termini di calore, pH, forza ionica e miscela del campione possono alterare la relazione tra attività misurata e concentrazione risultante. Ne consegue che molti analizzatori chimici diluiscono il campione in una soluzione a forza ionica predefinita ed eseguono l'analisi in condizioni controllate, al fine di neutralizzare tali fonti di errore. Questo metodo viene definito come "indiretto", perché il campione viene diluito prima della misurazione potenziometrica. I metodi diretti, come quelli adottati dagli analizzatori del gas nel sangue, consentono di misurare l'attività ionica nel sangue intero e di controllare le condizioni con un blocco termico.

ENDPOINT E CINETICA

Quando viene rilevato un analita mediante una reazione chimica, esistono due opzioni per valutarne la concentrazione. Uno consiste nell'attendere fino a che la reazione non si completa e l'intera quantità di analita viene convertita in prodotto (metodo definito reazione endpoint). L'altro prevede la misurazione della velocità del cambiamento nel tempo del prodotto che si forma (modalità definita cinetica).

REAZIONI ENDPOINT

Le reazioni endpoint sono particolarmente indicate per le reazioni chimiche che si completano in tempi relativamente brevi e che sono "stoichiometriche", vale a dire che producono una singola molecola o complesso per ogni molecola di analita. Una reazione di albumina, ad esempio, con il colorante bromocresolo porpora (BCP) produce un complesso colorato. Se si lascia che la reazione continui fino a che l'albumina presente nella soluzione non completa la reazione e si forma la quantità massima di prodotto colorato, il colore alla fine della reazione è una funzione della quantità totale di albumina in termini di complesso albumina-colorante.

Le reazioni endpoint consentono di misurare la creazione di un prodotto o la perdita di reattante. Se il metodo misura la creazione di un prodotto, l'assorbanza risulta maggiore all'endpoint rispetto al punto iniziale (reazione end-up). Se il metodo misura la scomparsa di un reattante, l'assorbanza risulta inferiore all'endpoint rispetto al punto iniziale (reazione end-down).

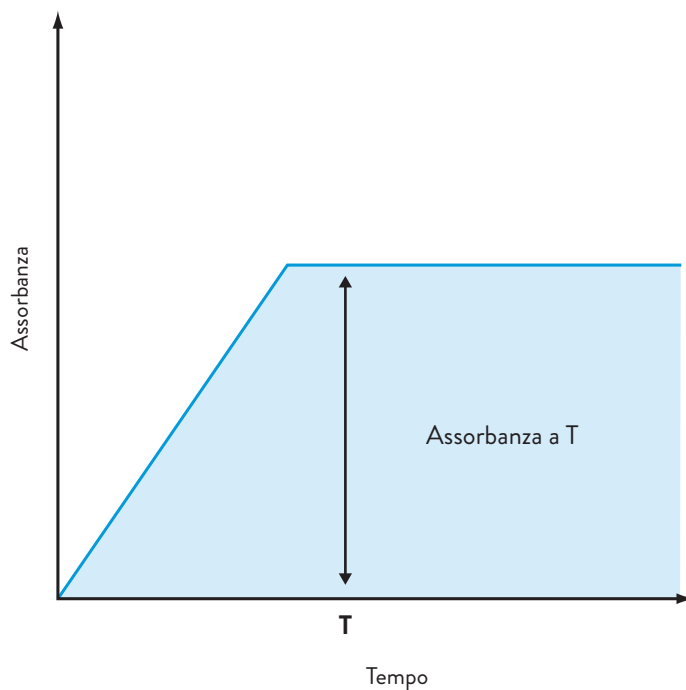


Figura 2-7: Reazione endpoint.

CINETICA

Se l'analita è un enzima, una molecola in grado di catalizzare la conversione di un numero illimitato di molecole reagenti (denominati substrati) in prodotto, la quantità di prodotto all'endpoint non rifletterà la quantità di enzima. All'endpoint si evidenzierà invece la quantità di substrato presente. Per questo motivo, l'attività di un enzima si determina misurando la cinetica della reazione invece della reazione endpoint. In tali casi la concentrazione dell'enzima si determina in base alla velocità con cui una quantità prefissata di substrato si converte in prodotto. Maggiore la quantità di enzima presente, più veloce sarà la conversione. Alcuni esempi di enzima che in genere si misurano nei laboratori clinici sono lipasi (un enzima della digestione che consente di valutare le patologie pancreatiche) e alanina aminotransferasi (un enzima responsabile dell'interconversione degli amminoacidi che consente di misurare le patologie epatiche).

La metodologia cinetica consente di misurare la comparsa di un prodotto o la scomparsa di un substrato. Quando si misura la comparsa di un prodotto, l'assorbanza tende ad aumentare nel tempo (reazione rate-up). Quando si misura la scomparsa di un substrato, l'assorbanza tende a diminuire nel tempo (reazione rate-down).

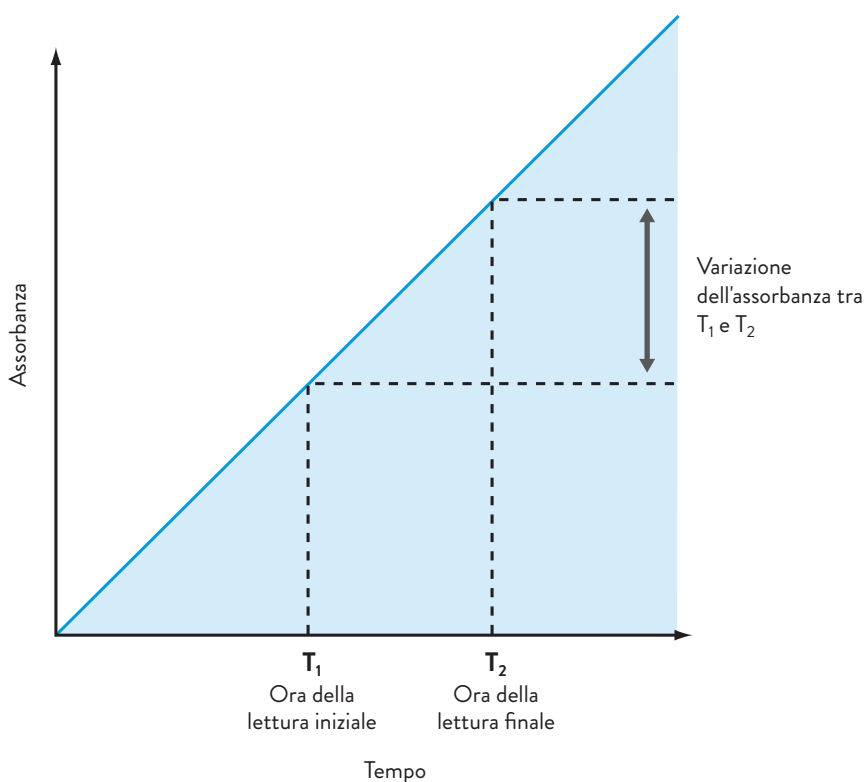


Figura 2-8: Cinetica.

La metodologia cinetica si può anche utilizzare per misurare analiti diversi dagli enzimi. Se, ad esempio, una reazione raggiunge molto lentamente l'endpoint, la metodologia cinetica può risultare più pratica al fine di ottenere i risultati in tempi più brevi. Alcuni esempi di analiti diversi dagli enzimi che si possono misurare con la metodologia cinetica sono l'ammoniaca (un prodotto di scarto del metabolismo delle proteine) e l'amikacina (un farmaco terapeutico).

CALIBRAZIONE

La calibrazione è l'importante processo che collega il segnale delle analisi alla concentrazione degli analiti.

Per la calibrazione si utilizzano una serie di soluzioni che contengono l'analita in concentrazioni note e si osserva il segnale prodotto a ogni livello di concentrazione. I risultati vengono espressi nel formato di una curva di calibrazione. Lo scopo della curva di calibrazione consiste nello stabilire una relazione tra la concentrazione dell'analita e il livello del segnale ottico o potenziometrico registrato dal dispositivo di misurazione. Tale relazione può essere lineare o non lineare (ad esempio, logaritmica o esponenziale).

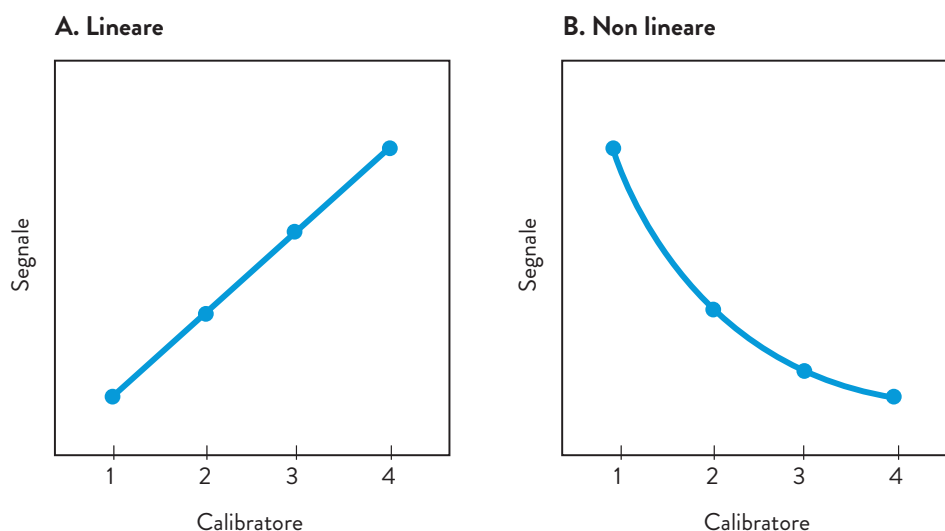


Figura 2-9: Curve di calibrazione.

La curva di calibrazione nel riquadro A illustra un segnale che aumenta in modo lineare con l'aumentare della concentrazione dell'analita. La curva nel riquadro B illustra un segnale che diminuisce in modo non lineare con l'aumentare della concentrazione dell'analita. L'interpolazione (se si uniscono i punti sul tracciato della calibrazione si ottiene la linea o curva ideale) stabilisce il segnale previsto per le concentrazioni di analita comprese tra il valore del calibratore più alto e quello più basso. Il segnale di ogni campione si può confrontare con la curva di calibrazione per determinare la concentrazione di analita che produce tale segnale.

Uno dei problemi posti dal processo di calibrazione è la determinazione dei segnali più basso e più alto che è possibile misurare in modo affidabile e correlare a una concentrazione di analita. Tali limiti di misurazione vengono dettati in parte dalle proprietà del metodo e in parte dalle proprietà dello strumento che si utilizza per le analisi. Il laboratorio o il produttore che sviluppa un metodo di analisi determina in genere la gamma delle misurazioni analitiche (AMR, altrimenti definita gamma dinamica) che definisce le quantità misurabili minime e massime. Alcune organizzazioni, come il Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; www.clsi.org), pubblicano le linee guida per la determinazione dell'AMR e di altre caratteristiche delle analisi cliniche.

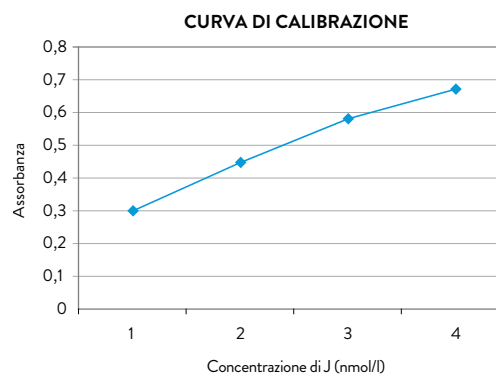
Idealmente tutti i campioni analizzati forniscono segnali compresi nell'AMR. Tuttavia, nel mondo clinico reale questo non sempre succede. Quando un segnale non rientra nell'AMR, non è possibile determinare con certezza la concentrazione di analita nel campione del paziente. Se il segnale è inferiore all'AMR, il risultato viene in genere riportato come inferiore al limite più basso dell'AMR o inferiore al calibratore più basso utilizzato nel laboratorio clinico. Se il segnale è superiore all'AMR, il risultato può essere riportato come maggiore del limite più alto dell'AMR o maggiore del calibratore più alto utilizzato nel laboratorio clinico. In alternativa è possibile diluire il campione per ottenere una concentrazione di analita che rientri nell'AMR e rieseguire l'analisi. Il valore misurato sul campione diluito viene quindi moltiplicato per il fattore di diluizione, al fine di ottenere la concentrazione nel campione originale.

In alcuni casi è possibile aggiungere altri campioni alla reazione di test allo scopo di far aumentare la concentrazione di analita nella miscela e farla rientrare nell'AMR. Il risultato finale verrà quindi corretto prima dell'emissione del referto in base al volume di campione aggiunto.

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 2

1. I metodi potenziometrici sono particolarmente utili per quali dei seguenti tipi di analiti?
 - A Proteine
 - B Elettroliti
 - C Droghe di abuso
 - D Lipidi
2. In un'analisi dell'albumina, tutta l'albumina reagisce molto rapidamente con un eccesso del colorante bromocresolo porpora (BCP) fino a produrre un complesso colorato. Il rilevatore è impostato in modo da misurare il complesso del prodotto. Qual è la metodologia più indicata per la valutazione dell'albumina?
 - A Endpoint (end-up)
 - B Endpoint (end-down)
 - C Cinetica (rate-up)
 - D Cinetica (rate-down)
3. La transferrina reagisce con un anticorpo specifico fino a produrre complessi immuni. Qual è la metodologia più indicata per misurare la concentrazione di transferrina?
 - A Immunturbidimetria
 - B Fluorescenza
 - C Potenzimetria
 - D Nessuna di queste
4. Qual è la migliore stima della concentrazione della sostanza J in un campione con assorbanza pari a 0,50?
 - A Tra 1 e 2 nmol/l
 - B Tra 2 e 3 nmol/l
 - C Tra 3 e 4 nmol/l
 - D Più di 4 nmol/l

| CONCENTRAZIONE DEL CALIBRATORE DI J (nmol/L) | ASSORBANZA |
|--|------------|
| 1 | 0,30 |
| 2 | 0,45 |
| 3 | 0,58 |
| 4 | 0,67 |



SEZIONE 3

STRATEGIE DI ANALISI PER LA SELEZIONE DI UN ANALITA SPECIFICO

PANORAMICA

In questa sezione si descrivono le strategie per la misurazione di un analita quando questo è presente in una miscela complessa di molecole biologiche. Vengono descritti i diversi approcci comunemente utilizzati per la selezione dell'analita di interesse ed eliminare o ridurre al minimo le potenziali interferenze con altre sostanze che potrebbero essere presenti nel campione.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Descrivere alcune delle strategie di misurazione di un analita di interesse in fluidi biologici complessi
- Spiegare in che modo si misura un analita enzimatico o un analita che sia il substrato di un enzima
- Fornire degli esempi di pretrattamento per l'eliminazione di potenziali interferenze con altre sostanze
- Fornire esempi di utilizzo degli anticorpi per la selezione degli analiti

CONCETTI CHIAVE

1. Il "blinking" consente di correggere il colore di sfondo nelle reazioni endpoint.
2. La finestra temporale prescelta per la metodologia cinetica consente di ottimizzare la misurazione dell'analita di interesse.
3. I dosaggi enzimatici, i dosaggi immunometrici e gli elettrodi ione-selettivi sono approcci comuni per la selezione di un analita di interesse.
4. Le tecniche di separazione applicate prima delle analisi consentono di isolare l'analita di interesse dai composti che potrebbero interferire.

La misurazione di una sostanza che fa parte di una miscela di sostanze complessa è particolarmente difficile da ottenere. Un metodo di misurazione che si è dimostrato utile per la determinazione della quantità di un analita in forma relativamente pura potrebbe rivelarsi del tutto inadeguato quando l'analita si trova in una miscela di cellule, proteine, lipidi, carboidrati e minerali. I metodi di analisi degli analiti in miscele biologiche complesse richiedono l'adozione di approcci specifici, che consentano di ridurre al minimo o eliminare l'interferenza con altre sostanze. Nelle sezioni riportate di seguito sono descritti in maggior dettaglio alcuni degli approcci adottati più di frequente in chimica clinica, come il blanking, le metodologie cinetiche, il pretrattamento, la specificità del reagente e gli elettrodi ione-selettivi.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015.

BLANKING PER LE REAZIONI ENDPOINT

Con il termine "blanking" si intende una correzione dei costituenti di sfondo che contribuiscono in modo diretto al segnale oggetto della misurazione. Nel caso di una reazione colorimetrica, il blanking misura il colore di sfondo innato nel campione. La sottrazione dell'assorbanza dello sfondo dall'assorbanza finale garantisce che il colore di sfondo non venga erroneamente attribuito all'analita.

Nella misurazione dell'albumina, ad esempio, con il bromocresolo verde (BCG), la quantità di albumina viene calcolata in base all'assorbanza della luce a una lunghezza d'onda di 628 nm, ovvero la luce assorbita dal complesso albumina-colorante di colore verde. L'assorbanza si utilizza per calcolare la quantità di albumina presente sulla base di una curva di calibrazione (vedere la Sezione 2 per informazioni sulla calibrazione). Tuttavia, se nel sangue sono presenti altre sostanze che assorbono la luce a 628 nm, la corrispondente lettura dell'assorbanza potrebbe essere attribuita erroneamente all'albumina e la concentrazione di albumina risultante apparirebbe maggiore di quella reale.

Per correggere l'errore indotto da tali sostanze, è possibile misurare l'assorbanza della soluzione prima dell'aggiunta del colorante e utilizzare solo la variazione dell'assorbanza rispetto a tale valore iniziale per calcolare la concentrazione di albumina. In alternativa, si può diluire il campione con una soluzione non reattiva, ad esempio la soluzione fisiologica, in una seconda cuvetta e utilizzare l'assorbanza del campione diluito per correggere il risultato.

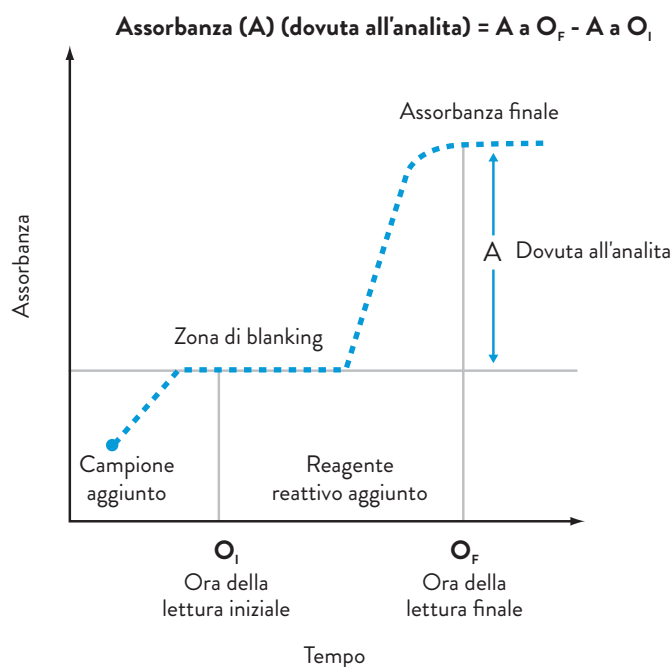


Figura 3-1: Blanking: correzione della contribuzione delle sostanze che interferiscono mediante la sottrazione dal segnale all'endpoint del segnale precedente all'aggiunta del reagente.

Tre delle sostanze più comuni presenti nel siero e nel plasma che interferiscono sono l'emoglobina (dai globuli rossi), i lipidi (come i trigliceridi), che in concentrazioni elevate intorbidiscono la soluzione, e la bilirubina (un prodotto giallo-arancio risultante dalla rottura dell'emoglobina). Queste tre sostanze si rilevano così spesso nei campioni che viene in genere adottato un approccio specifico per valutare la loro presenza e correggere l'interferenza creata nelle analisi ottiche. Ulteriori informazioni su queste sostanze sono riportate nella Sezione 5, nella descrizione degli indici HIL.

UTILIZZO DELLA FINESTRA TEMPORALE SELEZIONATA PER LA METODOLOGIA CINETICA

In alcuni casi le sostanze presenti nel campione reagiscono con i reagenti fino a creare prodotti che assorbono la luce sulla stessa lunghezza d'onda del prodotto dell'analita. In questi casi il blanking prima dell'aggiunta del reagente non consente di correggere l'interferenza di tali sostanze, poiché il colore non si forma fino a che il reagente non viene aggiunto. In molti casi, tuttavia, è possibile scegliere le condizioni di reazione (come il pH della soluzione o la concentrazione dei reagenti) in modo che le sostanze che interferiscono reagiscano in un momento diverso rispetto all'analita di interesse. La sostanza che interferisce può reagire più velocemente e consumarsi prima dell'analita di interesse oppure può reagire più lentamente e contribuire limitatamente o per niente nel primo periodo della reazione. Se la sostanza reagisce più rapidamente, la misurazione viene eseguita in momenti successivi nel corso della reazione, quando la velocità di variazione del colore riflette esclusivamente l'analita di interesse. Se la sostanza reagisce più lentamente, la misurazione viene eseguita in momenti precedenti della reazione, quando la variazione del colore dipende soprattutto dall'analita di interesse.

Una dimostrazione di quanto possa essere utile la definizione di una finestra temporale in una reazione con metodologia cinetica è l'uso del metodo Jaffe per la creatinina. Nel caso della reazione Jaffe la creatinina reagisce con una soluzione di picrato alcalino fino a formare un prodotto rosso-arancio. Tuttavia sono molte le sostanze presenti nei campioni biologici che reagiscono con il picrato alcalino e formano un prodotto rosso-arancio. Alcune di queste sono acetoacetato e proteina. Si è però scoperto che l'acetoacetato reagisce completamente entro i primi 20 secondi e che la proteina evidenzia un periodo di quiescenza e reagisce solo dopo uno o due minuti. Di conseguenza in una finestra temporale che inizi dopo i primi 20 secondi e termini entro il primo minuto è possibile misurare il prodotto formato dalla creatinina, con un'interferenza molto limitata da parte dell'acetoacetato o della proteina.

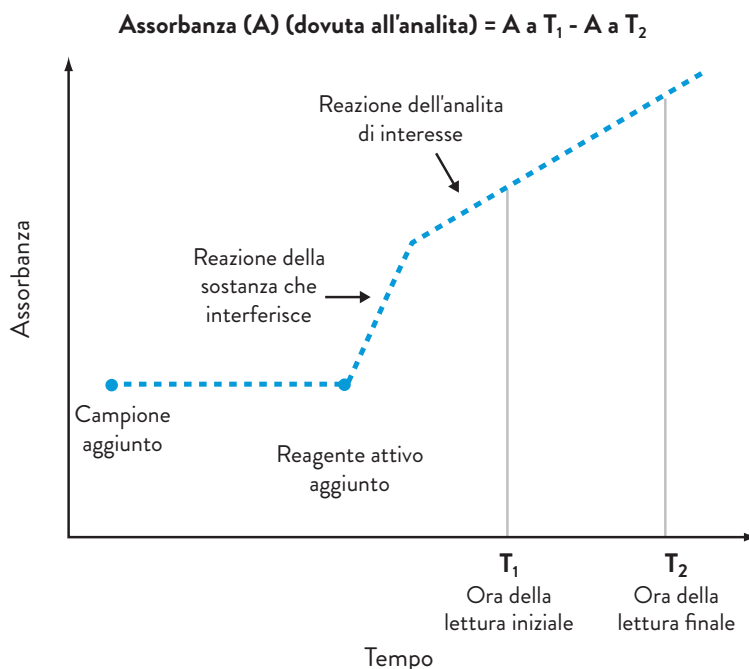


Figura 3-2: Reazione cinetica con tempi di misurazione selezionati per rilevare l'analita di interesse.

PRETRATTAMENTO

In alcuni casi è possibile trattare il campione prima delle analisi per rimuovere fisicamente o chimicamente le sostanze che potrebbero interferire. Il pretrattamento si può eseguire "offline" o "online". Il pretrattamento eseguito "offline" prevede che il trattamento venga completato in una fase manuale, prima del caricamento del campione in un analizzatore automatizzato oppure prima del posizionamento della cuvetta di reazione per le analisi. Quando il pretrattamento è eseguito "online", il trattamento è automatizzato con l'analizzatore e viene eseguito nel contesto dell'intero processo di analisi, in genere nella medesima cuvetta di reazione utilizzata per la fase di misurazione.

La misurazione della lipoproteina ad alta densità (HDL) del colesterolo, in genere circa il 25% del colesterolo totale nel siero, richiede la rimozione di tutto il colesterolo non HDL come quello LDL (lipoproteina a bassa densità) e VLDL (lipoproteina a densità molto bassa) prima della fase di misurazione. Il pretrattamento si può eseguire offline o online.

PRETRATTAMENTO OFFLINE

Il pretrattamento offline prevede la miscelazione del siero con un agente, quale il glicole polietilenico (PEG), che reagisce con le particelle di colesterolo non HDL. Questa fase è un esempio di pretrattamento offline perché viene eseguita manualmente e non automaticamente su un analizzatore. Il campione di siero viene miscelato con PEG e si forma un precipitato che contiene le particelle di LDL e VLDL. È possibile spingere il precipitato verso il fondo della provetta centrifugando, in modo da ottenere una soluzione trasparente che contenga l'HDL. Tale soluzione trasparente viene quindi utilizzata come campione per il colesterolo HDL. Le analisi comprendono il trattamento con un reagente specifico del colesterolo, come la colesterolo esterasi, che genera un prodotto che si può sottoporre a misurazione fotometrica.

PRETRATTAMENTO ONLINE

L'approccio online prevede un trattamento con reagente in due fasi del campione nella cuvetta di reazione. Nella prima fase si introduce un reagente (colesterolo ossidasi) che distrugge selettivamente il colesterolo non HDL che non è legato alla lipoproteina, lasciando solo l'HDL nella soluzione. Nella seconda fase viene rilevato il colesterolo HDL rimanente mediante una reazione con un reagente specifico per il colesterolo, come la colesterolo esterasi, che genera un prodotto che si può sottoporre a misurazione fotometrica.

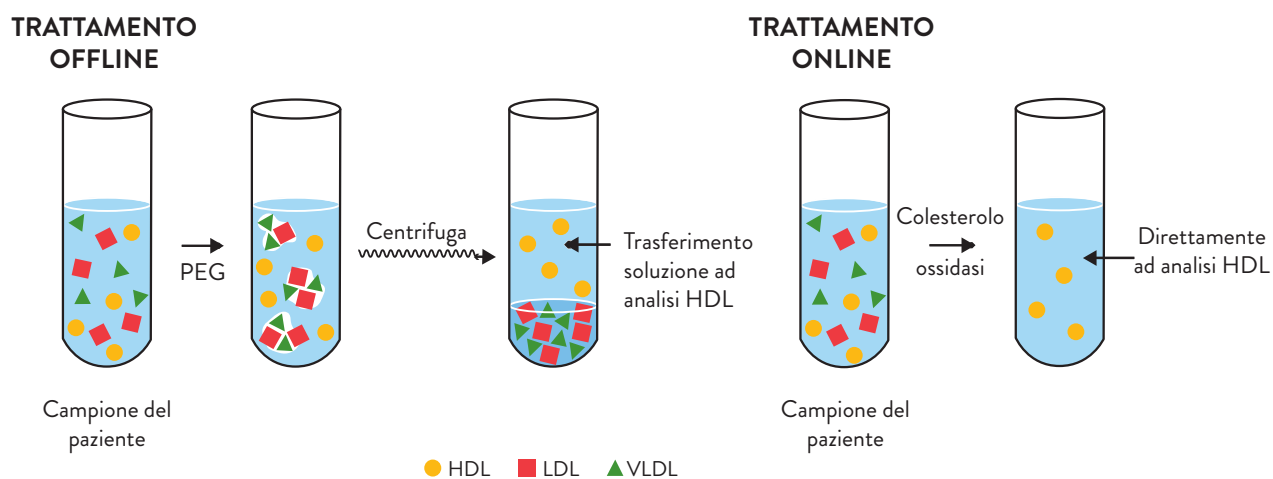


Figura 3-3: Misurazione dell'HDL.

SCELTA DI METODI ALTAMENTE SELETTIVI

ENZIMI

Gli enzimi sono catalizzatori biochimici (sostanze che aumentano la velocità di una reazione biochimica senza essere consumati nella reazione). Sono spesso estremamente selettivi per una, ed esclusivamente una, struttura chimica. La struttura chimica su cui agisce specificamente l'enzima viene definita substrato. Le reazioni enzimatiche si possono utilizzare per la determinazione della concentrazione di un substrato o dell'attività di un enzima.

Un enzima è un catalizzatore biochimico, una sostanza che aumenta la velocità di una reazione senza essere consumata nella reazione. Ogni enzima catalizza la conversione di una molecola specifica, definita substrato.

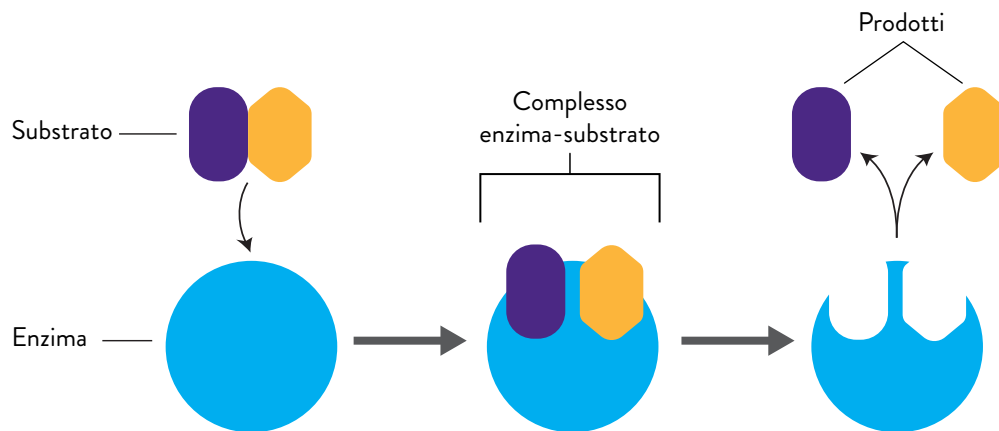


Figura 3-4: L'enzima attacca il substrato per generare un prodotto misurabile fotometricamente.

RILEVAMENTO DEI SUBSTRATI

Per molti analiti nei fluidi biologici, come glucosio, colesterolo, bilirubina o creatinina, la natura ha fornito enzimi che reagiscono in modo selettivo con queste importanti molecole. Gli enzimi si possono utilizzare per catalizzare la conversione di queste molecole (substrati) in reazioni che generano prodotti da osservare fotometricamente. Il glucosio, ad esempio, può essere convertito con l'enzima esochinasi in glucosio-6-fosfato, che a sua volta si può utilizzare per produrre una molecola di nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADPH). Viene prodotta una molecola di NADPH per ogni molecola di glucosio. Il NADPH si può misurare nella regione dell'ultravioletto a 340 nm. Il rilevamento di un substrato biologico come il glucosio si può eseguire come reazione endpoint misurando la quantità massima di NADPH che si forma oppure in modalità cinetica misurando la velocità con cui si forma il NADPH.



RILEVAMENTO DEGLI ENZIMI

Per la determinazione dell'attività enzimatica è necessario ricorrere alla modalità cinetica. Molti analiti di interesse sono essi stessi enzimi (vedere le sezioni 1 e 6 per ulteriori informazioni sulla misurazione degli enzimi nei laboratori clinici). Per misurare la quantità di un enzima presente, si utilizza un substrato che viene riconosciuto esclusivamente dall'enzima di interesse. L'enzima lipasi, ad esempio, rilascia acidi grassi da trigliceridi e digliceridi. L'attività della lipasi si misura utilizzando i prodotti dall'azione della lipasi sui digliceridi per generare le molecole di glicerolo. Le molecole di glicerolo generano un prodotto colorato che assorbe la luce a 548 nm. La velocità con cui aumenta l'assorbanza a 548 nm è una funzione dell'attività della lipasi. La reazione enzimatica si può accoppiare e verificare in più fasi nell'ambito di un'analisi chimica.

| | | | |
|---------------------------|--|---|--|
| LIPASI PANCREATICA | 1,2-digliceride + H ₂ O | → | 2-monogliceride + acido grasso |
| MGLP | 2-monogliceride + H ₂ O | → | glicerolo + acido grasso |
| GK | glicerolo + ATP | → | glicerolo-3-fosfato + ADP |
| GPO | glicerolo-3-fosfato + O ₂ | → | diidrossiacetone fosfato + H ₂ O ₂ |
| POD | 2H ₂ O ₂ + 4-amminoantipirina + TOOS | → | colorante chinone + H ₂ O ₂ |

ANTICORPI

Gli anticorpi (immunoglobuline) vengono create dal sistema immunitario come risposta diretta a sostanze esterne definite antigeni. L'esposizione deliberata di un animale a un antigene (immunizzazione) genera anticorpi specifici per l'antigene. Gli antigeni si possono analizzare come le proteine (ad esempio, la transferrina) o i farmaci (ad esempio, l'amikacina). Gli anticorpi prodotti mediante questo tipo di immunizzazioni vengono definiti anticorpi "anti - (nome dell'analita)". Ad esempio, gli anticorpi prodotti da una capra contro una proteina di transferrina umana vengono definiti anticorpi anti-transferrina umana di capra. Gli anticorpi prodotti da un coniglio contro l'amikacina vengono chiamati anticorpi anti-amikacina di coniglio. Gli anticorpi si possono utilizzare per misurare selettivamente la transferrina o l'amikacina in un campione di siero umano. Alcuni esempi di formati di dosaggi con l'utilizzo di anticorpi (dosaggi immunometrici) sono:

IMMUNOPRECIPITAZIONE (COMPLESSI IMMUNI)

Gli anticorpi agli antigeni della proteina si possono legare a più siti (o epitopi) sulla molecola della proteina e possono creare cross-link con molte molecole della stessa proteina, fino a formare un composto precipitato insolubile costituito esclusivamente da anticorpi e molecole di antigene. Tale immunoprecipitato si può rilevare con il metodo turbidimetrico. La transferrina, ad esempio, si può miscelare con gli anticorpi anti-transferrina per quantificare l'immunoprecipitato risultante con un metodo turbidimetrico o in una reazione endpoint.

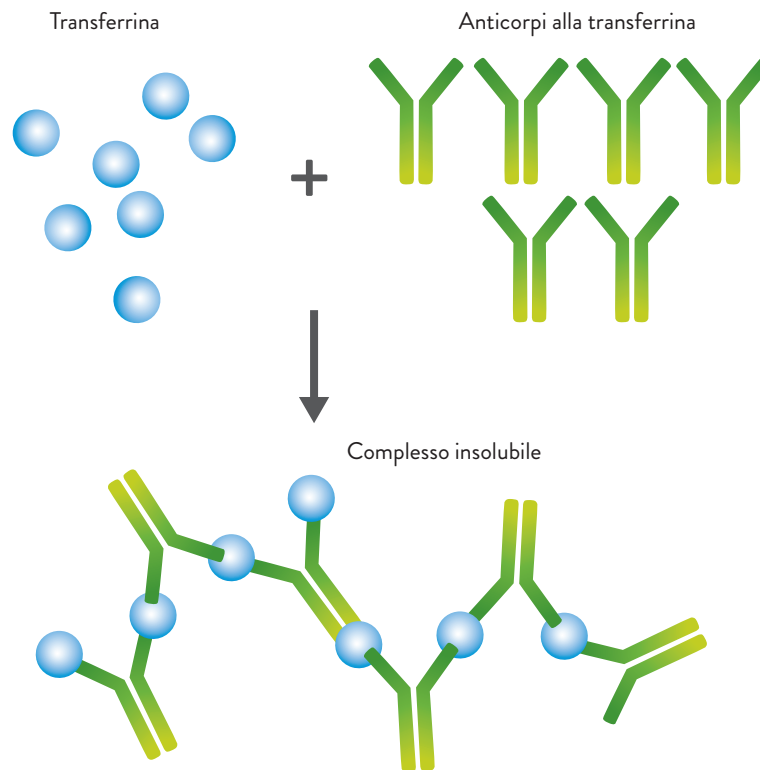


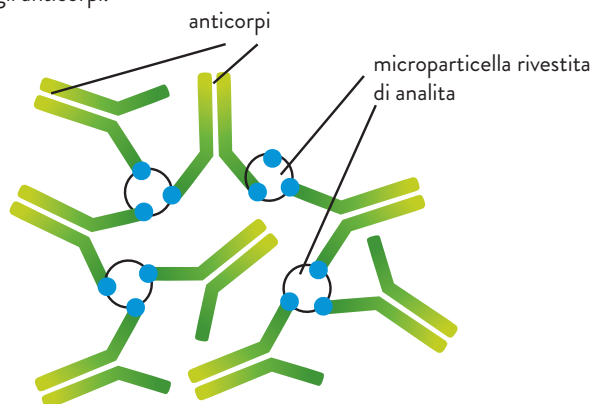
Figura 3-5: Immunoprecipitazione della transferrina: formazione di grandi complessi di anticorpi e transferrina legati in cross-link.

IMMUNOTURBIDIMETRIA DI INIBIZIONE CON AMPLIFICAZIONE DELLE PARTICELLE (PETINIA) E IMMUNOTURBIDIMETRIA CON AMPLIFICAZIONE DELLE PARTICELLE (PETIA)

Quando l'analita è una piccola molecola che non è possibile legare in cross-link fino a produrre un immunoprecipitato, è possibile ricorrere a un metodo turbidimetrico. Una microparticella è rivestita di analita. Quando è sospesa in una soluzione, la microparticella è troppo piccola per interferire con la luce che passa attraverso la soluzione. Quando però si aggiungono gli anticorpi all'analita, le particelle aggregate in complessi più grandi impediscono il passaggio della luce e si possono misurare mediante turbidimetria. Quando nel campione di un paziente è presente l'antigene, questo compete per gli anticorpi e impedisce l'aggregazione. Se, ad esempio, l'amikacina ricopre delle microparticelle e tali particelle di amikacina vengono miscelate con un campione di siero che contiene amikacina, il segnale turbidimetrico al momento dell'aggiunta degli anticorpi anti-amikacina sarà molto inferiore rispetto a quando il farmaco che compete per gli anticorpi non è presente. Una velocità inferiore nella formazione delle particelle che impediscono il passaggio della luce può essere correlata alla quantità di amikacina nel campione di siero. In una variante di questa tecnica, è possibile ricoprire le microparticelle con anticorpi a un analita, magari una proteina come la β_2 microglobulina (B2M). Se l'analita è legato dagli anticorpi alle microparticelle, si formano degli immunocomplessi che disperdono la luce. Un aumento della luce dispersa si può correlare alla concentrazione di analita nel campione del paziente.

In assenza di un farmaco nella soluzione del campione, le particelle si legano estensivamente in cross-link con gli anticorpi.

In assenza di un farmaco nella soluzione del campione, le particelle si legano estensivamente in cross-link con gli anticorpi.



La presenza di un farmaco nella soluzione di un campione si può rilevare dalla diminuzione della torbidità dovuta a un numero minore di particelle legate in cross-link.

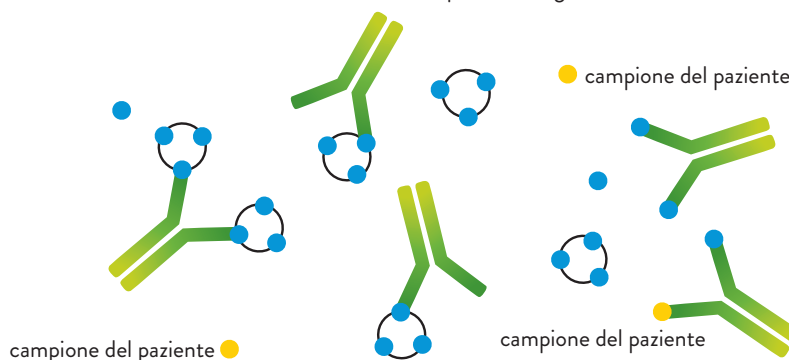
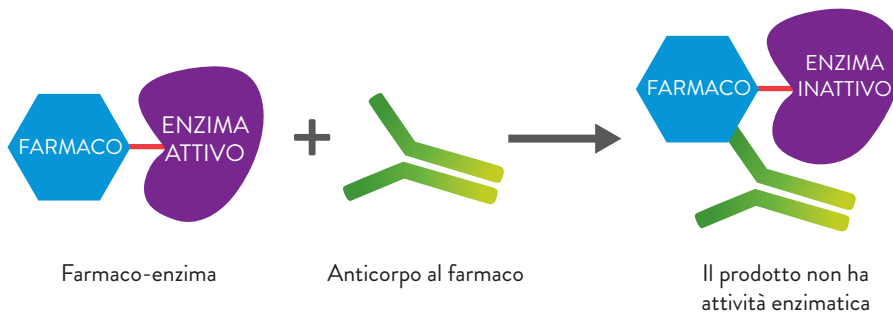


Figura 3-6: PETIA (Particle Enhanced Turbidimetric Immunoassay, immunoturbidimetria con amplificazione delle particelle).

TECNICA DEL DOSAGGIO IMMUNOMETRICO A INIBIZIONE D'ENZIMA (EMIT)

In questa forma, un analita di interesse nel siero compete per gli anticorpi all'analita con una versione modificata del medesimo composto. La versione modificata si lega a un enzima. L'enzima resta attivo a meno che l'analita collegato non si leghi agli anticorpi. Ad esempio, la teofillina legata all'enzima glucosio-6-fosfato deidrogenasi genera un prodotto denominato nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADPH) che si può misurare con il metodo spettrofotometrico. Quando il complesso di teofillina-enzima si lega agli anticorpi anti-teofillina, non avviene alcuna reazione enzimatica e non viene prodotto NADPH. Se nel siero è presente il farmaco teofillina, questo può legarsi agli anticorpi anti-teofillina e sostituire il complesso enzima-teofillina, consentendo all'enzima, il cui sito attivo non è più bloccato dall'anticorpo, di produrre NADPH che si può misurare otticamente nell'area UV a 340 nm. Maggiore è la quantità di teofillina nel campione di siero, maggiore sarà la quantità di complesso enzima-teofillina e di NADPH prodotto.

L'aggiunta di un anticorpo anti-farmaco disattiva gli enzimi legati al farmaco annullando l'attività enzimatica.



Quando si include un campione che contiene un farmaco, il farmaco compete con il complesso farmaco-enzima per gli anticorpi, quindi non vengono disattivati tutti gli enzimi legati al farmaco. Maggiore è la quantità di farmaco nel campione, maggiore sarà l'attività enzimatica.

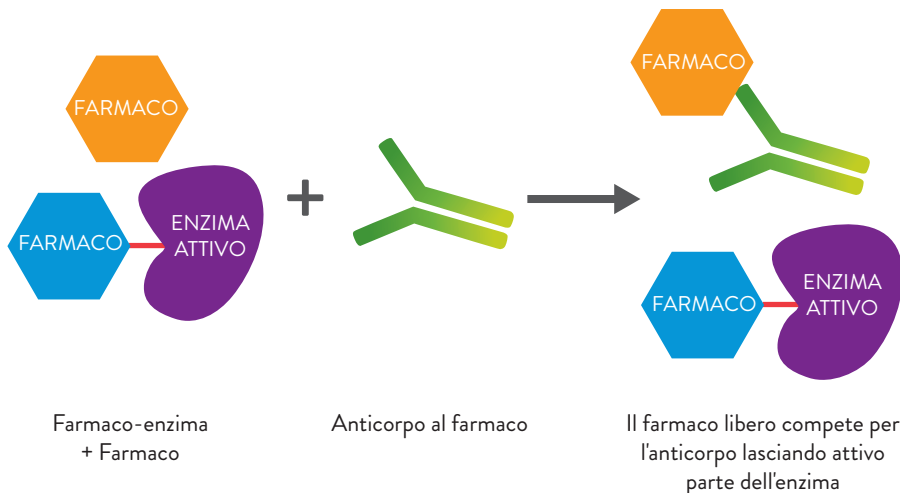


Figura 3-7: Tecnica EMIT (dosaggio immunometrico a inibizione d'enzima).

ELETTRODI IONO-SELETTIVI

Gli elettrodi ione-selettivi specificamente progettati (ISE) consentono di eseguire misurazioni potenziometriche di un singolo tipo di ione senza interferenze da parte di altri ioni. Alcuni degli ioni che si possono misurare in questo modo sono sodio (Na^+), potassio (K^+), cloro (Cl^-), litio (Li^+), calcio (Ca^{++}) e magnesio (Mg^{++}). Gli elettrodi di uso comune, come quelli delle batterie o delle celle chimiche, possono reagire con molti diversi tipi di ioni, ma gli ISE utilizzano delle membrane con permeabilità o sensibilità estremamente selettiva che consente di analizzare dimensioni e carica degli ioni. Le membrane sono spesso dotate di pori che limitano le dimensioni degli ioni che possono attraversare la membrana. Possono essere impregnate di composti chimici, definiti ionofori, che consentono il rilevamento solo di alcuni tipi di ioni selezionati da parte dell'elettrodo. Una membrana polimerica, ad esempio, che contenga uno ionoforo chiamato valinomicina seleziona in modo molto preciso il potassio, con una risposta minima o assente alle concentrazioni fisiologiche di altri ioni come sodio, calcio o magnesio. Un elettrodo ione-selettivo di questo tipo è ideale per la misurazione degli ioni di potassio in presenza di una concentrazione fisiologica di ioni di sodio, senza alcun bias provocato dalla presenza predominante degli ioni di sodio.

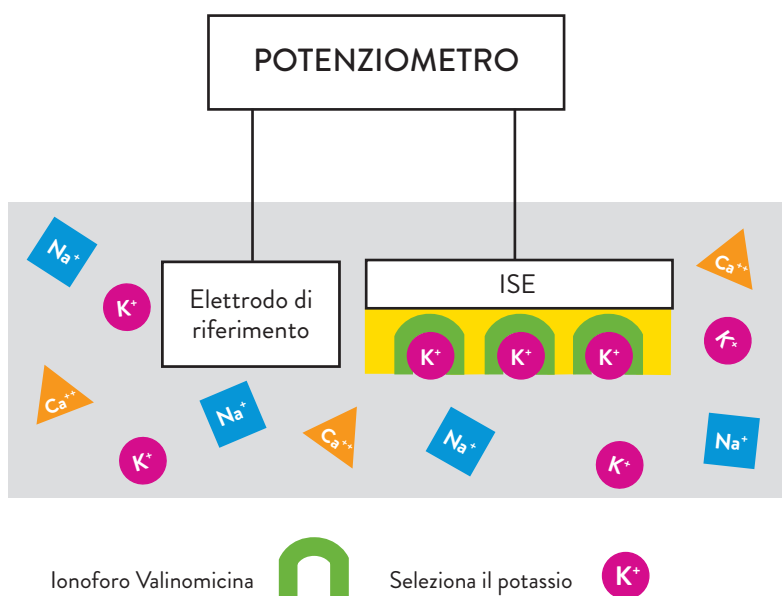


Figura 3-8: Elettrodo ione-selettivo.

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 3

1. Quando un campione di siero ha un colore intrinseco che assorbe alla medesima lunghezza d'onda utilizzata per il rilevamento del prodotto della reazione, quale tecnica può aiutare a distinguere il colore prodotto dall'analita dal colore intrinseco del campione?
 - A Blanking
 - B Immunoturbidimetria
 - C Elettrodo iono-selettivo
 - D PETINIA

2. Quale delle seguenti analisi si può eseguire con maggiore efficacia utilizzando la metodologia fotometrica cinetica?
 - A Misurazione dell'attività della lipasi
 - B Valutazione dell'albumina con il colorante bromocresolo verde
 - C Valutazione del potassio in presenza di sodio in eccesso
 - D Nessuna di queste analisi si può eseguire con la metodologia cinetica

3. Il pretrattamento consente di ottenere quale dei seguenti risultati?
 - A Garantire che la concentrazione di analita rientri nella gamma misurabile
 - B Rimuovere le sostanze che potrebbero essere misurate erroneamente come analita
 - C Regolare la lunghezza d'onda della luce impiegata per le analisi
 - D Introdurre un fluoroforo

4. Quale delle seguenti non è una metodologia tipica delle analisi di chimica clinica?
 - A Immunoturbidimetria
 - B Microscopia
 - C EMIT
 - D ISE

SEZIONE 4

ACCURATEZZA

PANORAMICA

In questa sezione vengono presentate le procedure utilizzate per stabilire l'accuratezza dei risultati delle analisi e introdotti alcuni concetti di statistica che descrivono quanto la misurazione si avvicina al valore reale.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Operare una distinzione tra precisione e accuratezza
- Descrivere il modo in cui vengono assegnati i valori del calibratore
- Identificare i ruoli di test di idoneità (PT)/controllo qualità esterno (EQA) e programmi di controllo qualità per garantire l'accuratezza dei risultati delle analisi

CONCETTI CHIAVE

1. Le analisi di laboratorio devono rispettare degli standard di precisione e accuratezza.
2. L'accuratezza, vale a dire l'approssimazione al valore reale, dipende da un processo di calibrazione valido.
3. L'assegnazione del valore del calibratore è collegata a un materiale di riferimento certificato, un metodo di riferimento riconosciuto o un processo di consenso che garantisca la "tracciabilità".
4. I laboratori utilizzano il controllo qualità e i test di idoneità per monitorare la precisione e l'accuratezza dei metodi di analisi.

In questa sezione si esamina il concetto di accuratezza e si descrivono le procedure che produttori e laboratori clinici utilizzano per garantire che un risultato messo a referto per un'analisi rifletta fedelmente la quantità di analita presente nel campione.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015, il sito web Lab Tests Online www.labtestsonline.org e i siti web dei programmi di standardizzazione www.cdc.gov/labstandards/crmln.html, www.ngsp.org, and www.ifcchbalc.net.

PRECISIONE E ACCURATEZZA

Se si paragona il valore reale di un analita al centro di un bersaglio, l'accuratezza equivale a fare centro ogni volta che si esegue una misurazione. L'inaccuratezza è l'opposto e corrisponde a mancare il centro del bersaglio o introdurre elementi di bias.

L'accuratezza dei metodi di analisi si può descrivere utilizzando i concetti di precisione e bias. La precisione invece è la riproducibilità di una misurazione. L'imprecisione è l'opposto ed è caratterizzata da un aumento della variabilità nelle misurazioni. Il bias è la deviazione dal valore reale (altrimenti noto come valore target). Nella **Figura 4-1** è illustrata la relazione tra precisione e accuratezza.

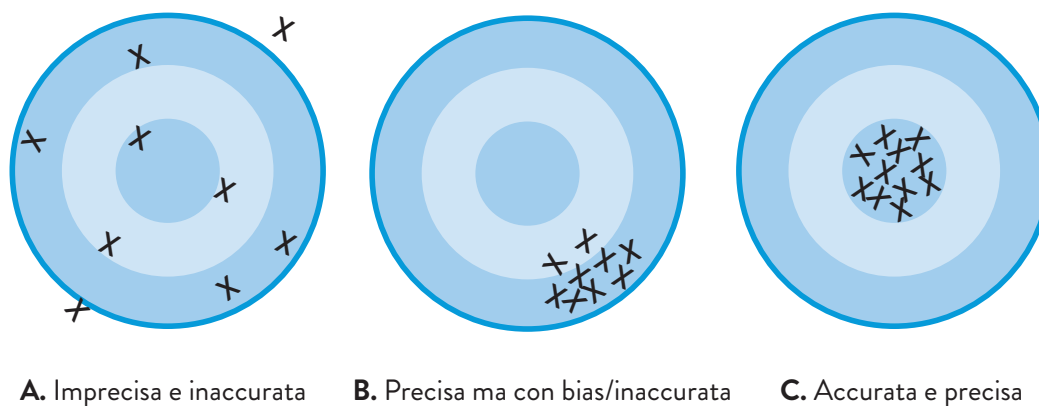


Figura 4-1: Precisione e accuratezza.

Se un campione viene diviso in più aliquote (un termine comune nei laboratori che indica la suddivisione di un campione in porzioni più piccole) e ciascuna di queste viene analizzata per verificare la quantità di analita presente, i risultati dovrebbero essere idealmente identici per tutte le aliquote. Questo accade di rado, perché tutte le modalità di analisi comportano una variabilità inerente. Quanto più prossimi sono i valori ottenuti, tanto più il metodo si dimostra preciso (riproducibile). Nel riquadro A è rappresentata un'imprecisione con valori molto diversi. Nei riquadri B e C, i metodi sono egualmente precisi (riproducibili) ma i risultati nel riquadro B sono molto diversi dal valore reale (bias), mentre i risultati nel riquadro C sono prossimi al valore reale (accurati) e precisi (riproducibili).

PRECISIONE

La precisione in genere è una funzione del metodo di analisi utilizzato. La precisione riflette la riproducibilità innata del segnale generato dalla soluzione sottoposta ad analisi e la stabilità dell'analizzatore utilizzato per misurare tale segnale.

La deviazione standard (SD) è una misura della precisione e riflette la distribuzione dei valori rispetto al valore medio.

Il coefficiente di variazione (%CV) è la deviazione standard espressa come percentuale della media.

$$CV = (SD/Media) \times 100$$

La precisione si può descrivere in modo quantitativo con la deviazione standard (SD). La deviazione standard si calcola utilizzando il valore medio (la media) di tutti i valori delle analisi e le deviazioni di ciascuna misurazione dalla media. La deviazione standard corrisponde alla distribuzione dei valori e viene spesso rappresentata con il simbolo SD o σ . Un'analisi con un valore medio di 10 e SD di 1 è più precisa di un'analisi con valore medio di 10 e SD di 4. Media e SD si possono esprimere con 10 ± 1 (dove 10 sia la media e 1 la deviazione standard). La precisione si può anche esprimere come percentuale della media con la seguente formula: $100 \times (SD/media)$. Nell'esempio, la deviazione standard è il 10% della media. Quando la precisione viene espressa nel formato di una percentuale della media, il valore viene definito coefficiente di variazione (%CV).

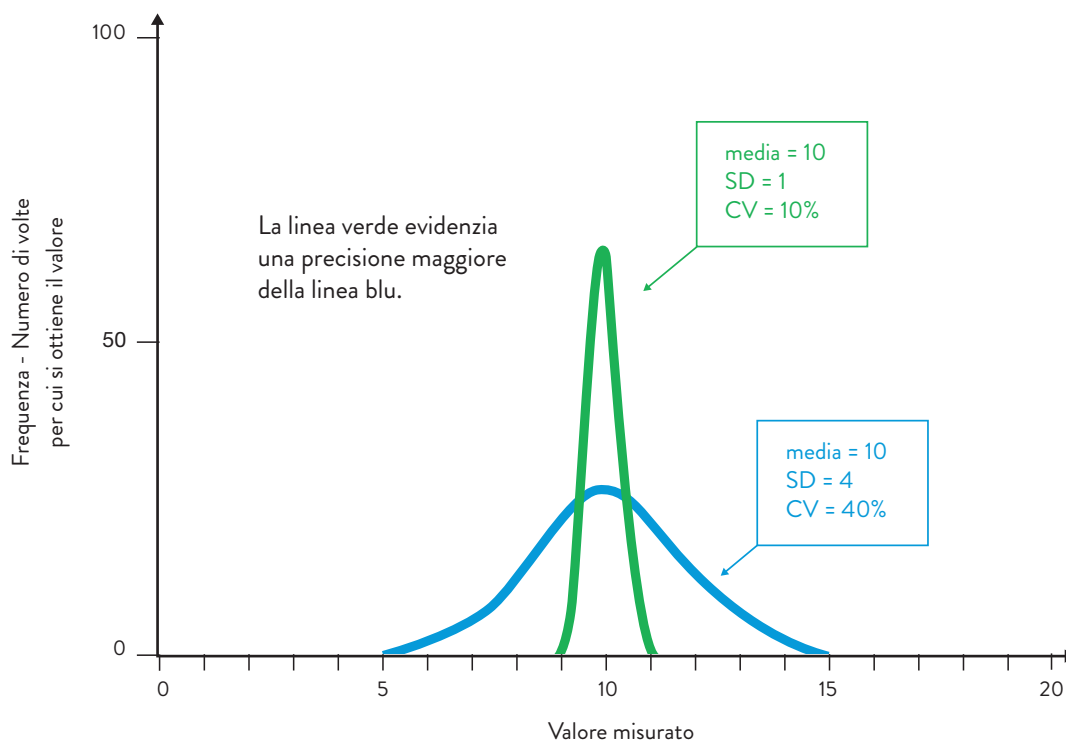
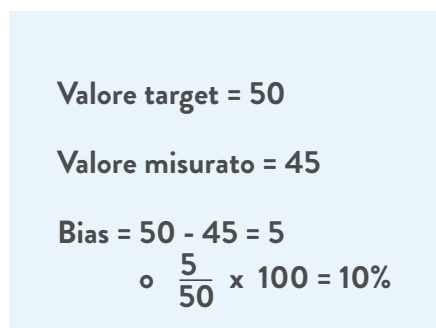


Figura 4-2: Rappresentazione grafica della precisione di una misurazione ripetuta.

BIAS

Il bias in genere è una funzione del processo di calibrazione. La calibrazione è la fase che consente di collegare la grandezza di un segnale analitico ottico, elettrochimico o di altra natura a una quantità di analita specifica. L'accuratezza del processo di calibrazione dipende dai valori che si assegnano ai calibratori.

Il bias in genere viene descritto come una percentuale che corrisponde alla differenza tra il valore misurato e il valore reale. Se, ad esempio, il valore target è 50 e il valore misurato 45, il bias è di 5 parti su 50 o del 10% ($[5/50] \times 100$).



Valore target = 50

Valore misurato = 45

Bias = 50 - 45 = 5
o $\frac{5}{50} \times 100 = 10\%$

Figura 4-3: Bias = deviazione dal valore target.

ASSEGNAZIONE DEI VALORI AI CALBRATORI

Poiché l'ottenimento della risposta corretta, ovvero del "valore reale", dipende dall'interpretazione corretta del segnale analitico, la validità della curva di calibrazione è una componente fondamentale dell'accuratezza delle analisi. L'assegnazione dei valori ai calibratori si fonda su un processo che collega il valore ad alcuni materiali o metodi di riferimento standard concordati. Tale processo viene definito "tracciabilità". Due approcci tipici per la preparazione del calibratore sono (1) l'uso di materiali e metodi di riferimento primari e (2) l'uso di metodi e materiali di consenso.

USO DI MATERIALI E METODI DI RIFERIMENTO PRIMARI

Se è possibile isolare un analita in forma pura e ben definita, si preferisce in genere l'uso di materiali e metodi primari come base per la calibrazione. L'assegnazione di valori ai calibratori inizia con l'individuazione della sostanza da utilizzare come "standard aureo" per un analita. Per una sostanza semplice come il calcio, si sceglie una forma particolare come materiale di riferimento principale, ad esempio il carbonato di calcio o il fosfato di calcio. Quindi si determina la quantità effettiva di calcio nel materiale prescelto. Tale determinazione si ottiene mediante un metodo di riferimento primario o definitivo, ad esempio l'assorbimento atomico nel caso del calcio.

La preparazione dei materiali di riferimento primario e l'assegnazione dei valori di riferimento corrispondenti sono attività specialistiche. I materiali di riferimento vengono in genere preparati dagli enti pubblici preposti o da organizzazioni professionali quali:

- National Institutes of Standards and Technology (NIST)
- American National Standards Institute (ANSI)
- Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI - in precedenza nota come NCCLS)
- International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)
- Institute for Reference Materials and Methods (IRMM)
- National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)
- Il Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) gestisce un database con materiali di riferimento, metodi di riferimento e laboratori che gestiscono i metodi di riferimento. È possibile accedere al database ed eseguire delle ricerche nel sito web all'indirizzo www.bipm.org/en/committee/jc/jctlm

Per i collegamenti relativi a queste organizzazioni, consultare l'**Appendice B**.

I materiali di riferimento primari sono troppo costosi e spesso non idonei per l'uso come calibratori nei laboratori clinici. Possono essere non solubili nelle matrici biologiche (campioni di fluidi corporei) oppure essere in forme chimiche che differiscono da quelle presenti nei campioni biologici e, di conseguenza, non rilevabili con i metodi utilizzati nei laboratori clinici.

Si utilizzano invece dei materiali di riferimento secondari, ovvero materiali più idonei per l'analisi mediante i metodi dei laboratori clinici tipici. I valori vengono assegnati per confronto con i materiali di riferimento primari, utilizzando un metodo di analisi che sia abbastanza robusto da misurare e confrontare l'analita sia nei materiali primari che secondari. Il materiale di riferimento primario viene impiegato come calibratore per assegnare un valore al materiale secondario. I materiali di riferimento secondari vengono preparati in una matrice (soluzione) simile ai campioni dei pazienti (ad esempio, siero, plasma, urina). Questi materiali sono commutabili, ovvero, forniscono una risposta analitica simile a quella di un campione reale di un paziente. La commutabilità si può verificare eseguendo dei test con i materiali di riferimento e dei campioni di pazienti appena prelevati e utilizzando al contempo due o più metodi di routine (campo). Se il materiale di riferimento è commutabile, i risultati dai metodi di campo dovrebbero riflettere i valori target assegnati da un metodo di riferimento e la risposta analitica dovrebbe essere coerente con quella dei campioni dei pazienti.

I calibratori per le analisi dei laboratori clinici vengono di solito preparati in una soluzione che sia simile a un campione di un paziente (ad esempio, sangue, siero). Il valore di un analita nella soluzione del calibratore viene stabilita in confronto a materiale di riferimento secondario. Tale confronto e l'assegnazione del valore del calibratore vengono eseguiti dal produttore dei reagenti e del dispositivo per le analisi.

Il materiale di riferimento primario (lo standard aureo) viene utilizzato come calibratore per l'assegnazione di un valore al materiale di riferimento secondario, che a sua volta viene utilizzato per assegnare i valori del calibratore da utilizzare in laboratorio. Questa catena continua di connessioni viene definita "tracciabilità". Il valore di ciascun calibratore è tracciabile rispetto a un materiale standard identificato. Nella **Figura 4-4** è illustrata la catena di tracciabilità per il colesterolo come definito dagli standard del Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN), una rete internazionale di laboratori che attribuisce certificazioni ai produttori di dispositivi e reagenti per la misurazione del colesterolo.

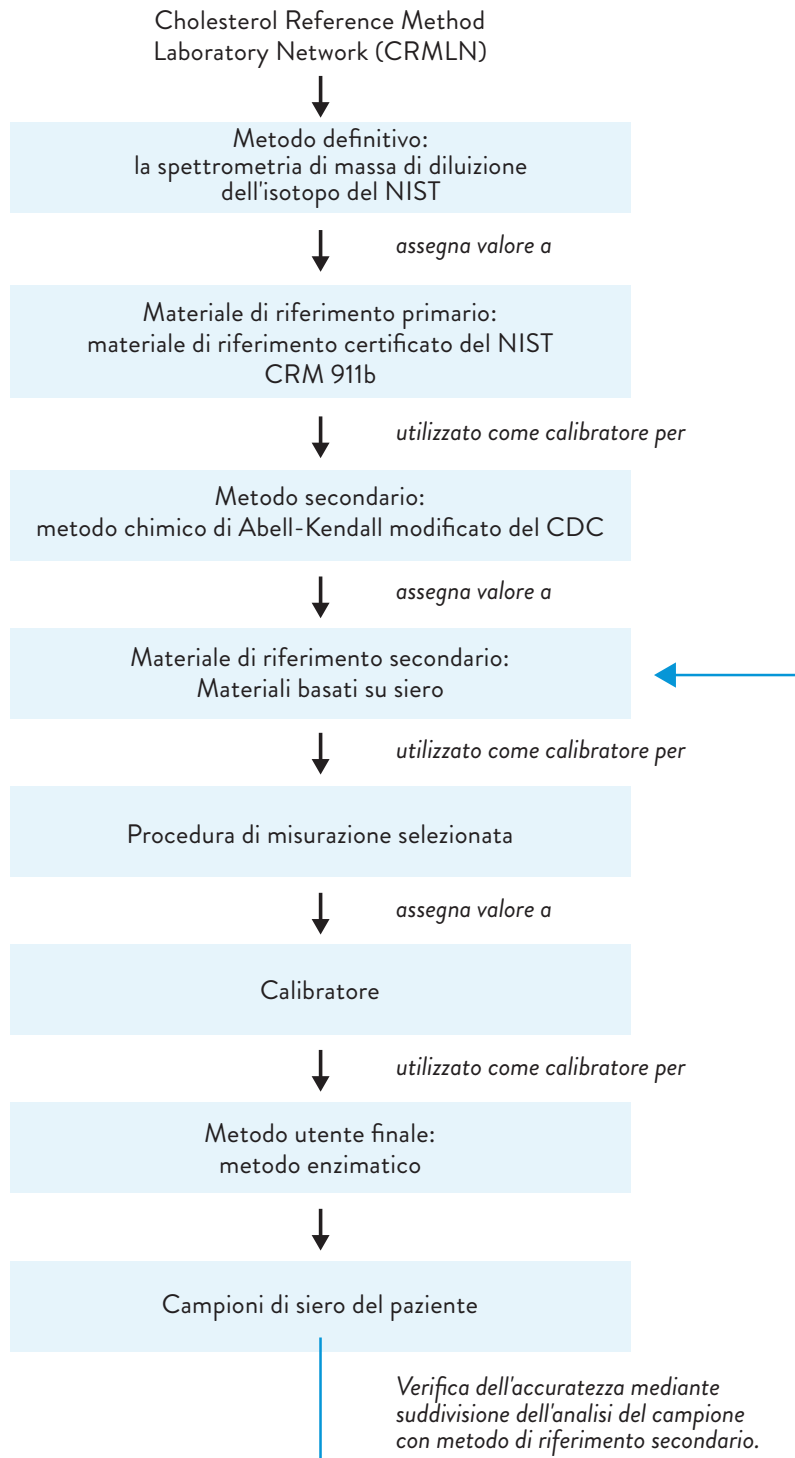


Figura 4-4: Tracciabilità rispetto al materiale di riferimento primario.

UTILIZZO DEI VALORI DI CONSENSO

Per molti analiti, la preparazione di un materiale di riferimento puro da utilizzare come standard primario è impossibile. Analiti come le proteine spesso assumono forme diverse che si presentano in quantità variabili in pazienti diversi. Ne consegue che è difficile identificare una forma della proteina che possa servire come materiale di riferimento ideale. Altri analiti, come la bilirubina, sono instabili per natura e tendono a rompersi se esposti alla luce o all'aria oppure se separati da altre molecole stabilizzatrici presenti nella soluzione. Gli enzimi, se isolati in forma pura, spesso perdono la loro attività enzimatica. Per questi tipi di analiti non è possibile preparare alcun tipo di materiale di riferimento primario. I valori di questi analiti sono, tuttavia, tracciabili rispetto a un valore di consenso basato su un approccio stabilito in accordo tra i professionisti dei laboratori clinici.

L'emoglobina (HbA1c), l'analisi più importante per il controllo a lungo termine del diabete, è un esempio di analisi standardizzata mediante un processo di consenso. Quando viene esposta al glucosio, l'emoglobina può subire una modifica causata dal legame chimico tra la molecola di glucosio e la proteina. Il prodotto viene definito glicemoglobina (o emoglobina glicata). Poiché il legame si può stabilire su diversi siti della molecola di emoglobina, il risultato è una miscela eterogenea di emoglobina non modificata e alcune molecole di glicemoglobina.

I valori assegnati alle analisi dell'HbA1c si basano su un metodo che è stato utilizzato in una vasta ricerca clinica denominata Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). La ricerca ha individuato i valori target di HbA1c necessari per ottenere un controllo ottimale del diabete. Poiché l'interpretazione clinica dei risultati delle analisi si basa sui risultati di quella ricerca, l'utilità clinica dei risultati delle analisi di un paziente dipende da quanto questi corrispondono ai risultati del metodo utilizzato per la ricerca. Il metodo in questione, una cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) con l'impiego di resina Bionix, è stata adottata come metodo di consenso dal National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP).

Nella **Figura 4-5** è illustrato il modo in cui i risultati dei metodi utilizzati dai laboratori clinici sono tracciabili ai valori ottenuti con il metodo di consenso dal laboratorio NGSP. Il metodo di consenso si utilizza per la calibrazione dei metodi secondari nei laboratori certificati speciali. I produttori e i laboratori clinici possono confrontare i risultati del proprio metodo con i risultati di un laboratorio secondario per confermare l'accuratezza. I produttori utilizzano questi risultati per assegnare valori corretti ai calibratori, in modo che i campioni dei pazienti forniscano risultati comparabili al metodo di consenso. Tutti i confronti vengono eseguiti su campioni di sangue prelevati da donatori diabetici e non diabetici.

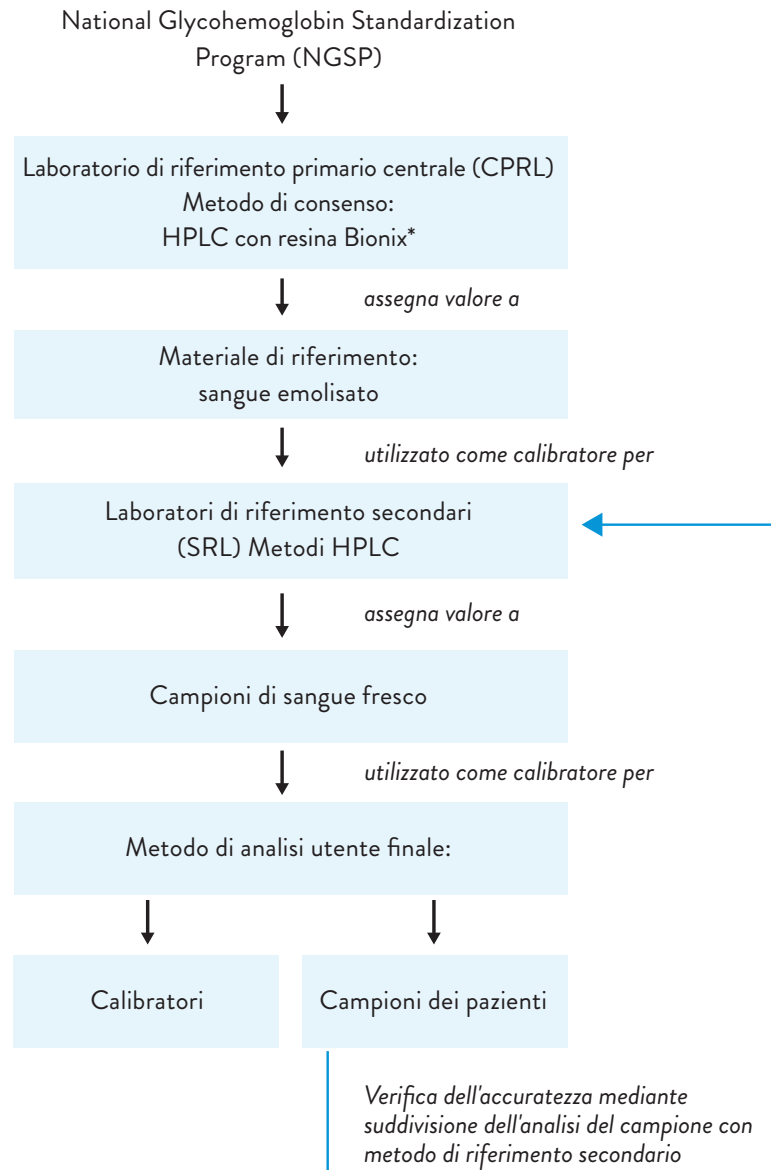


Figura 4-5: Valori di consenso.

*L'HPLC (cromatografia liquida ad alta prestazione) con resina Bionix è il metodo che è stato utilizzato per il Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) che ha individuato i livelli target di HbA1c per un buon controllo del diabete. Questo sistema di standardizzazione garantisce la tracciabilità per lo schema di interpretazione consigliato per il trattamento del diabete sulla base di quello studio di ricerca.

Nota: un sistema di misurazione di riferimento alternativo per la standardizzazione dell'HbA1c è stato adottato dall'International Federation for Clinical Chemistry (IFCC). In base a questo approccio, due forme di emoglobina purificate vengono isolate e utilizzate per la calibrazione. Una non è modificata e non contiene molecole di glucosio. L'altra contiene una singola molecola di glucosio legata all'aminoacido sull'estremità amminica di una delle catene beta dell'emoglobina. Viene preparata una serie di soluzioni standard miscelando diverse proporzioni di queste due forme di emoglobina. I risultati sono espressi come rapporto tra la forma modificata e la forma non modificata. Inoltre, l'IFCC ha sviluppato due metodi di riferimento equivalenti: Cromatografia liquida-elettroforesi capillare e cromatografia liquida-spettrometria di massa. I risultati dei metodi di IFCC e NGSP si possono convertire biunivocamente utilizzando un'equazione master convalidata. NGSP e IFCC collaborano allo scopo di garantire una standardizzazione continua dei metodi per l'HbA1c, la conversione biunivoca dei risultati tra % HbA1c e mmol/mol HbA1c e le prestazioni clinicamente accettabili dei metodi di analisi commerciali.

EFFETTI DELLA MATRICE

Molti metodi dei laboratori clinici sono influenzati dalla matrice del campione, un termine per definire il mezzo fisiologico o artificiale che contiene l'analita. A volte due diversi metodi che producono il medesimo risultato per un campione di un paziente forniscono risultati diversi quando si analizzano campioni sintetici, come i fluidi di calibrazione, i campioni dei test di idoneità (PT) e i campioni di controllo qualità (QC). Idealmente, i campioni sintetici dovrebbero simulare un campione di un paziente, ma spesso ciò non accade perché la matrice ha subito un processo di produzione particolare e non somiglia a un campione di paziente umano. Il processo di produzione stabilizza e prolunga la durata dell'analita nei periodi di conservazione e durante il trasporto, questo processo tuttavia modifica la matrice del campione umano di origine.

Le soluzioni di calibratore, PT e QC differiscono dai campioni dei pazienti perché vengono aggiunte molte sostanze diverse per generare una vasta gamma di concentrazioni di analita. Inoltre, i campioni vengono spesso congelati o liofilizzati (essiccati in modo da rimuovere tutti i liquidi) al fine di ridurre al minimo la decomposizione degli analiti durante la conservazione. Il processo di congelamento o liofilizzazione, seguito dallo scongelamento o dalla ricostruzione con un liquido, può anche provocare l'alterazione di alcune proprietà della soluzione. Quando a causa dell'aggiunta di sostanze esterne o del congelamento o della liofilizzazione si alterano le proprietà della soluzione in modo da introdurre un bias nei valori misurati, si dice che il bias è il risultato di un "effetto matrice".

Quando la matrice del campione (un termine che definisce il mezzo fisiologico o artificiale che contiene l'analita) contribuisce a un bias nei valori misurati, si dice che tale bias è il risultato di un "effetto matrice".

I valori del calibratore vengono assegnati per un metodo e strumento specifici. Se si utilizzano i calibratori con un metodo diverso da quello specificato, gli effetti matrice potrebbero provocare una calibrazione non accurata. Nei programmi di PT potrebbe essere necessario valutare diversi metodi, utilizzando valori target specifici dei metodi che riflettano le diverse influenze della matrice del materiale di PT. I risultati vengono suddivisi in gruppi di partecipanti che utilizzano lo stesso metodo, lo stesso reagente o lo stesso analizzatore.

COME GARANTIRE L'ACCURATEZZA

Le analisi dei laboratori clinici devono soddisfare molti criteri scientifici e normativi prima di essere ritenuti accettabili per indirizzare le decisioni in materia medica. La responsabilità per la soddisfazione di questi criteri viene condivisa tra produttore e laboratorio clinico.

Un obiettivo da raggiungere per l'accuratezza è che la combinazione di bias e imprecisioni non superi la variazione biologica tipica del soggetto (le fluttuazioni biologiche naturali dell'analita nel tempo in un individuo). In tal modo si garantisce che le eventuali variazioni maggiori della variabilità biologica tipica nei risultati delle analisi di un paziente siano una funzione dei cambiamenti reali nelle condizioni del paziente, piuttosto che variazioni introdotte dal laboratorio.

La variazione biologica viene presa in considerazione quando si definisce il "budget degli errori" o l'errore totale accettabile (TEa) per le analisi di laboratorio. Il TEa è la deviazione massima consentita dei risultati di un'analisi rispetto al "valore reale" perché questi siano considerati ancora accettabili.

Il TEa è costituito da due componenti, il bias rispetto al valore reale e l'imprecisione delle analisi.

$$\text{TEa} = \text{bias} + (2 \times \text{CV})$$

Per il colesterolo, la variabilità biologica del singolo soggetto* prevede che il 95% dei valori delle analisi di un individuo rientri in $\pm 10,8\%$ del valore reale. Il budget di errore totale per le analisi del colesterolo deve, di conseguenza, essere inferiore al 10,8%. Il National Cholesterol Education Program (NCEP) richiede che un budget di errore per la certificazione del colesterolo sia inferiore al 9%. Ne consegue che, ai fini della certificazione NCEP, un metodo con un CV del 3% può avere un bias massimo del 3% senza per questo superare il budget di errore.

$$\text{TEa} = 3\% + (2 \times 3\%) = 9\%$$

RESPONSABILITÀ DEL PRODUTTORE

Prima di introdurre dei metodi di analisi nei laboratori clinici, il produttore deve garantire che i criteri delle prestazioni per le analisi rientrino entro il TEa. Il metodo deve essere ottimizzato in modo da garantire i dovuti livelli di riproducibilità e bias, mentre il processo di calibrazione deve includere la tracciabilità necessaria ad assicurare che ai risultati delle analisi venga assegnato un valore accurato.

Negli Stati Uniti il Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) definisce gli intervalli target per l'errore totale accettabile per molte delle analisi di chimica clinica più comuni. In Germania le Guidelines for Quality Assurance of Medical Laboratory Examinations della German Medical Association (RiliBÄK) definisce i limiti accettabili. Altre organizzazioni professionali o enti normativi possono definire dei target per le prestazioni relativi a molti analiti. I produttori devono garantire che i metodi siano in grado di soddisfare questi target.

*Ulteriori informazioni sulla variabilità biologica e sui valori target per gli intervalli di accuratezza sono disponibili all'indirizzo www.westgard.com/guest17.htm.

ESEMPI DI TE_a TARGET PER ALCUNI ANALITI SELEZIONATI

| ANALITA | GAMMA ACCETTABILE CLIA* | GAMMA ACCETTABILE RiLiBÄK** |
|-----------------|---|-----------------------------|
| Albumina | ±10% | ±12,5% |
| Cloro | ±5% | ±4,5% |
| Colesterolo | ±10% | ±8,5% |
| Glucosio | ± 10% o 6 mg/dl (a seconda del valore maggiore) | ±11% |
| Proteina totale | ±10% | ±6% |
| Trigliceridi | ±25% | ±9% |
| Alcol, sangue | ±25% | ±15% |
| Teofillina | ±25% | ±13% |

*Stati Uniti Code of Federal Regulations (42 CFR 493.931)

**Linee guida RiLiBÄK in Germania

RESPONSABILITÀ DEI LABORATORI CLINICI

I laboratori clinici devono dimostrare di essere in grado di eseguire le analisi e di produrre risultati accettabili utilizzando il metodo nelle operazioni quotidiane. Per garantire che i laboratori clinici eseguano le analisi a un livello di prestazioni accettabili, si utilizzano due diversi sistemi: i "test di controllo qualità" e i "test di idoneità".

TEST DI CONTROLLO QUALITÀ (QC)

Nei test di QC con un unico campione, un campione di controllo viene analizzato più volte (in genere ogni giorno) per un lungo periodo di tempo (settimane o mesi) per verificare la riproducibilità dei risultati del test. I risultati del QC vengono tracciati su un grafico definito di Levey-Jennings. Questi tracciati evidenziano i risultati per le analisi del campione di QC rispetto al valore previsto e all'intervallo dei valori accettabili. Il valore target e l'intervallo di valori vengono determinati dal laboratorio per ogni campione di QC.

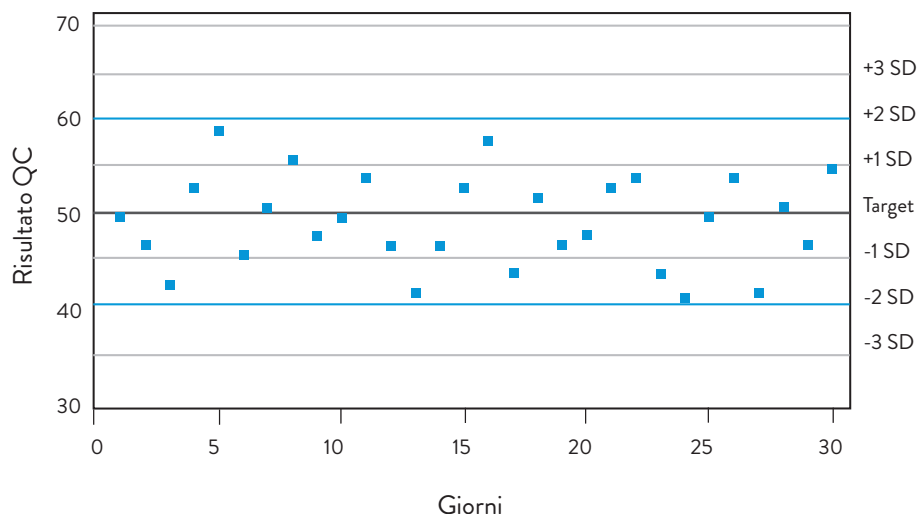


Figura 4-6: Grafico di Levey-Jennings con una riproducibilità accettabile nell'ambito di un mese.

Di solito, si monitorano due campioni di QC per ogni test. Uno dei campioni di QC viene definito "normale" e ha un valore target che ricade entro l'intervallo di riferimento previsto per il test specifico. Il secondo campione di QC viene definito "anomalo" e ha un valore target che non ricade nell'intervallo di riferimento in una direzione ritenuta come clinicamente significativa. Quando ritenuto necessario, il campione di QC anomalo apporterà una concentrazione importante per le decisioni da prendere a livello clinico. Ad esempio, il glucosio a digiuno in un individuo non diabetico dovrebbe essere compreso tra 70 e 100 mg/dl (3,9 e 5,6 mmol/l) e una diagnosi di diabete viene pronunciata quando il glucosio supera i 126 mg/dl (7,0 mmol/l). In questo caso si possono scegliere due campioni di QC ai livelli di 85 mg/dl (4,7 mmol/l) come "normale" e di 145 mg/dl (8,0 mmol/l) come "anomalo". Se deve esaminare pazienti con valori di glucosio bassi (ipoglicemia), il laboratorio può anche aggiungere un terzo campione di QC a un valore inferiore, come 36 mg/dl (2,0 mmol/l).

Lo scopo del campione di QC è monitorare l'affidabilità delle analisi. Quando i risultati del QC quotidiano rientrano nell'intervallo dei valori accettabili e si distribuiscono in modo simmetrico intorno al valore target, il metodo viene definito come "in controllo". Quando i risultati non rientrano nella finestra target o tendono ad allontanarsi dal valore target con il passare del tempo, i risultati del QC evidenziano la presenza di un problema. Esistono alcune regole che si utilizzano per valutare i tracciati dei risultati del QC e decidere quale azione intraprendere. In genere è necessario intraprendere un'azione quando il numero di risultati che non ricadono nell'intervallo 2SD supera le previsioni o quando una serie di risultati consecutivi per un numero significativo di giorni ricadono solo da un lato del valore target o tendono ad allontanarsi dal valore target.

Quando i risultati del QC evidenziano un problema, è necessario procedere a un'indagine sistematica per scoprire la fonte del problema. Il problema può derivare da un campione di QC non integro, dalla stabilità del reagente per il metodo di analisi, dalla curva di calibrazione o da un problema strumentale di uno dei componenti, come la fonte luminosa, il sistema di campionamento, il sistema di miscelazione o il controllo della temperatura. Il problema può anche essere causato dall'operatore o da un errore procedurale o dalla tecnica adoperata dal personale. Prima di poter analizzare il campione di un paziente e refertare i risultati, è necessario individuare l'origine del problema e risolverlo, per riportare il sistema "in controllo".

L'adozione di misure immediate quando il sistema di QC evidenzia un problema potenziale garantisce che il laboratorio non emetta referti con risultati delle analisi inaccurati per i campioni dei pazienti.

TEST DI IDONEITÀ (PT)

Nel caso dei test di idoneità, altrimenti noti come controlli qualità esterni (EQA), un'organizzazione esterna (un'organizzazione professionale o un ente pubblico preposto) invia al laboratorio una serie di campioni ignoti (definiti campioni PT o challenge) da analizzare. Tali campioni devono essere trattati e analizzati come se fossero campioni dei pazienti e i risultati devono essere inviati al fornitore del PT che li esaminerà.

Il fornitore del PT in genere invia da due a cinque campioni ignoti per ogni analita e invia le serie di campioni per tutti gli analiti più volte all'anno.

Il fornitore di PT valuta i risultati ottenuti da molti laboratori diversi e classifica le prestazioni in base a quanto i risultati di ogni laboratorio si avvicinano ai valori target di ciascun analita. I risultati accettabili devono rientrare negli intervalli di accuratezza stabiliti per il test. Negli Stati Uniti la CLIA ha definito molti intervalli di accuratezza. Se non esistono intervalli di accuratezza definiti per un analita, il risultato di un test viene confrontato con i risultati degli altri laboratori che hanno analizzato il medesimo campione. Viene quindi definita una gamma statistica per tutti i laboratori che hanno refertato dei valori per l'analita o, in alcuni casi, per i subset di laboratori che utilizzano lo stesso metodo (peer group). Un approccio alternativo, ma più complesso, al PT è la "classificazione in base all'accuratezza". Ai campioni di PT vengono assegnati dei valori target utilizzando i materiali o i metodi di riferimento e, per superare il PT, i laboratori devono rilevare i valori target entro limiti accettabili predeterminati. In base a questo approccio, i limiti accettabili sono gli stessi per tutti i laboratori e i metodi, a differenza della classificazione in base al peer group.

Se non raggiunge livelli di prestazioni soddisfacenti, al laboratorio potrebbe essere impedito di eseguire analisi sui pazienti per l'analita specifico fino a quando non riuscirà a individuare e risolvere il problema e analizzare correttamente una nuova serie di campioni PT inviati dal fornitore.

Il laboratorio potrà refertare i risultati delle analisi dei pazienti solo dopo aver soddisfatto i criteri di prestazioni relativi all'accuratezza.

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 4

1. Quale delle seguenti serie di valori per analisi ripetute di un campione di QC (valore target 50) è la più precisa?

| | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="radio"/> A 50, 51, 52 | <input type="radio"/> B 50, 52, 56 |
| <input type="radio"/> C 48, 50, 52 | <input type="radio"/> D 44, 50, 53 |

2. Quale delle seguenti serie di valori per analisi ripetute di un campione (valore target 100) è quella con un bias minore?

| | |
|---------------------------------------|--------------------------------------|
| <input type="radio"/> A 100, 105, 110 | <input type="radio"/> B 95, 100, 105 |
| <input type="radio"/> C 90, 95, 100 | <input type="radio"/> D 90, 100, 105 |

3. Il metodo A e il metodo B per il colesterolo rilevano entrambi un valore di 200 mg/dl per un campione di siero; tuttavia, lo stesso materiale di QC analizzato con il metodo A produce un risultato di 185 mg/dl e con il metodo B 212 mg/dl. Quale potrebbe esserne la causa?

| |
|---|
| <input type="radio"/> A Un bias nel metodo B |
| <input type="radio"/> B L'imprecisione del metodo B |
| <input type="radio"/> C Entrambi i metodi subiscono l'effetto matrice del materiale di QC |
| <input type="radio"/> D Tutte le risposte precedenti potrebbero essere corrette |

4. Cosa si intende per tracciabilità del metodo?

| |
|---|
| <input type="radio"/> A La calibrazione di un metodo è lineare |
| <input type="radio"/> B Il metodo soddisfa il budget degli errori richiesto |
| <input type="radio"/> C L'accuratezza del metodo è collegata a un metodo e/o un materiale certificato |
| <input type="radio"/> D Il metodo non evidenzia effetti matrice |

5. Quale dei seguenti analiti ha il budget di errore maggiore in base agli intervalli di accuratezza CLIA?

| | |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| <input type="radio"/> A Albumina | <input type="radio"/> B Trigliceridi |
| <input type="radio"/> C Cloro | <input type="radio"/> D Colesterolo |

SEZIONE 5

FONTI DI ERRORE

PANORAMICA

In questa sezione vengono riepilogati i tipi più comuni di errori che si verificano durante il processo di analisi nei laboratori clinici e vengono presentate alcune delle strategie che si utilizzano per ridurre al minimo gli errori nelle analisi.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Individuare esempi di errori durante preanalisi, analisi e postanalisi
- Descrivere le cause più comuni degli errori di analisi
- Individuare le strategie da adottare per rilevare le interferenze ed evitare di refertare risultati sbagliati

CONCETTI CHIAVE

1. La preparazione del paziente, insieme al prelievo e alla gestione corretti dei campioni sono fasi di preanalisi importanti per garantire la validità dei risultati delle analisi.
2. Emolisi, ittero e lipemia (HIL) sono tre delle fonti di interferenza rilevate più di frequente nei campioni di sangue, siero e plasma.
 - Con il termine emolisi si fa riferimento al colore dell'emoglobina rilasciata dopo la distruzione dei globuli rossi
 - L'ittero dipende dal colore della bilirubina
 - La lipemia è la torbidità causata da concentrazioni elevate di lipidi, in genere trigliceridi

Se non rilevati, la loro presenza può provocare una sottostima o sovrastima della concentrazione di analita.

3. La strumentazione per l'automazione include gli algoritmi necessari per rilevare le potenziali fonti di errore e avvisare l'operatore.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015.

TRE DIVISIONI PER LE FONTI DI ERRORE

Le possibili fonti di errore vengono in genere suddivise in tre categorie: preanalitiche, analitiche e postanalitiche. Gli errori preanalitici sono quelli che si verificano durante il prelievo, il trasporto o l'elaborazione dei campioni prima della fase di analisi vera e propria. Gli errori analitici sono quelli che si verificano durante l'analisi. Gli errori postanalitici sono quelli che si verificano dopo l'esecuzione delle analisi.

| PREANALITICI | |
|----------------------------|--|
| Prescrizione delle analisi | Prescrizione delle analisi errate Incomprensioni sulla prescrizione delle analisi |
| Paziente | Paziente non correttamente preparato Errore nell'identificazione del paziente |
| Prelievo | Campione prelevato in un contenitore non corretto o in una provetta con l'additivo errato Errore di etichettatura del campione Quantità di campione prelevato non sufficiente |
| Trasporto | Trasporto del campione in condizioni non adeguate Ritardo nell'elaborazione e durata eccessiva del trasporto Tempi di centrifugazione non adeguati |
| ANALITICI | |
| Analisi | Strumentazione non calibrata in modo corretto Presenza e mancato riconoscimento di sostanze che interferiscono Errore di diluizione Presenza di bolle o altre particelle nel campione |
| POSTANALITICI | |
| Refertazione | Risultati riportati in modo non corretto o con unità di misura non idonee Risultati inviati nel luogo errato Referto in ritardo o incompleto |

ERRORI PREANALITICI CHE POSSONO INFLUIRE SULL'ACCURATEZZA DEI RISULTATI DELLE ANALISI

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE

Molte analisi richiedono una preparazione specifica del paziente, come il digiuno o l'astensione dal consumo di determinati cibi, integratori alimentari o farmaci. È importante che i pazienti si attengano a queste istruzioni per garantire che i risultati delle analisi possano essere confrontati in modo significativo agli intervalli di riferimento.

L'intervallo di riferimento per i trigliceridi, ad esempio, si basa su un campione prelevato dopo 8-12 ore di digiuno (nessun cibo o bevanda consentita, tranne l'acqua). Se un paziente consuma un pasto completo o uno snack poco prima del prelievo di sangue, i valori dei trigliceridi misurati saranno più alti rispetto all'intervallo di riferimento, suggerendo erroneamente che il paziente è affetto da dislipidemia (concentrazione anomala di una frazione lipidica).

PRELIEVO DEL CAMPIONE

Un prelievo non corretto del campione può influire sui risultati delle analisi. Un periodo prolungato di applicazione del laccio emostatico può provocare la comparsa di quantità non rappresentative di determinate sostanze nel campione. Queste sono in genere sostanze dal peso molecolare elevato quali proteine, lipidi e sostanze legate alle proteine come il calcio. L'impiego di un anticoagulante errato per un campione di sangue, o del conservante errato per un campione di urina, può provocare inaccuratezze che derivano dall'impossibilità di stabilizzare l'analita o da un'interferenza diretta nella fase di analisi. Gli opuscoli distribuiti con le confezioni dei dosaggi spesso specificano i tipi di provette di prelievo accettabili (ad esempio, in vetro o in plastica, con o senza separatore del gel, additivi o conservanti da preferire e così via). Un campione del paziente prelevato utilizzando una provetta di tipo diverso può produrre risultati non accurati.

Se, ad esempio, un campione di urina delle 24 ore per l'analisi del calcio o del magnesio non viene adeguatamente acidificato con l'aggiunta di acido idrocloridrico o di un altro conservante idoneo, si possono formare dei sali non solubili di questi ioni metallici che precipitano all'esterno della soluzione. Poiché con le analisi si misurano solo gli ioni che restano in soluzione, il risultato potrebbe essere una sottostima della quantità effettiva.

TRASPORTO

Le concentrazioni di analita possono variare nel tempo che trascorre tra il prelievo del campione e la consegna al laboratorio per l'analisi. Alcuni campioni si possono stabilizzare mediante refrigerazione, alcuni potrebbero richiedere il congelamento, per altri ancora potrebbe essere necessaria una protezione dalla luce e per altri infine l'analisi dovrà essere eseguita entro un periodo di tempo limitato. Se il campione viene gestito in modo non corretto, la concentrazione di analita può variare e il campione analizzato non rifletterà con accuratezza lo stato del paziente.

È possibile che si formi ammoniaca dalla rottura della proteina, specialmente nelle cellule del sangue. Se un campione di sangue non viene immediatamente refrigerato, la formazione continua di ammoniaca durante il trasporto potrebbe provocare risultati erroneamente elevati che suggeriscono una patologia epatica, anche quando non vi è alcuna patologia. Inoltre, quando si conserva un campione di sangue intero a temperatura ambiente, le cellule del sangue continuano a consumare glucosio. Nel giro di 30 - 60 minuti possono essere consumate quantità significative di glucosio, con il rischio di non riuscire a rilevare una condizione di iperglicemia o di rilevare una condizione inesistente di ipoglicemia.

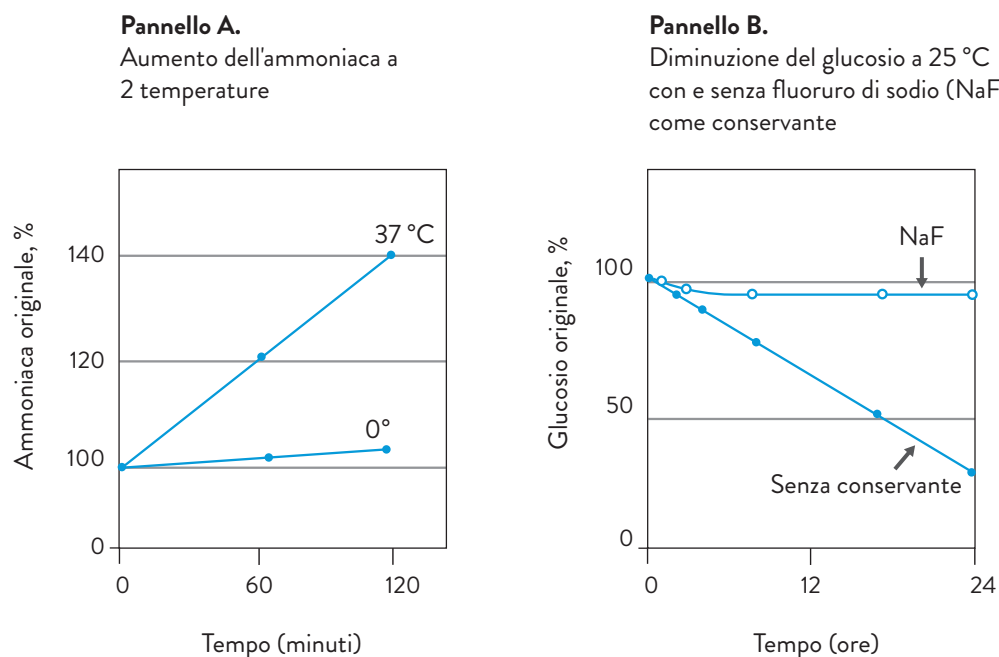


Figura 5-1: Prelievo dei campioni: variazioni nella concentrazione di analita.

ERRORI ANALITICI CHE POSSONO INFLUIRE SULL'ACCURATEZZA DEI RISULTATI DELLE ANALISI

METODO "FUORI CONTROLLO"

I metodi devono essere calibrati accuratamente e le relative prestazioni devono essere verificate mediante un programma di controllo qualità (vedere la Sezione 4). In alcuni casi si scopre che un dosaggio è fuori controllo solo dopo aver analizzato i campioni dei pazienti. Se il metodo non soddisfa gli standard previsti per le prestazioni (è "fuori controllo"), i risultati ottenuti analizzando i campioni dei pazienti saranno errati. In tal caso sarà necessario individuare e correggere la causa del problema e rieseguire le analisi sui campioni dei pazienti.

SOSTANZE CHE INTERFERISCONO

I campioni potrebbero contenere sostanze che interferiscono con le analisi assorbendo direttamente o diffrangendo la luce oppure reagendo con i reagenti e impedendo la reazione con l'analita di interesse. La valutazione dell'accuratezza del metodo deve prevedere la valutazione dell'effetto delle eventuali fonti di interferenza.

HIL

Le tre principali cause di interferenza in un campione di siero o plasma sono:

- L'emoglobina di colore rossastro che deriva dai globuli rossi
- L'ittero (o bilirubina): un sottoprodotto di colore giallo della rottura e del metabolismo dell'emoglobina
- La lipemia: una condizione con valori di trigliceridi estremamente elevati che intorbidiscono il campione

I campioni che contengono queste sostanze vengono definiti emolizzati, a causa della distruzione dei globuli rossi, itterici (un altro termine che indica valori elevati di bilirubina) e lipemici, per la presenza di concentrazioni elevate di lipidi. Gli indici che rappresentano queste condizioni vengono abbreviati con le lettere H, I ed L.

L'indagine visiva del campione di siero o plasma consente di individuare queste condizioni. Il siero o plasma normale è un liquido trasparente di colore paglierino. L'emolisi provoca una colorazione rossastra del campione, l'ittero una colorazione giallo-marrone e la lipemia un aspetto torbido o lattiginoso. Le scale qualitative visive, con valori compresi tra 1+ e 4+, indicano il livello relativo di ciascuna di queste condizioni.

Il colore o la torbidità della sostanza che interferisce può alterare le misurazioni eseguite con lo spettrofotometro, con il segnale dell'assorbanza che non corrisponde alla reale concentrazione dell'analita. Questo può produrre risultati delle analisi erroneamente bassi o elevati.

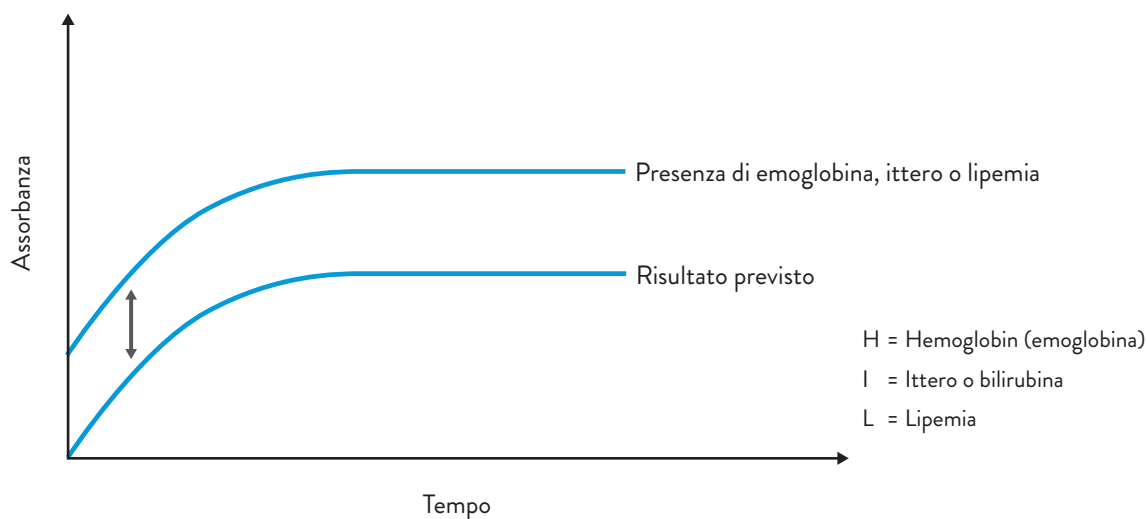


Figura 5-2: Effetto della presenza di emoglobina, ittero o lipemia.

La presenza di emoglobina derivante da cellule del sangue danneggiate può anche segnalare la presenza di altri analiti passati dall'interno delle medesime cellule al siero o plasma. Questi possono essere potassio, ferro, magnesio ed enzimi intracellulari come il lattato deidrogenasi (LD) o l'aspartato aminotransferasi (AST).

Poiché ciascuna delle sostanze HIL che interferiscono assorbe la luce, è possibile stimare la quantità di tali sostanze utilizzando le misurazioni fotometriche di assorbanza a diverse lunghezze d'onda. Si può quindi applicare un algoritmo matematico per calcolare la quantità relativa di ciascuna sostanza che interferisce e produrre una stima semiquantitativa. Tale stima si può ottenere durante i tempi di lettura dello sfondo, prima dell'aggiunta degli eventuali reagenti attivi o durante un test separato.

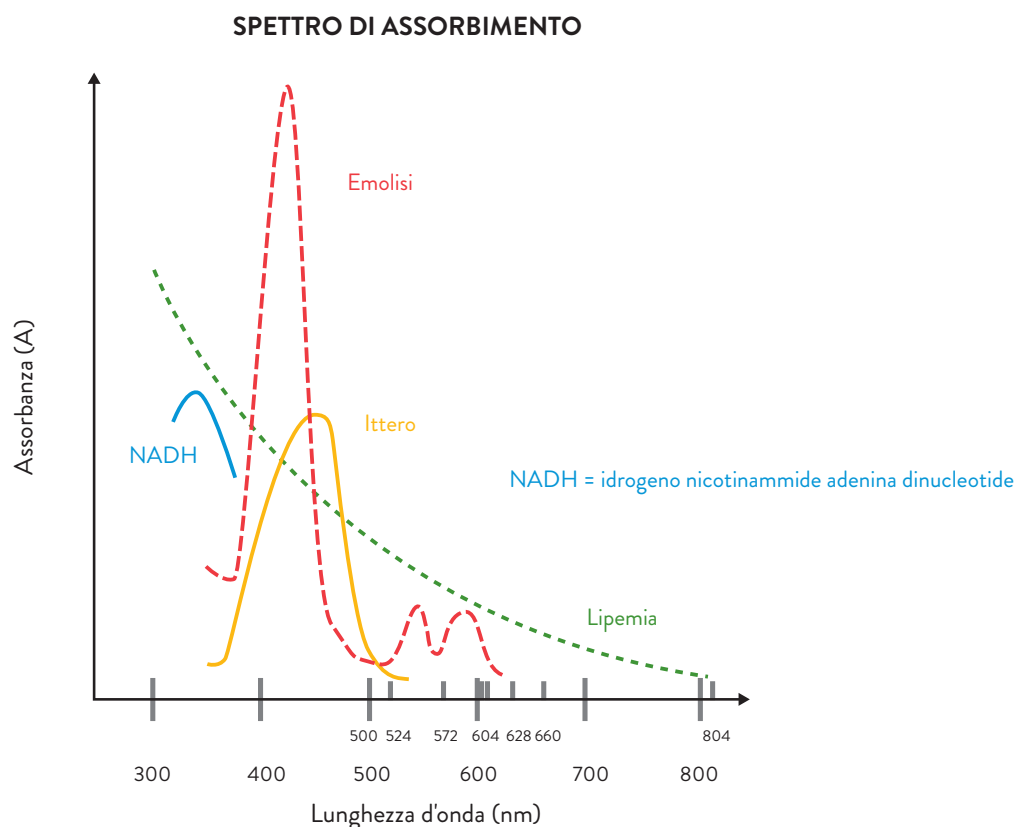


Figura 5-3: L'assorbanza dovuta a emoglobina, ittero (bilirubina) e lipemia può essere misurata nelle aree utilizzate per l'interpretazione dell'analita, quindi è possibile che la relativa assorbanza venga confusa con la misurazione del colorante. Eseguendo le misurazioni dell'assorbanza alle sette lunghezze d'onda designate, è possibile ottenere una stima della concentrazione di ciascuna sostanza che interferisce.

I livelli di emoglobina, ittero o lipemia presenti si collegano con le informazioni relative alla suscettibilità di un metodo di analisi alle sostanze che interferiscono raccolte durante la valutazione dell'accuratezza delle analisi. Se, ad esempio, le analisi del potassio hanno rilevato valori elevati con l'emoglobina > 2+, ma non con valori di lipemia o ittero elevati, il laboratorio potrebbe decidere di non refertare i risultati del potassio se l'emoglobina > 2+ oppure potrebbe scegliere di refertare il risultato con una dichiarazione condizionale, con cui afferma che è probabile che il risultato sia sovrastimato a causa dell'indice di emoglobina elevato.

INDICI HIL

Alcuni analizzatori sono in grado di fornire una stima semiquantitativa della concentrazione di HIL, invece che sulla scala qualitativa da 1+ a 4+, mediante la spettrofotometria differenziale. È possibile che negli opuscoli dei pacchetti dei dosaggi siano definite le unità dell'indice HIL e vengano descritti i livelli di approssimazione dell'indice alle concentrazioni di HIL. Nella tabella riportata di seguito è illustrato un esempio di come sia possibile comparare gli indici HIL qualitativo e semiquantitativo. È opportuno sottolineare che, sebbene sia possibile riportare gli indici HIL con unità quantitative (ad esempio, mg/dl o g/l), queste sono solo stime approssimate della concentrazione. Un medico può interpretare i risultati delle analisi alla luce dei potenziali effetti di HIL o può richiedere che venga prelevato e analizzato un nuovo campione privo di sostanze che interferiscono. Se sono presenti due o più sostanze HIL che interferiscono, è probabile che le stime risultino inattendibili ed è consigliabile richiedere il prelievo di un nuovo campione.

| SCALA | INDICE H mg/dL | INDICE I mg/dL | INDICE L mg/dL |
|-------|--------------------|------------------|--------------------|
| Blank | <30 | <2 | 50 |
| 1+ | $30 \leq H < 100$ | $2 \leq I < 4$ | $50 \leq L < 100$ |
| 2+ | $100 \leq H < 200$ | $4 \leq I < 10$ | $100 \leq L < 150$ |
| 3+ | $200 \leq H < 500$ | $10 \leq I < 20$ | $150 \leq L < 200$ |
| 4+ | ≥ 500 | ≥ 20 | ≥ 200 |

ANTICORPI ETEROFILI

In alcuni casi nel sangue dei pazienti sono presenti degli anticorpi che interagiscono in modo imprevisto con gli anticorpi di un dosaggio immunometrico. La presenza di tali anticorpi (definiti anticorpi eterofili) può produrre risultati con valori erroneamente elevati o bassi. Un esempio comune sono gli HAMA (human anti-mouse antibodies, anticorpi umani antimurini), ovvero gli anticorpi anti-murini che si sviluppano spontaneamente in alcuni pazienti esposti ad antigeni murini. I pazienti possono sviluppare anticorpi eterofili quando sono sottoposti a immunoterapie, a seguito di un vaccino che contiene siero di un'altra specie o dopo la semplice esposizione ambientale. A volte l'unico indizio che suggerisca la presenza di un anticorpo di questo tipo è l'incoerenza dei risultati delle analisi rispetto alla condizione del paziente. Se un fornitore avanza dei dubbi sui risultati, è possibile ripetere le analisi aggiungendo un anticorpo anti-eterofilo o una sostanza bloccante che si leghi all'anticorpo eterofilo nel campione prima delle analisi. L'anticorpo anti-eterofilo o la sostanza bloccante si lega all'anticorpo eterofilo nel campione del paziente e previene le interferenze durante le analisi. Alcuni dosaggi immunometrici comprendono gli anticorpi anti-eterofili o gli agenti bloccanti nei reagenti per le analisi, allo scopo di ridurre le possibili interferenze da parte degli anticorpi eterofili nel campione del paziente.

LA CONCENTRAZIONE DELL'ANALITA È MAGGIORE DELL'INTERVALLO DI MISURAZIONE PREVISTO PER LE ANALISI

Quando la concentrazione di un analita è maggiore dell'intervallo di misurazione (altrimenti definito gamma dinamica o intervallo di della misurazione analitica, AMR) previsto per le analisi, il laboratorio ha due opzioni. La prima consiste nel refertare il valore come più alto del limite superiore del metodo di analisi. Questo approccio è accettabile quando la semplice informazione che un valore è elevato viene considerata sufficiente per la successiva gestione clinica. In alcuni casi, tuttavia, è importante conoscere il valore quantitativo esatto. In tali casi l'approccio che si adotta di solito consiste nel diluire il campione e rieseguire le analisi di un'aliquota diluita del campione, correggendo matematicamente il risultato misurato in base al fattore di diluizione.

Se, ad esempio, il campione originale viene diluito aggiungendo 9 ml di un diluente appropriato (un termine per indicare la soluzione utilizzata per le diluizioni) a 1 ml del campione, il risultato misurato nel campione diluito sarà moltiplicato per 10 in modo da ottenere il valore del campione originale.

Le fasi di diluizione manuale e ripetizione delle analisi spesso non sono consigliabili, perché sono soggette a errore umano come una misurazione errata, un calcolo errato e l'utilizzo di un diluente non corretto. Alcune analisi sono sensibili al diluente quindi, per alcune analisi specifiche, può essere necessario ricorrere al diluente corretto e acqua, soluzione fisiologica o anche al calibratore a zero. La diluizione manuale e la ripetizione delle analisi introducono anche inefficienze, come ritardi nella produzione del referto con i risultati e ritardi nell'esecuzione di altre analisi sui campioni. Gli analizzatori chimici automatizzati spesso eseguono la diluizione automatica per determinare le concentrazioni non comprese nell'intervallo, senza che sia necessario alcun intervento umano.

DILUIZIONE AUTOMATICA (AUTODILUIZIONE)

Quando riconosce che un risultato non rientra nell'intervallo previsto, uno strumento può essere programmato in modo da preparare una diluizione del campione ed eseguire di nuovo le analisi. Se il campione diluito produce un risultato compreso nell'intervallo, il dispositivo esegue un calcolo per correggere il risultato a referto in base al fattore di diluizione. Se da una parte richiede del tempo aggiuntivo per la diluizione e la riesecuzione delle analisi, questo processo offre il vantaggio di ridurre gli errori al minimo e risolvere rapidamente il problema producendo un risultato quantitativo per il campione entro pochi minuti. Non sono necessari interventi manuali.

ALGORITMI PER IL METODO CINETICO

Quando si ricorre al metodo cinetico per la misurazione degli enzimi, il cui segnale di assorbanza viene monitorato per la durata della reazione, è possibile adottare un approccio alternativo. Si possono monitorare due finestre di lettura, una per la reazione di routine e un'altra per una prima lettura, per misurare la velocità della reazione. Se il campione ha una concentrazione di analita elevata, il reagente del substrato enzimatico aggiunto viene consumato rapidamente, con la conseguente diminuzione del substrato. La reazione non corrisponde più alla reale quantità o attività dell'enzima e non si può misurare. Il risultato viene riportato come superiore alla linearità (troppo alto da misurare) o, nei casi in cui la diminuzione del substrato non viene rilevata, come erroneamente basso.

In questa illustrazione viene spiegato l'uso delle due finestre di lettura, una principale o per la lettura di routine e una per una prima lettura anticipata, che consente di valutare in modo accurato l'attività enzimatica. Se, ad esempio, nella finestra di lettura principale ricadono meno di tre punti dati lineari, il sistema utilizzerà la finestra di lettura anticipata per calcolare il risultato. La finestra di lettura anticipata può utilizzare un algoritmo per il calcolo della concentrazione di enzima quando la reazione è ancora nell'intervallo lineare.

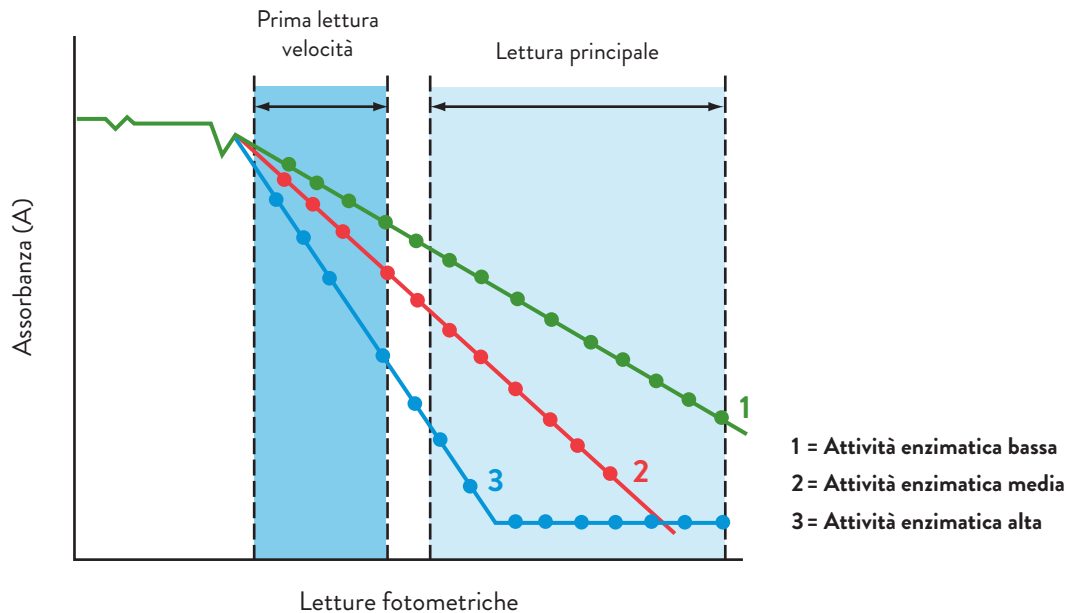


Figura 5-4: Utilizzo di finestre di lettura alternative per estendere la linearità degli enzimi.

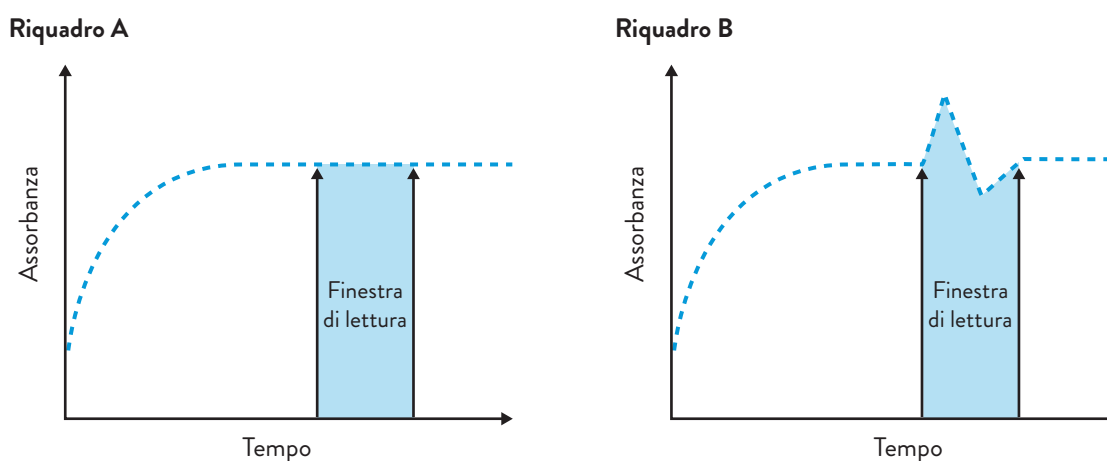
ERRORI CASUALI

Per errori casuali si intendono gli errori che si verificano a seguito di eventi non prevedibili che influiscono sulla misurazione del segnale. Alcuni esempi di errori casuali sono le bolle d'aria o il particolato presente nel campione che deriva dal pipettamento di un volume di campione insufficiente. Gli errori casuali sono per definizione imprevedibili.

- Una bolla d'aria nel campione può provocare il prelievo di un campione insufficiente, con la conseguenza di risultati delle analisi che sottostimano la quantità di analita.
- Una bolla sul percorso della luce dello spettrofotometro può provocare un aumento o una riduzione dell'assorbanza e condurre a una sottostima o sovrastima della concentrazione di analita.
- Il particolato, spesso dei microcoaguli in un campione di plasma prelevato in modo non corretto miscelato con l'anticoagulante senza le dovute precauzioni, può impedire la misurazione di un'aliquota del campione da analizzare ostruendo la sonda di campionamento o, come accade con le bolle, sostituendo parte del liquido.
- I microcoaguli possono anche provocare una diffrazione della luce e causare errori nelle letture dell'assorbanza.
- Un campione insufficiente con un volume di fluido del paziente nella miscela di reazione inferiore a quello richiesto, produce risultati erroneamente bassi.

Molti analizzatori automatizzati, tuttavia, sono programmati per riconoscere la presenza di bolle, microcoaguli, volumi insufficienti o altri errori casuali. La sonda del campione che misura l'aliquota per le analisi, ad esempio, può rilevare quando il campione non fluisce alla velocità prevista, come accade in caso di presenza di microcoaguli, e genera un errore di monitoraggio della pressione per le analisi.

Le letture spettrofotometriche vengono monitorate in base al tempo. La strumentazione è in grado di riconoscere un segnale dell'assorbanza che non segue l'aumento o la riduzione costante prevista durante la reazione ma evidenzia, invece, dei valori alti o bassi casuali, come accade nel caso di bolle o particelle che ostruiscono il percorso della luce. Quando bolle, coaguli o altri eventi casuali producono un campionamento o segnali imprevisti, la strumentazione avvisa l'operatore che i risultati delle analisi sono sospetti e devono essere verificati con nuove analisi.



Gli aumenti di assorbanza previsti si sviluppano su curve regolari costanti (riquadro A). La presenza di bolle, schiuma o particelle nella finestra fotometrica causerà valori alti o bassi sporadici (riquadro B).

Figura 5-5: Errore casuale dovuto a bolle, schiuma o precipitati.

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 5

1. Quale dei seguenti è un esempio di errore preanalitico?
 - A Metodo di analisi calibrato in modo errato
 - B Sangue prelevato nel tipo di provetta errato
 - C Presenza nel campione di sostanze che interferiscono
 - D Ritardo nell'invio del referto al fornitore

2. Quale tipo di errore analitico si può prevenire con un programma di controllo qualità efficace?
 - A Strumentazione non calibrata correttamente
 - B Presenza nel campione di sostanze che interferiscono
 - C Presenza di bolle sul percorso della luce di un metodo fotometrico
 - D Concentrazione di analita così elevata da provocare un consumo eccessivo del reagente attivo

3. Quale tipo di errore analitico viene riconosciuto da un indice HIL?
 - A Strumentazione non calibrata correttamente
 - B Presenza nel campione di sostanze che interferiscono
 - C Presenza di bolle sul percorso della luce di un metodo fotometrico
 - D Concentrazione di analita così elevata da provocare un consumo eccessivo del reagente attivo

4. Quali opzioni sono disponibili quando il risultato delle analisi supera il limite superiore dell'intervallo di misurazione definito per le analisi?
 - A Diluizione manuale seguita da una ripetizione delle analisi con il campione diluito
 - B Diluizione automatica e ripetizione delle analisi sul campione
 - C Utilizzo di un algoritmo per la misurazione della velocità della reazione con due finestre di lettura per un dosaggio enzimatico
 - D Produrre un referto con il valore più alto del limite superiore del metodo di analisi

SEZIONE 6

ANALISI DI CHIMICA CLINICA COMUNI

PANORAMICA

In questa sezione vengono descritti gli analiti presenti più di frequente nei menu delle analisi di chimica clinica, sono illustrate le rispettive funzioni metaboliche e alcune condizioni patologiche per le quali si rende necessaria la misurazione dell'analita.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Individuare gli analiti misurati nelle analisi chimiche più comuni
- Indicare il momento in cui devono essere ordinate determinate analisi
- Identificare le condizioni medicali che possono provocare la comparsa di valori bassi o elevati delle analisi

CONCETTI CHIAVE

1. Con le analisi di chimica clinica si misurano una vasta gamma di analiti ritenuti indicativi per le condizioni di molti diversi sistemi organici e patologie.
2. I risultati di alcune analisi sono indicatori specifici di un singolo sistema organico o patologia, altri sono indicatori generici di una patologia o disturbo ma non vengono messi in relazione con un organo o processo patologico specifico.
3. Le analisi vengono eseguite per varie ragioni. Alcune analisi aiutano a diagnosticare una patologia, altre a monitorare il corso della patologia o l'efficacia di una terapia, altre ancora si utilizzano per valutare il rischio di comparsa di una patologia.

Nei fluidi corporei circolano centinaia di composti, molecole e ioni. Molti di questi si possono misurare con le analisi dei laboratori di chimica clinica. Le analisi si rivelano preziose per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento delle patologie.

In questa sezione sono riportati solo degli esempi degli analiti più comuni misurati nei laboratori clinici. Gli analiti sono raggruppati per tipo di analita misurato. Questi spaziano dagli ioni alle piccole molecole, dalle proteine (macromolecole) ai lipidi e alle lipoproteine che circolano in complessi che contengono centinaia di molecole e macromolecole.

I valori di riferimento o risultati previsti per gli adulti sani vengono forniti in questo capitolo al fine di incanalare la discussione. Sono i valori estratti dalla 5a edizione di *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, a meno di diversa indicazione. I valori possono variare in base a popolazioni di pazienti, aree del mondo e metodologie di dosaggio e devono essere verificati dai laboratori prima dell'uso.

ELETTROLITI E IONI

Elettroliti e ioni sono piccole particelle elettricamente cariche: i cationi hanno carica positiva e gli anioni hanno carica negativa. Sono rilevabili in tutti i fluidi corporei, sia all'interno delle cellule che nei fluidi extracellulari. Mantengono la pressione osmotica (pressione tra le membrane o tra diversi compartimenti dei fluidi) e l'equilibrio tra i fluidi, assumendo un ruolo importante in molti dei processi metabolici.

MISURAZIONE DEGLI ELETTROLITI

Le analisi descritte di seguito costituiscono il gruppo comunemente definito con i termini "pannello elettrolitico" o "liti". Gli elettroliti aiutano a regolare l'equilibrio dell'acqua e l'equilibrio acido-base nel corpo. Queste analisi vengono spesso ordinate insieme, per valutare il bilanciamento complessivo degli elettroliti, spesso in situazioni di cura intensiva ma anche come routine. Alcune condizioni in cui il bilanciamento degli elettroliti viene alterato sono edema, debolezza, confusione, aritmie cardiache, pressione sanguigna alta, insufficienza cardiaca, patologie epatiche e renali. I pannelli elettrolitici spesso comprendono un valore calcolato definito "gap anionico", che può segnalare la presenza di anioni non misurati nel sangue.

ELETTROLITI

| ANALITA | DESCRIZIONE | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUZIONE DEI VALORI |
|---|---|---|--|
| Sodio (Na ⁺) | Importante catione extracellulare responsabile del mantenimento dell'equilibrio dei fluidi nella circolazione. I livelli nel sangue vengono controllati mediante escrezione e riassorbimento da parte dei reni | 136-145 mmol/l | ↑ Disidratazione, sindrome di Cushing, diabete insipido ↓ Perdite gastrointestinali (diarrea e vomito), morbo di Addison, patologia renale |
| Potassio (K ⁺) | Importante catione intracellulare responsabile per la contrazione muscolare e il mantenimento di una frequenza cardiaca normale | 3,5-5,1 mmol/l | ↑ Shock, insufficienza circolatoria, patologia renale ↓ Perdite gastrointestinali (diarrea e vomito), uso di diuretici, alcune forme tumorali |
| Cloro (Cl ⁻) | Importante anione extracellulare. Le variazioni di concentrazione in genere riflettono le concentrazioni di sodio | 98-107 mmol/l | ↑ Disidratazione ↓ Livelli bassi di sodio nel sangue, vomito |
| Biossido di carbonio (CO ₂) | Importante anione che mantiene il sangue al pH fisiologico di 7,4 | 22-28 mEq/l | ↑ Alcalosi metabolica ↓ Acidosi metabolica |
| Gap anionico | Il gap anionico è un valore calcolato; una formula che si utilizza è: Gap anionico = sodio - (cloro + bicarbonato); una formula alternativa include sodio e potassio. Un gap anionico elevato implica la presenza di anioni non misurati, probabilmente a causa di un processo patologico acuto o cronico dovuto all'ingestione di una sostanza tossica | 7-16 mmol/l | ↑ Chetoacidosi (denutrizione, diabete non controllato), acidosi lattica, tossicità causata da ingestione di sostanze quali alcol, salicilati, glicole etilenico (antigelo), ossalato |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

ALTRI IONI MISURATI DI FREQUENTE

Alcuni altri ioni, non inclusi nel pannello elettrolitico, vengono comunemente sottoposti ad analisi di chimica clinica. Allo stesso modo degli elettroliti, questi ioni sono presenti in molti tessuti diversi e hanno molte funzioni metaboliche differenti.

IONI

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|--|---|--|---|--|
| Calcio (Ca ⁺⁺) | Minerale necessario per la formazione delle ossa e per la coagulazione del sangue, importante per la funzionalità nervosa e muscolare | Spesso viene misurato come test di screening, poiché viene in genere controllato e mantenuto in una gamma di concentrazione molto stretta. Le anomalie possono essere il segnale di una vasta gamma di problemi metabolici | 8,6-10,3 mg/dl 2,15-2,50 mmol/l | <ul style="list-style-type: none"> ↑ Iperparatiroidismo, alcune forme tumorali, assunzione eccessiva di vitamina D ↓ Iparatiroidismo, deficienza di vitamina D, malattia renale cronica, pancreatite |
| Fosforo (fosfato) (PO ₄ ⁻³) | Minerale importante per il metabolismo osseo, la produzione di energia e la funzionalità nervosa e muscolare | Viene in genere misurato insieme ad altri analiti per facilitare la diagnosi di disturbi del metabolismo del calcio | 2,7-4,5 mg/dl 0,87-1,45 mmol/l | <ul style="list-style-type: none"> ↑ Insufficienza renale, sovradosaggio di vitamina D, assunzione di fosfato eccessiva ↓ Utilizzo eccessivo di diuretici o antiacidi, iperparatiroidismo |
| Magnesio (Mg ⁺⁺) | Minerale essenziale per la funzionalità di molti enzimi, in particolare quelli che convertono energia per la funzione muscolare. Importante anche per la struttura ossea | Viene spesso ordinata come analisi di follow-up nei casi di valori di calcio o potassio bassi oppure per valutare i sintomi di problemi muscolari quali debolezza, spasmi, crampi o aritmie cardiache | 1,6-2,6 mg/dl 0,66-1,07 mmol/l | <ul style="list-style-type: none"> ↑ Patologia renale, disidratazione grave ↓ Malassorbimento, pancreatite, diarrea, alcolismo ↑ Eclampsia, trattamento ed emergenze ostetrici |
| Ferro (Fe ⁺⁺) | Componente fondamentale delle proteine di trasporto dell'ossigeno, come l'emoglobina e la mioglobina. Fa anche parte di molti enzimi coinvolti nel trasporto dell'energia | Si utilizza soprattutto per determinare lo stato del ferro, ovvero per valutare se il paziente soffre di deficienze di ferro oppure di una sindrome di sovraccarico di ferro | Maschio 66-175 µg/dl 11,6-31,3 µmol/l Femmina 50-170 µg/dl 9-30,4 µmol/l | <ul style="list-style-type: none"> ↑ Trasfusioni di sangue ripetute, iniezioni di ferro, emocromatosi ereditaria ↓ Dieta povera di ferro, perdite di sangue, anemia |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

PICCOLE MOLECOLE E METABOLITI

La formazione (anabolismo) e la rottura (catabolismo) delle molecole biologiche sono fondamentali per la vita. Tutti gli organismi viventi utilizzano le molecole come fonti di energia, come costituenti di cellule e tessuti e come sensori metabolici per il controllo del metabolismo.

Durante i processi metabolici vengono create e distrutte migliaia di piccole molecole (in questa sezione per "piccole" si intende inferiore al peso molecolare di 1.000) ogni giorno. Quelle che circolano nel sangue o vengono escrete con le urine possono diventare utili indicatori del funzionamento del corpo, per valutare se il paziente utilizza e immagazzina energia in modo efficiente, se elimina i prodotti di scarto e se è sano. Alcune delle piccole molecole analizzate di frequente sono quelle che evidenziano lo stato nutrizionale, quelle che riflettono l'eliminazione dei prodotti di scarto e quelle che sono indicative del controllo metabolico. Alcuni esempi di ogni tipo sono riportati nelle tabelle che seguono.

PICCOLE MOLECOLE: NUTRIZIONE

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|--------------------------|--|---|---|--|
| Glucosio | Una delle principali fonti di energia per molti tessuti, regolata dagli ormoni quali insulina, cortisolo e glucagone | Per eseguire analisi del diabete (quantità elevate di glucosio nel sangue provocato da carenza o resistenza all'insulina). Nei casi di cure intensive, consente di esaminare lo stato metabolico | Valore target a digiuno 74-106 mg/dl 4,1-5,9 mmol/l | ↑ Diabete, morbo di Cushing, stress ↓ Eccesso di insulina, malnutrizione, insufficienza surrenalica |
| Vitamina B ₁₂ | Necessaria per la funzionalità dei globuli rossi e importante nella funzionalità nervosa | Per individuare una carenza quando si evidenziano bassi valori di ferro e globuli rossi di grandi dimensioni (anemia macrocitica) e per monitorare le terapie per l'insufficienza di vitamina B ₁₂ | 200-835 pg/ml 148-616 pmol/l | ↑ Alcune leucemie ↓ Malnutrizione, malassorbimento, anemia perniciosa |
| Acido folico | Necessario per la funzionalità dei globuli rossi e importante per la divisione cellulare, particolarmente richiesto durante la gravidanza per lo sviluppo del feto; una deficienza di questo elemento può provocare difetti del tubo neurale | Viene misurato con la vitamina B ₁₂ per individuare la causa dell'anemia macrocitica e la terapia prescritta per la carenza di folato | 3-20 ng 7-45 mmol/l | ↑ Anemia perniciosa ↓ Malnutrizione, malassorbimento (ad esempio, in caso di celiachia o alcolismo) |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

PICCOLE MOLECOLE: PRODOTTI DI SCARTO

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUZIONE DEI VALORI |
|--|--|--|--|--|
| Bilirubina totale** | Questo prodotto della rottura dell'emoglobina viene escreto dal fegato nella bile e circola nel sangue in due forme: coniugata e non coniugata. La differenza dipende dalla presenza dei gruppi carbossilici liberi (non coniugati) o esterificati (coniugati) | Per valutare la funzionalità epatica | 0,1-1,2 mg/dl 2-21 µmol/l | ↑ Epatite, cirrosi, patologie emolitiche e ostruzione dei dotti biliari o epatici |
| Bilirubina diretta** (bilirubina coniugata) | La forma coniugata è solubile in acqua, prodotta nel fegato ed escreta nel sangue. Reagisce direttamente con i coloranti diazo, viene quindi definita reazione diretta | Per testare la capacità del fegato di coniugare la bilirubina ed espellerla | <0,3 mg/dl <5 µmol/l | ↑ Ostruzione dei dotti biliari o epatici, condizioni ereditarie con la sindrome di Dubin-Johnson |
| Bilirubina indiretta** (bilirubina non coniugata) | La forma non coniugata è liposolubile ed è il prodotto della rottura dell'emoglobina. Reagisce con i coloranti diazo solo in presenza di attivatori, viene quindi definita reazione indiretta | La bilirubina indiretta viene calcolata come Bilirubina totale - Bilirubina diretta. È la differenza tra le forme totale e diretta | 0,1-1,0 mg/dl 2-17 µmol/l | ↑ Condizioni ereditarie come la sindrome di Gilbert e la sindrome di Crigler-Najjar |
| Bilirubina neonatale | Bilirubina non coniugata che si trova nei neonati con un fegato troppo immaturo per coniugare la bilirubina. Nei neonati la bilirubina non coniugata può insinuarsi nel tessuto grasso del cervello e nel sistema nervoso centrale, causando danni cerebrali (ritardo mentale, difetti uditivi o paralisi cerebrale) | I neonati vengono tenuti sotto costante controllo con analisi della bilirubina per stabilire se è necessario un intervento per ridurre la bilirubina e, di conseguenza, il rischio di danni al cervello e al sistema nervoso | 3-5 giorni d'età, prematuro: <16 mg/dl <274 µmol/l 3-5 giorni d'età, nati a termine: 1,5-12 mg/dl 26-205 µmol/l | ↑ Emolisi dei globuli rossi come nelle incompatibilità di Rh, kernittero |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19a edizione.

PICCOLE MOLECOLE: PRODOTTI DI SCARTO (CONTINUA)

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUZIONE DEI VALORI |
|---|---|--|--|---|
| Acido lattico | Questo metabolita viene rilasciato dai muscoli in condizioni di produzione anaerobica dell'energia. Quando ne vengono rilasciate grandi quantità nel sangue, può sbilanciare l'equilibrio acido/base (acidosi lattica) | Per valutare i sintomi che suggeriscono uno scarso apporto di ossigeno ai tessuti, come fiato corto e debolezza muscolare, e per valutare pazienti sotto shock, insufficienza cardiaca congestizia o coma | 4,5-19,8 mg/dl 0,5-2,2 mmol/l | ↑ Shock, affaticamento muscolare, chetoacidosi diabetica, ipossia dei tessuti, infezioni gravi come la meningite |
| Acido urico | Un prodotto di scarto della rottura delle purine (componenti del DNA) che viene escreto dai reni. Quantità eccessive di acido urico possono provocare depositi di cristalli di urato nelle giunture (gotta) o nei reni (calcoli renali) | Per valutare le infiammazioni delle giunture che potrebbero derivare dalla gotta. Spesso ordinate per monitorare la produzione di acido urico nei pazienti sottoposti a chemioterapia o trattamenti con radiazioni | Maschio 3,5-7,2 mg/dl 0,21-0,42 mmol/l Femmina 2,6-6,0 mg/dl 0,15-0,35 mmol/l | ↑ Gotta, patologia renale, leucemia |
| Creatinina | Prodotto di scarto della rottura da parte dei muscoli di un composto chiamato creatina, che viene escreto dai reni con le urine | Per valutare la funzionalità renale e monitorare le terapie prescritte per le patologie renali. La creatinina si può misurare nel sangue, nelle urine o in entrambi per la valutazione della funzionalità renale | Maschio 0,7-1,3 mg/dl 62-115 µmol/l Femmina 0,6-1,1 mg/dl 53-97 µmol/l | ↑ Insufficienza renale che può essere dovuta a una serie di cause diverse, come una farmacotossicità, un diabete non controllato o un flusso sanguigno non adeguato attraverso i reni, come accade in caso di traumi o insufficienza cardiaca congestizia |
| Azoto ureico (BUN) | Prodotto di scarto della rottura della proteina da parte del fegato escreto dai reni | Spesso ordinata insieme alla creatinina per la valutazione della funzionalità renale. Si utilizza anche per monitorare i pazienti dializzati | 6-20 mg/dl 2,1-7,1 mmol/l | ↑ Insufficienza renale, stress, diete ad alto contenuto proteico ↓ Diete a basso contenuto proteico, patologia epatica |
| Ammoniaca** (NH ₄ ⁺) | Prodotto di scarto della rottura di amminoacidi convertito in urea dal fegato. Un aumento dei livelli di ammoniaca può causare alterazioni neurologiche nel cervello | Per valutare sintomi di disorientamento, confusione e coma negli adulti e irritabilità, letargia e convulsioni nei neonati | 40-80 µg/dl 23-47 µmol/l | ↑ Patologia epatica grave, cirrosi, epatite grave, sindrome di Reye, insufficienze genetiche ereditarie |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19a edizione.

PICCOLE MOLECOLE: ORMONI

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | VALORI PREVISTI* |
|--|--|--|---|
| Ormone tireotropo (TSH) | Prodotto dalla ghiandola pituitaria, mantiene stabile le quantità di ormoni della tiroide (T3 e T4) nel sangue | Per lo screening o la diagnosi delle patologie della tiroide e per monitorare il trattamento di tali patologie | I valori previsti sono compresi tra 0,4 e 4,2 mIU/ml; se si utilizza il TSH per il monitoraggio di un trattamento, l'analisi ad alta sensibilità o di 3a generazione definita hs-TSH è più indicata per la misurazione del TSH a livelli molto bassi. ↓ Il TSH indica un ipertiroidismo con sintomi quali ansia, perdita di peso, tremori, debolezza, sensibilità alla luce, gonfiore intorno agli occhi/occhi sporgenti; ↑ Il TSH indica un ipotiroidismo con sintomi quali aumento di peso, pelle secca, intolleranza al freddo, perdita di capelli e affaticamento |
| Tiroxina (T4) e Triiodotironina (T3) | L'ormone T4 è prodotto dalla tiroide e convertito in T3 dal fegato; controlla la produzione di energia (tasso metabolico) nei tessuti. Entrambi gli ormoni circolano soprattutto legati alla proteina | Come follow-up dopo un'analisi con valori di TSH anomali. Le analisi di laboratorio possono misurare l'ormone totale o l'ormone libero (non legato a proteina) | L'interpretazione di T4 e T3 dipende dalla configurazione dei risultati di tutte e tre le analisi: TSH, T4 e T3 (per ulteriori informazioni, vedere la sezione 7) |
| Estrogeno | Un ormone femminile, prodotto dalle ovaie, che avvia l'ovulazione | Per valutare le cause di infertilità e l'avanzamento della menopausa | I valori di riferimento differiscono in base alla fase del ciclo mestruale; per le donne, ↓ dopo la menopausa, nel caso di disfunzioni ovariche, di gravidanze non portate a termine e di sindrome dell'ovaio policistico. ↑ nella prima pubertà e in caso di tumori alle ovaie e alle ghiandole surrenali. Per gli uomini, ↑ tumori ai testicoli o alle ghiandole surrenali, pubertà ritardata e seni evidenti. Entrambi i sessi, ↑ ipertiroidismo e cirrosi. ↓ Sindrome di Turner |
| Testosterone | Ormone responsabile per lo sviluppo delle caratteristiche sessuali secondarie dei maschi. Nelle femmine viene convertito in estradiolo, l'ormone sessuale femminile principale | Per valutare l'infertilità o la disfunzione erettile nei maschi adulti. Nei maschi giovani nei casi di ritardo della pubertà. Nelle femmine nel caso di sviluppo di tratti maschili (virilizzazione) | Prima dei 10 anni di età i valori sono simili nei maschi che nelle femmine. I valori tendono ad aumentare con l'età specialmente nei maschi, dove si assiste a un sostanziale aumento alla pubertà. I maschi adulti hanno livelli di testosterone molto alti rispetto alle femmine adulte. I risultati delle analisi devono essere confrontati a un valore di riferimento appropriato basato su sesso ed età. ↓ patologia dell'ipotalamo o della ghiandola pituitaria, alcune malattie genetiche associate a insufficienze dei testicoli e infertilità oppure a malattie croniche. Nei maschi ↑ tumore ai testicoli o dalle ghiandole surrenali, pubertà anticipata, iperplasia congenita delle ghiandole surrenali in neonati e bambini, uso di steroidi anabolizzanti. Nelle femmine ↑ sindrome dell'ovaio policistico, tumore alle ovaie o alle ghiandole surrenali e iperplasia congenita delle ghiandole surrenali |
| Beta-gonadotropina corionica umana (β-HCG) | La β-HCG è una proteina prodotta nella placenta durante la gravidanza. Nelle donne non gravide la proteina β-HCG non viene rilevata. Nelle donne gravide i valori di β-HCG raddoppiano ogni due o tre giorni nel corso delle prime settimane di gravidanza | Le analisi della β-HCG nel sangue o nelle urine si utilizzano per confermare la gravidanza | Le analisi che rilevano la β-HCG Possono essere qualitative o quantitative: le analisi qualitative in genere consentono di rilevare la gravidanza dopo circa 10 giorni dall'ultima mestruazione. Le analisi quantitative vengono usate più spesso per rilevare una gravidanza ectopica o per monitorare una donna dopo un aborto spontaneo. ↑ gravidanza, gravidanza ectopica, malattia trofoblastica gestazionale e tumore delle cellule germinali |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

PROTEINE

Le proteine sono delle macromolecole, polimeri che si formano da aminoacidi essenziali. La maggior parte delle proteine sono di grandi dimensioni, con peso molecolare che spazia da 30.000 a più di 500.000. Sono parte integrante di cellule, fluidi e organi del corpo.

Le proteine oggetto delle analisi di chimica clinica sono soprattutto quelle che circolano nel sangue. Tra queste si contano le proteine del plasma, le proteine di trasporto, le proteine di difesa e le proteine di coagulazione, la cui funzione primaria si svolge soprattutto nella circolazione e nei fluidi extracellulari. La maggior parte di queste proteine viene prodotta dal fegato, fatta eccezione per le immunoglobuline che sono invece prodotte da cellule immunitarie (nello specifico i linfociti B).

Altre proteine che a volte si trovano nel sangue sono proteine che hanno funzioni primarie intracellulari. Possono provenire dall'interno delle cellule da cui sono state prodotte e la loro presenza nel sangue è spesso il segnale di qualche tipo di danno cellulare.

PROTEINE: GENERALI E DI TRASPORTO

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|-------------------------------|--|---|---|--|
| Proteina totale, siero/plasma | Misura la quantità di proteine, soprattutto albumina e gruppo line, che si trova nel siero nel plasma, mantiene la pressione oncotica del sistema circolatorio | Per valutare se i valori di proteina sono al livello previsto | 6,4-8,3 g/dl 64-83 g/l | ↑ Disidratazione, infezioni, alcuni cancro come mieloma e linfoma ↓ Perdita di proteine (dai reni o dal tratto gastrointestinale), patologia epatica, malnutrizione |
| Proteina nelle urine | Di norma vengono rilevate quantità di proteina molto ridotte nelle urine. Se il livello di proteina è alto, è probabile che i reni non riescono a mantenere/riassorbire la proteina in modo corretto | Per valutare la funzionalità renale. Si utilizza spesso per monitorare i pazienti che assumono determinati farmaci nefrotossici | 50-80 mg/giorno | ↑ Insufficienza renale (sindrome nefrosica), diabete |
| Proteina CSF** | Proteina nel liquido cerebrospinale; i componenti sono simili a quelli nel plasma sanguigno | Si utilizza per verificare la possibile presenza di malattie del sistema nervoso centrale | 12-60 mg/dl 120-600 mg/l | ↑ Meningite, tumori del cervello o della colonna vertebrale, sclerosi multipla, sindrome di Guillain-Barré |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19a edizione.

PROTEINE: GENERALI E DI TRASPORTO (CONTINUA)

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|---|--|--|--|---|
| Albumina, siero/plasma | La principale proteina nel sangue prodotta dal fegato. Si lega a e trasporta molte sostanze | I livelli di albumina sono un indicatore generale della salute e dello stato nutrizionale | 3,5-5,2 g/dl 35-52 g/l | ↑ Disidratazione, infezione, tumori maligni ↓ Malnutrizione, ustioni, patologie renali, patologie epatiche |
| Albumina nelle urine** (microalbumina) | Le dimensioni dell'albumina sono troppo grandi perché passi dal plasma alle urine. La sua presenza nelle urine segnala un problema relativo al sistema di filtrazione glomerulare dei reni | Si utilizza per monitorare la funzionalità renale e per eseguire lo screening dei primi stadi di insufficienza renale nei diabetici o nelle persone con una pressione sanguigna elevata | 15-150 mg/24 ore | ↑ Patologia renale |
| Globuline** | Termine che indica le proteine nel sangue diverse dall'albumina | Si calcolano con la formula Proteina totale meno Albumina. Le globuline sono l'altra principale frazione proteica | 2,3-3,5 g/dl 23-35 g/l | ↑ Infezioni, mieloma multiplo ↓ Leucemie, immunosoppressione |
| Prealbumina (transtiretina) | Proteina non correlata all'albumina. Si lega alla tirosina e partecipa al trasporto della vitamina A. Aumenta e diminuisce rapidamente a seconda dello stato nutrizionale | Marcatore nutrizionale utilizzato di frequente per valutare lo stato nutrizionale dei pazienti ospedalizzati o dei pazienti in attesa di intervento chirurgico. Non dipende dallo stato di idratazione | 10-40 mg/dl 100-400 mg/l | ↓ Malnutrizione, patologia epatica, infiammazione |
| Ferritina | Proteina che immagazzina il ferro rilevabile soprattutto all'interno delle cellule | Le analisi della ferritina si eseguono spesso insieme alle analisi di ferro e transferrina per valutare lo stato generale del ferro | Maschio 20-250 µg/l o ng/ml Femmina 10-120 µg/l o ng/ml | ↑ Sovraccarico di ferro, infiammazione, trasfusioni di sangue ripetute ↓ Carezza di ferro |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19a edizione.

PROTEINE: GENERALI E DI TRASPORTO (CONTINUA)

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUZIONE DEI VALORI |
|--|---|--|---|--|
| Transferrina | Proteina principale per il trasporto del ferro. Viene prodotta dal fegato | Analisi per lo stato del ferro | 215-380 mg/dl 2,15-3,80 g/l | <p>↑ Carenza di ferro, gravidanza e contraccettivi orali</p> <p>↓ Anemia emolitica, malnutrizione, infiammazione e patologia epatica</p> |
| Capacità totale ferro legante (TIBC) | La quantità massima di ferro che può essere trasportata dalla transferrina nel sangue | Analisi dello stato del ferro. Descrive la quantità di transferrina in termini di capacità di trasporto del ferro | 250-425 µg/dl 44,8-71,6 µmol/l | <p>↑ Carenza di ferro, gravidanza e contraccettivi orali</p> <p>↓ Anemia emolitica, malnutrizione, infiammazione e patologia epatica</p> |
| Capacità ferro legante non saturata (TIBC) | Capacità di riserva della transferrina per ulteriore trasporto del ferro | Si utilizza in alcuni casi per monitorare il trattamento della tossicità da ferro | 110-370 µg/dl 19,7-66,2 µmol/l | <p>↑ Carenza di ferro, gravidanza e contraccettivi orali</p> <p>↓ Anemia emolitica, malnutrizione, infiammazione e patologia epatica</p> |
| Aptoglobina | Si lega a e trasporta l'emoglobina libera rilasciata dai globuli rossi distrutti | Si utilizza per distinguere l'anemia emolitica (distruzione rapida dei globuli rossi) dagli altri tipi di anemia | 26-185 mg/dl 260-1850 mg/l | <p>↑ Infezione o infiammazione</p> <p>↓ Anemia emolitica, emolisi intravascolare</p> |
| Ceruloplasmina | Proteina che si lega a e trasporta il rame | Si misura insieme alle concentrazioni di rame nel siero e/o nelle urine, per individuare le malattie da metabolismo del rame, come la malattia di Wilson | 18-45 mg/dl 180-450 mg/l | <p>↑ Infiammazione, gravidanza</p> <p>↓ Malattia di Wilson, carenza di rame</p> |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

IMMUNOGLOBULINE

Le immunoglobuline sono anticorpi circolanti essenziali per la difesa contro le sostanze estranee. Sono in grado di riconoscere strutture antigeniche specifiche su proteine, virus o batteri, di legarsi a tali strutture e avviare una serie di reazioni (definite risposta immunitaria) finalizzate a disattivare e distruggere l'antigene. Le immunoglobuline vengono suddivise in monoclonali e policlonali. Le immunoglobuline monoclonali vengono prodotte da una singola linea di globuli bianchi (cellule T) e hanno tutte la medesima composizione chimica, sequenza e struttura. Con il termine policlonali si fa riferimento a un aggregato di immunoglobuline monoclonali prodotte da molte linee diverse di cellule T. Un aumento dei livelli di immunoglobuline policlonali segnala la presenza di infezioni e infiammazioni, con una conseguente risposta immunitaria diffusa all'agente infettivo. L'aumento delle proteine monoclonali si osserva nel caso dei tumori quali il mieloma multiplo, la macroglobulinemia di Waldenstrom e di alcuni linfomi. In queste condizioni un singolo clone di cellule T è diventato maligno e produce quantità eccessive di una singola versione di una immunoglobulina. Le immunoglobuline monoclonali possono essere IgA, IgG, IgM o IgE.

PROTEINE: IMMUNOGLOBULINE

| ANALITA | DESCRIZIONE | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* |
|---------|---|---|
| IgA** | Protegge le membrane mucose, si trova nella saliva, nelle lacrime e nel sudore. Circa il 10-15% delle immunoglobuline del siero sono IgA | 113-563 mg/dl 1,1-5,6 g/l |
| IgG** | L'IgG costituisce circa il 75-80% delle immunoglobuline del siero totali. Conferisce un'immunità a lungo termine e passa attraverso la placenta per garantire una protezione passiva al feto | 800-1801 mg/dl 8-18 g/l |
| IgM** | L'IgM è l'immunoglobulina di dimensioni maggiori ed è la prima a formarsi in risposta a un'infezione. Comprende circa il 10-15% delle immunoglobuline circolanti e attiva dei fattori di complemento per la distruzione degli agenti estranei | 54-222 mg/dl 0,5-2,2 g/l |
| IgE | L'IgE è responsabile delle reazioni allergiche stimolando la produzione di istamina | 3-423 IU/l |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio.

Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19a edizione.

COMPLEMENTO

Per sistema di complemento si intende una serie di proteine che circolano nel sangue in grado di collaborare alla promozione della risposta immunitaria finalizzata ad attaccare e distruggere gli organismi estranei, come i batteri. I due componenti che si misurano più di frequente sono C3 e C4. Le analisi del sistema di complemento vengono in genere prescritte per individuare la possibile causa di infezioni frequenti oppure di un'attività autoimmune eccessiva.

PROTEINE: COMPLEMENTO

| ANALITA | DESCRIZIONE | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* |
|----------------|---|---|
| Complemento C3 | Proteina centrale per tutti i percorsi di attivazione del complemento | 83-177 mg/dl 0,83-1,77 g/l |
| Complemento C4 | Proteina che funziona con i complessi anticorpo-antigene per attivare il sistema di complemento | 29-68 mg/dl 0,29-0,68 g/l |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

PROTEINE DELLA COAGULAZIONE

La maggior parte delle proteine della coagulazione vengono misurati in dosaggi funzionali per rilevare la qualità del supporto da parte del plasma della formazione dei coaguli, quando attivata da un agente specifico. Queste analisi, che non misurano molecole specifiche che partecipano alla coagulazione, di solito non vengono eseguite nella sezione di chimica clinica del laboratorio, ma nel laboratorio di coagulazione. Esistono, tuttavia, alcune analisi in grado di misurare proteine specifiche della cascata di coagulativa.

PROTEINE: PROTEINE DELLA COAGULAZIONE

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA |
|-------------|--|---|
| Fibrinogeno | Il fibrinogeno è una proteina solubile che viene convertita dai fattori coagulanti in fibrina insolubile, che stabilizza un coagulo sul sito della lesione proteggendo il sito fino a guarigione | Per stabilire se è presente una quantità di fibrinogeno sufficiente alla normale coagulazione del sangue e se il fibrinogeno è stato consumato in un processo denominato coagulazione intravascolare disseminata (DIC) |
| D-dimero | Il D-dimero è il prodotto della rottura dei coaguli di sangue, denominati prodotti di degradazione della fibrina. In particolare il di di mero consiste di frammenti di fibrina legati in cross-link | Per determinare se si sono formati coaguli di sangue in circolazione, specialmente nei casi di trombosi venosa profonda (DVT), coagulazione intravascolare disseminata (DIC) ed embolia polmonare (PE), poiché il D-dimero non viene di norma rilevato nel sangue; la presenza di D-dimero segnala livelli di coagulazione troppo elevati |

ENZIMI

Le reazioni metaboliche nel sangue sono regolate da catalizzatori biologici definiti enzimi. Gli enzimi sono attivi soprattutto nelle cellule. La loro presenza nel sangue è in genere il risultato di perdite da cellule danneggiate.

PROTEINE: ENZIMI

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|----------------------------------|--|--|--|--|
| Alanina aminotransferasi (ALT) | Si trova soprattutto nel fegato | Per valutare Le patologie epatiche, in modo più specifico rispetto all'AST | Maschio 13-40 U/l 0,22-0,68 µkat/l Femmina 10-28 U/l 0,17-0,48 µkat/l | ↑ Epatite, cirrosi, sindrome di Reye, epatoma (cancro al fegato), monitoraggio dei danni epatici indotti dai farmaci |
| Aspartato aminotransferasi (AST) | Molto diffuso nei tessuti, in particolare nel fegato, nel cuore e nell'apparato muscolo-scheletrico | Per valutare le insufficienze epatica | 8-20 U/l 0,14-0,34 µkat/l | ↑ Patologia epatica, infarto, trauma |
| Fosfatasi alcalina** (ALP) | Si trova in molti tessuti, in particolare ossa, intestino, reni e fegato | Valutazione di patologie ossee ed epatiche | 20-130 U/l 0,67 - 2,51 µkat/l | ↑ Patologia epatica, patologia ossea e periodi di crescita ossea ↓ Carezza di fosfato, ipotiroidismo, anemia perniciososa |
| Gamma glutamil-transferasi (GGT) | Presente nel fegato e in alcuni altri tessuti. È un indicatore molto sensibile delle insufficienze epatiche | Per valutare le patologie o i danni epatici | Maschio 2-30 U/l 0,03-0,51 µkat/l Femmina 1-24 U/l 0,02-0,41 µkat/l | ↑ Ostruzioni alle vie biliari, patologie epatiche indotte dall'alcol |
| Lattato deidrogenasi (LD) | Ampiamente diffuso in tessuti quali il cuore, i polmoni, il fegato, i reni e l'apparato muscolo-scheletrico. Si trova in cinque forme differenti numerate da LD-1 a LD-5, con diverse forme che predominano in tessuti diversi | Indicatore generale dei danni ai tessuti | 100-190 U/l 1,7-3,2 µkat/l | ↑ Infarto, patologia epatica, patologia polmonare, trauma |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19a edizione.

PROTEINE: ENZIMI (CONTINUA)

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|--|---|--|--|--|
| Creatinchinasi (CK) | Le diverse forme di enzima muscolare dell'enzima sono specifiche per i diversi tipi di tessuto. Il CK-BB si trova soprattutto nel cervello e nel tessuto neurologico. Il CK-MB, soprattutto nel muscolo cardiaco. Il CK-MM, soprattutto nell'apparato muscolo-scheletrico | Il CK-MB è un indicatore delle lesioni muscolari e il valore di questo enzima risulta elevato dopo circa 4-6 ore da un infarto (infarto del miocardio, MI). Prima della disponibilità delle analisi della troponina, si utilizzava il CK-MB per la diagnosi dell'infarto del miocardio | Maschio 25-130 U/l 0,43-2,21 µkat/l Femmina 10-115 U/l 0,17-1,96 µkat/l | ↑ Lesione muscolare, esercizi muscolari estremi, trauma ↓ Persone con una massa muscolare molto ridotta |
| Amilasi | Enzima della digestione secreto dalle ghiandole salivari e pancreatiche, responsabile per la digestione degli amidi | Per diagnosticare la pancreatite | 27-131 U/l 0,46-2,23 µkat/l | ↑ Pancreatite acuta, dotti biliari ostruiti ↓ Alcune patologie epatiche |
| Lipasi | Enzima della digestione secreto dal pancreas e dalle ghiandole salivari, responsabile per la demolizione dei trigliceridi | Per diagnosticare la pancreatite | 31-186 U/l 0,5-3,2 µkat/l | ↑ Pancreatite acuta o cronica o altre patologie pancreatiche, a volte con presenza di calcoli biliari |
| Attività della colinesterasi o pseudocolinesterasi | Le colinesterasi sono enzimi che reagiscono con la succinilcolina, un rilassante muscolare utilizzato in chirurgia. Le persone con una carenza genetica di questo enzima palesano reazioni prolungate, a volte fatali, al farmaco succinilcolina | Se si sospetta una carenza genetica o un avvelenamento da insetticida | 4,9-11,9 U/ml o kU/l | ↑ Avvelenamento da insetticida ↓ Carenza genetica |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

MARKER TUMORALI

I marker tumorali sono proteine che vengono prodotte selettivamente e rilasciate dalle cellule tumorali (cancro), ma in genere non dalle cellule normali. La presenza di queste proteine si può utilizzare ai fini di uno screening, per facilitare una diagnosi, valutare lo stadio della malattia, monitorare l'efficacia della terapia e ottenere prove di una recidiva. Non tutti i marker tumorali si possono utilizzare per questi scopi. I marker tumorali utili per lo screening nelle popolazioni asintomatiche sono relativamente pochi. La maggior parte dei marker viene utilizzata soprattutto per monitorare i trattamenti e cercare prove di una recidiva. Nella tabella riportata di seguito sono descritti i marker più comuni. I marker tumorali in genere vengono misurati utilizzando dosaggi immunometrici e gli intervalli di riferimento sono specifici per il metodo.

PROTEINE: MARKER TUMORALI

| ANALITA | TIPI DI CANCRO IN CUI È PRESENTE L'ANALITA | PERCHÉ SI MISURA |
|-------------------------------------|---|--|
| Antigene prostatico specifico (PSA) | Prostata | Screening di pazienti asintomatici Conferma di diagnosi Monitoraggio della terapia Individuazione di una recidiva |
| Antigene carcinoembrionario (CEA) | Colorettale, polmone, seno, fegato, pancreas, vescica | Monitoraggio del trattamento Individuazione di una recidiva |
| Antigene tumorale 125 (CA 125) | Ovarico | Conferma di diagnosi Monitoraggio del trattamento Individuazione di una recidiva |
| Antigene tumorale 15-3 (CA 15-3) | Seno, alcuni ovarici | Stadio della malattia Monitoraggio del trattamento Individuazione di una recidiva |
| Alfafetoproteina (AFP) | Fegato, ovarico, testicolare | Monitoraggio del trattamento Individuazione di una recidiva |

PROTEINE: SPECIALI

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | VALORI PREVISTI* |
|---|--|--|---|
| Emoglobina glicata HbA1c** | Molecola di emoglobina con una molecola di glucosio in legame covalente | Nei diabetici fornisce una buona stima del controllo del glucosio in un periodo di tre mesi (la durata di un globulo rosso) | Non diabetici 4-6% (2-42 mmol/mol) Diabetici sotto controllo <7% (<53 mmol/mol) |
| Troponina I e Troponina T | Le troponine sono proteine intracellulari che si trovano in modo specifico nel muscolo cardiaco. Vengono rilasciate quando si verifica un danno alle cellule cardiache | Diagnosi dell'infarto (infarto del miocardio, MI) | Il livello previsto è spesso inferiore al limite di rilevamento dell'analisi. Il modello di aumento e ritorno al valore più basso o ai livelli non rilevabili rappresenta la base per la diagnosi dell'infarto il miocardio |
| Fattore reumatoide (RF) | L'autoanticorpo IgM umano che aumenta nel caso delle malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide | Prescritta nell'ambito di una valutazione delle infiammazioni e dei dolori alle giunture per la diagnosi dell'artrite reumatoide | In assenza di malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide o la sindrome di Sjögren, sono previsti valori bassi. Una soglia atipica per queste analisi è <30 U/mL |
| Proteina C-reattiva (CRP) | La CRP è una proteina che viene prodotta in risposta a processi infettivi o infiammatori | Per valutare la gravità delle malattie infiammatorie come l'artrite reumatoide o le malattie infiammatorie dell'intestino | <1 mg/dl <10 mg/l |
| Proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hsCRP) | Misura la CRP a concentrazioni osservate in assenza di patologie o crisi di malattie infiammatorie | Viene in genere misurata con un pannello lipidico per valutare il rischio cardiovascolare, in relazione ai livelli di infiammazione delle arterie associate con la placca aterosclerotica | L'American Heart Association considera il rischio medio associato a valori di hsCRP di 1,0-3,0 mg/l |
| Peptide natriuretico tipo B (BNP) e NT-proBNP | Deriva da una proteina prodotta nelle cellule cardiache chiamata proBNP ridotta fino a formare BNP, che aiuta a regolare il volume del sangue, e da un peptide inattivo chiamato NT-proBNP | Le analisi di BNP o NT-proBNP si utilizzano per individuare e valutare le insufficienze cardiache | BNP e NT-proBNP aumentano entrambi in caso di disfunzioni ventricolari, mentre diminuiscono in presenza di una terapia farmacologica per il trattamento dell'insufficienza cardiaca. Si può misurare il BNP o il NT-proBNP, ma i risultati non sono intercambiabili |
| Antistreptolisina O (ASO) | Le analisi verificano la presenza di anticorpi alla streptolisina O, una tossina prodotta dai batteri dello streptococco Gruppo A (<i>Streptococcus pyogenes</i>) | Rileva un'infezione streptococcica recente in un paziente che presenti sintomi che potrebbero essere dovuti a una malattia causata da un'infezione streptococcica precedente. Viene prescritta quando si manifestano i sintomi | Il valore di soglia utilizzato più di frequente è <300 IU/l |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**L'American Diabetic Association basa i propri intervalli di riferimento sui risultati del Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) e sui valori standardizzati in base al National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). L'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) consiglia di utilizzare gli intervalli di riferimento espressi in mmol di emoglobina A1c per mole di emoglobina sulla base del proprio programma di standardizzazione.

LIPIDI E LIPOPROTEINE

Lipidi e lipoproteine vengono misurati soprattutto come indicatori di un rischio di patologia cardiovascolare. L'interpretazione del rischio si basa su una serie di lipidi diversi. Alcuni degli analiti nel profilo di rischio lipidico possono risultare alti in conseguenza di altre patologie sottostanti, come l'ipotiroidismo, il diabete o le patologie renali. È importante escludere queste possibili cause di anomalie lipidiche prima di procedere a un trattamento considerando tali anomalie esclusivamente come fattori di rischio cardiovascolare.

LIPIDI E LIPOPROTEINE

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|------------------------------------|--|--|--|--|
| Colesterolo totale | Lipide steroideo importante, prodotto dal fegato e utilizzato per la produzione di ormoni steroidei e pareti cellulari | Un valore di colesterolo alto viene considerato come un importante fattore di rischio per le patologie delle arterie coronarie | <200 mg/dl <5,18 mmol/l | ↑ Ipotiroidismo, diabete non controllato, patologia renale ▼ Patologia epatica, malnutrizione, anemia |
| Lipoproteina ad alta densità (HDL) | L'HDL rimuove l'eccesso di colesterolo dal tessuto per l'escrezione. Valori di HDL elevati sono stati messi in relazione a una maggiore protezione dalle patologie delle arterie coronarie | Parte del profilo di rischio cardiovascolare | Maschio >37 mg/dl >0,96 mmol/l Femmina >40 mg/dl >1,04 mmol/l | ↑ Terapia a base di estrogeni, consumo di alcol ▼ Fumo |
| Lipoproteina a bassa densità (LDL) | L'LDL trasporta il colesterolo dal fegato al tessuto periferico. Contribuisce alla formazione di placche che ostruiscono le arterie e provocano le patologie coronariche | Parte del profilo di rischio cardiovascolare | <130 mg/dl <3,37 mmol/l | ↑ Dieta ricca di grassi saturi, disturbi ereditari del metabolismo del colesterolo ▼ Dieta ricca di fibre, trattamento farmaceutico |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

LIPIDI E LIPOPROTEINE (CONTINUA)

| ANALITA | DESCRIZIONE | PERCHÉ SI MISURA | INTERVALLI DI RIFERIMENTO TIPICI PER GLI ADULTI SANI* | POSSIBILE MOTIVAZIONE PER L'AUMENTO O LA DIMINUIZIONE DEI VALORI |
|---|--|--|---|--|
| Lipoproteina a densità molto bassa (VLDL) | Lipoproteina ricca di trigliceridi che viene secreta dal fegato ed è il precursore del LDL | Parte del profilo di rischio cardiovascolare | <30 mg/dl <0,77 mmol/l | ↑ Dieta ricca di grassi saturi, disturbi ereditari del metabolismo del colesterolo ↓ Dieta ricca di fibre, trattamento farmaceutico |
| Trigliceridi | Forma chimica degli acidi grassi per il trasporto e l'immagazzinamento nei tessuti adiposi | Parte del profilo di rischio cardiovascolare | <250 mg/dl <2,83 mmol/l | ↑ Ipotiroidismo, alcolismo, patologia epatica, diabete non controllato |
| Lipoproteina(a) Lp(a) | Variante del LDL con una catena proteica aggiuntiva legata | Valori di Lp(a) elevati sono associati a un aumento del rischio di patologie cardiovascolari | <30 mg/dl 1,07 umol/l 28-53% delle lipoproteine totali | ↑ Tratto ereditato |
| Apolipoproteina A | Porzione proteica dell'HDL | Viene a volte inclusa nei profili di rischio cardiaco | Maschio 94-178 mg/dl 0,94-1,78 g/l Femmina 101-199 mg/dl 1,01-1,99 g/l | ↑ Terapia a base di estrogeni, consumo di alcol ↓ Fumo |
| Apolipoproteina B | Porzione proteica di VLDL e LDL | Viene a volte inclusa nei profili di rischio cardiaco | Maschio 63-133 mg/dl 0,63-1,33 g/l Femmina 60-126 mg/dl 0,60-1,26 g/l | ↑ Dieta ricca di grassi saturi, disturbi ereditari del metabolismo del colesterolo ↓ Dieta ricca di fibre, trattamento farmaceutico |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

MONITORAGGIO DEI FARMACI TERAPEUTICI

In generale la maggior parte dei farmaci prescritti non richiede alcun monitoraggio speciale dei livelli di farmaco nel sangue. Tuttavia, in alcuni casi, sono necessarie delle analisi che consentano di verificare che il farmaco non stia provocando effetti indesiderati sulla funzionalità epatica o renale.

I farmaci che richiedono un monitoraggio della concentrazione nel sangue sono quelli con una finestra terapeutica particolarmente stretta. Con questo si intende che esiste una concentrazione definita in modo molto preciso alla quale il farmaco è attivo ed efficace, ma non tossico. Se il livello del farmaco scende al di sotto del limite inferiore, il farmaco non è più efficace. Se invece sale oltre il limite superiore, si introducono rischi per la salute del paziente dovuti alla sua tossicità.

Garantire che il paziente riceva sempre il trattamento più appropriato è difficile quando si utilizzano farmaci con finestre terapeutiche molto strette, come nel caso di alcuni antibiotici. Ai laboratori viene spesso richiesto di analizzare le concentrazioni di farmaco nel momento in cui è previsto il picco di concentrazione per valutare il rischio di tossicità e di rieseguire, quindi, le analisi quando si prevede che la concentrazione è minima, di norma subito prima della dose successiva, allo scopo di garantire il mantenimento delle quantità terapeuticamente efficaci minime. Questi due momenti scelti per la misurazione vengono definiti rispettivamente concentrazioni di picco e di valle. Per la maggior parte dei farmaci si procede solo al monitoraggio delle concentrazioni di valle, fatta eccezione per alcuni antibiotici ad alto rischio di tossicità (nei casi in cui sono clinicamente necessarie concentrazioni di picco e di valle).

MONITORAGGIO DEI FARMACI TERAPEUTICI

| ANALITA | SCOPO | GAMMA TERAPEUTICA* |
|-----------------|--|---|
| Amikacina | Antibiotico | Picco: 25-35 µg/l (43-60 µmol/l) Valle: 1-8 µg/l (6,8-13,7 µmol/l) |
| Carbamazepina | Controllo delle convulsioni | 4-12 µg/ml (17-51 µmol/l) |
| Digossina | Trattamento della fibrillazione atriale e dell'insufficienza cardiaca croniche | 0,8-2 ng/ml (1-2,6 nmol/l) |
| Gentamicina | Antibiotico | Picco: 5-10 µg/ml (10,5-20,9 µmol/l) Valle: 1-4 µg/ml (2,1-8,4 µmol/l) |
| Litio | Trattamento dei disturbi maniaco-depressivi | 0,6-1,2 mmol |
| Fenobarbital** | Utilizzato per la sedazione il trattamento dell'epilessia | 15-40 µg/ml (65-170 µmol/l) |
| Fenitoina | Trattamento delle aritmie ventricolari e delle convulsioni | 10-20 µg/ml (40-79 µmol/l) |
| Chinidina | Prevenzione delle aritmie cardiache | 2-5 µg/ml (6,2-15,4 µmol/l) |
| Teofillina | Trattamento dell'asma | 8-20 µg/ml (44-111 µmol/l) |
| Acido valproico | Trattamento delle convulsioni | 50-100 µg/ml (346-693 µmol/l) |
| Vancomicina | Antibiotico utilizzato per il trattamento di infezioni che potrebbero essere resistenti ad altri antibiotici | Picco: 20-40 mg/l (14-28 µmol/l) Valle: 5-10 mg/l (3-7 µmol/l) |

*I valori tipici possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

**Intervalli di riferimento riportati in *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 5a edizione.

TOSSICOLOGIA E DROGHE DI ABUSO

Negli interventi di pronto soccorso sono sempre più frequenti le overdose da droghe di abuso e farmaci. Ai laboratori viene richiesto di facilitare l'individuazione dei casi in cui una overdose da stupefacenti può essere responsabile per i sintomi manifestati da un paziente.

Oltre a eseguire le analisi per l'individuazione di un trattamento medicale, i laboratori devono spesso procedere ai test per l'abuso di sostanze illegali. Molto spesso questo tipo di analisi, eseguite per gli screening in ambito lavorativo o in ambito legale, vengono definite di tossicologia forense (medico-legali). I laboratori che eseguono queste analisi sono dotati di strumentazione specifica e certificati per l'uso dei campioni accompagnati da una "catena di custodia". La catena di custodia garantisce l'usabilità dei risultati in tribunale. La maggior parte dei laboratori di chimica clinica di routine non esegue questo tipo di analisi medico-legali.

OVERDOSE

Molte sostanze di uso comune e ampiamente disponibili possono diventare tossiche se consumate in quantità che superano la capacità del corpo di metabolizzarle. Alcuni analiti che i laboratori si trovano spesso a misurare sono specificati nella tabella riportata di seguito.

TOSSICOLOGIA

| ANALITA | DESCRIZIONE | VALORI PREVISTI* |
|---------------------------------------|-------------------------------|---|
| Acetaminofene/Paracetamolo (Tylenol®) | Antidolorifico e antipiretico | Dosa terapeutica 10-30 µg/ml (66-199 µmol/l) Dose tossica >200 µg/ml (>1324 µmol/l) |
| Salicilato (Aspirina) | Antidolorifico e antipiretico | Terapeutico 150-300 µg/dl (1,09-2,17 µmol/l) Tossico >500 µg/dl (>3,62 µmol/l) |
| Etanolo (alcol) | Depressore del metabolismo | Dose invalidante 50-100 mg/dl (11-22 mmol/l) Depressione del CNS >100 mg/dl (>21,7 mmol/l) Decessi riportati >400 mg/dl (>86,8 mmol/l) |

*I valori tipici per gli adulti sani possono variare nelle diverse popolazioni di pazienti, in base alle condizioni e alle tecniche/metodologie del dosaggio. Tutti i laboratori devono verificare gli intervalli di valori utilizzati.

DROGHE DI ABUSO

Le analisi delle droghe di abuso vengono in genere eseguite su campioni di urina in modo qualitativo. Un test positivo indica la presenza di una droga oltre un determinato livello (soglia). Si eseguono ulteriori test sul campione positivo utilizzando dei metodi specifici quantitativi (ad esempio, la gascromatografia/la spettrometria di massa) per confermare la presenza dello stupefacente.

TOSSICOLOGIA

| ANALITA | DESCRIZIONE | SOGLIE TIPICHE PER UN TEST POSITIVO NELLE URINE |
|--------------------------|---|---|
| Anfetamine | Stimolante del sistema nervoso centrale | 500 ng/ml o 1000 ng/ml |
| Barbiturici | Sedativi e ipnotici | 200 ng/ml |
| Benzodiazepine | Agenti ansiolitici | 200 ng/ml |
| Cannabinoidi (marijuana) | Allucinogeno | 50 ng/ml o 100 ng/ml |
| Cocaina | Stimolante | 150 ng/ml o 300 ng/ml |
| Ecstasy | Stimolante | 500 ng/ml |
| Metadone | Analgesico per dolori gravi e per il trattamento della dipendenza da oppiacei | 300 ng/ml |
| Opiacei | Analgesico per dolore moderato | 300 ng/ml o 2000 ng/ml |
| Fenciclidina (PCP) | Allucinogeno | 25 ng/ml |

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 6

1. Quali delle seguenti analisi viene considerato un marker efficace dello stato nutrizionale?
 - A Immunoglobulina M
 - B Prealbumina
 - C Ceruloplasmina
 - D Lp(a)
2. Quale analisi si deve utilizzare per valutare una persona disorientata o confusa?
 - A Colesterolo
 - B Ammoniaca
 - C CRP
 - D Ferro
3. Quale analisi si deve prescrivere per un paziente con dolori addominali per rilevare una possibile pancreatite?
 - A Amilasi e lipasi
 - B Sodio e potassio
 - C Colesterolo e trigliceridi
 - D C3 e C4
4. Quale di questi livelli di una sostanza viene considerato tossico?
 - A Alcol a 80 mg/dl
 - B Acido valproico a 50 µg/ml
 - C Digossina a 2 ng/ml
 - D Acetaminofene a 250 µg/ml
 - E Salicilato a 27 mg/dl
5. Quale analisi si utilizza come indicatore dell'insufficienza cardiaca congestizia?
 - A CRP
 - B BNP
 - C Colesterolo
 - D Troponina
 - E Aptoglobina

SEZIONE 7

ANALISI NELLA PRATICA CLINICA

PANORAMICA

In questa sezione vengono illustrate le analisi di laboratorio che si utilizzano in cinque aree della pratica clinica: gestione del diabete, cardiopatia, disturbi della tiroide, carenza di ferro e funzionalità renale.

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Riconoscere le analisi che si utilizzano per diagnosticare e monitorare i pazienti diabetici
- Descrivere l'uso delle analisi dei lipidi per la valutazione del rischio di malattia cardiovascolare (MCV)
- Riconoscere il ruolo delle analisi di ormone tireotropo (TSH), tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) nella valutazione delle disfunzioni della tiroide
- Spiegare l'evoluzione dei risultati delle analisi osservati nella valutazione delle anemie
- Descrivere le analisi che si utilizzano per valutare la funzionalità renale

CONCETTI CHIAVE

1. Si può utilizzare un singolo analita per lo screening, la diagnosi definitiva e il monitoraggio della terapia o dell'evoluzione della patologia.
2. Sono spesso necessarie combinazioni di analisi per giungere a una diagnosi.
3. Una singola analisi potrebbe non essere sufficiente per la diagnosi. L'osservazione di come i risultati delle analisi evolvono nel tempo può essere un fattore importante.

In questa sezione si prenderanno in considerazione cinque condizioni cliniche per le quali si fa ampio affidamento sulle analisi di chimica clinica per l'individuazione della condizione, la valutazione dei progressi del trattamento e il rilevamento dei possibili effetti collaterali del trattamento.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015 e il sito web Lab Tests Online (www.labtestsonline.org), il sito web dell'American Diabetes Association (ADA) (www.diabetes.org), il sito web del National Cholesterol Education Program (NCEP) (www.nhlbi.nih.gov/about/ncep) e il sito web del National Kidney Foundation (NKF) (www.kidney.org/kidneydisease/ckd/knowgr.cfm).

DIABETE

Il diabete mellito è l'incapacità o una capacità limitata di produrre o utilizzare l'insulina, l'ormone che stimola l'assorbimento del glucosio da parte delle cellule. Quando l'azione dell'insulina diventa insufficiente, il livello di glicemia sale troppo.

- Il diabete di Tipo 1 è causato da una produzione insufficiente di insulina.
- Il diabete di Tipo 2 è causato dalla resistenza all'azione dell'insulina a livello cellulare.
- Il diabete gestazionale si verifica durante la gravidanza e, come accade per il diabete di Tipo 2, è causato da una resistenza all'insulina. Il diabete gestazionale è temporaneo e scompare dopo il parto. È stato tuttavia dimostrato che le donne che hanno manifestato un diabete gestazionale durante la gravidanza evidenziano un maggiore rischio di sviluppo di un diabete di Tipo 2 nel corso degli anni successivi. Anche i bambini nati da madri con un diabete gestazionale sono a rischio per lo sviluppo successivo del diabete.

ANALISI DI SCREENING E DIAGNOSTICHE

Nei primi stadi il diabete non è accompagnato da sintomi evidenti. Le analisi di screening della glicemia sono necessarie per individuare concentrazioni elevate di glucosio in persone altrimenti asintomatiche. Queste analisi si devono eseguire utilizzando il metodo della puntura su un dito e un misuratore di glucosio portatile, come accade negli eventi pubblici, oppure utilizzando un campione di sangue prelevato per venipuntura ed eseguendo le misurazioni in laboratorio.

Le linee guida per l'interpretazione delle analisi di screening per la glicemia sono illustrate nella tabella riportata di seguito. La diagnosi del diabete si basa sulla glicemia a digiuno. In alcuni casi è possibile procedere allo screening anche se la persona non è a digiuno. In questi casi l'interpretazione è più difficile. Tuttavia, un livello di glicemia non a digiuno superiore a 200 mg/dl (11,2 mmol/l) viene considerata coerente con una diagnosi di diabete.

| GLICEMIA A DIGIUNO | |
|--|--|
| Da 70 a 99 mg/dl (da 3,9 a 5,5 mmol/l) | Glicemia a digiuno per non diabetici (normale) |
| Da 100 a 125 mg/dl (da 5,6 a 6,9 mmol/l) | Glicemia a digiuno anomala (prediabete) |
| 126 mg/dl (7,0 mmol/l) e superiore in più di una analisi | Diabete |

In alcune circostanze, quando le analisi della glicemia a digiuno producono un risultato molto alto, è possibile che venga prescritto un test di tolleranza al glucosio. Esistono molte versioni diverse del test di tolleranza al glucosio orale (OGTT). Tutte prevedono un digiuno di almeno 8 ore, seguite dall'ingestione di una quantità prestabilita di glucosio e l'esecuzione di una o più analisi della glicemia in momenti specifici dopo l'ingestione.

In genere si utilizza un test con 75 grammi di glucosio per gli adulti con un sospetto di diabete. Tuttavia, i test di tolleranza al glucosio vengono utilizzati più spesso per diagnosticare il diabete gestazionale. A seguito del rilevamento di un valore anomalo a digiuno, viene a volte prescritto un test di verifica con 50 grammi di glucosio come analisi di screening. Se questo restituisce risultati anomali, è possibile che lo screening con 50 grammi venga seguito da un OGTT più significativo con 100 grammi di glucosio.

TEST DI TOLLERANZA AL GLUCOSIO ORALE (OGTT) PER GLI ADULTI (2 ORE DOPO IL CONSUMO DI UNA BEVANDA CON 75 GRAMMI DI GLUCOSIO)

| | |
|---|---|
| Meno di 140 mg/dl (7,8 mmol/l) | Tolleranza al glucosio normale |
| Da 140-200 mg/dl (7,8-11,1 mmol/l) | Tolleranza al glucosio anomala (prediabete) |
| Oltre 200 mg/dl (11,1 mmol/l) in più di una analisi | Diabete |

SCREENING OGTT INIZIALE PER IL DIABETE GESTAZIONALE (BEVANDA CON 50 GRAMMI DI GLUCOSIO)

| | |
|------------------|-----------------------------------|
| Campione a 1 ora | <140 mg/dl (7,8 mmol/l) è normale |
|------------------|-----------------------------------|

OGTT DIAGNOSTICO PER IL DIABETE GESTAZIONALE (BEVANDA CON 100 GRAMMI DI GLUCOSIO)

| | |
|----------------------------------|-------------------------|
| A digiuno | 95 mg/dl (5,3 mmol/l) |
| 1 ora dopo il carico di glucosio | 180 mg/dl (10,0 mmol/l) |
| 2 ore dopo il carico di glucosio | 155 mg/dl (8,6 mmol/l) |
| 3 ore dopo il carico di glucosio | 140 mg/dl (7,8 mmol/l) |

MONITORAGGIO DEL DIABETE E DELLE COMPLICANZE DEL DIABETE

Un paziente affetto da diabete è considerato a rischio per lo sviluppo di una serie di complicanze che sono una conseguenza diretta dei livelli di glucosio elevati. Alcune di queste sono l'insufficienza renale, la cecità, una circolazione insufficiente che provoca ulcerazioni ai piedi e un rischio maggiorato di aterosclerosi e cardiopatia.

Il trattamento del diabete con dieta appropriata, farmaci e insulina è finalizzata al mantenimento di livelli di glicemia quanto più è possibile prossimi ai livelli dei non diabetici. Alcuni studi di ricerca, come il Diabetes Complication and Control Trial (DCCT), hanno dimostrato che un controllo efficace della glicemia può rallentare o impedire lo sviluppo di molte delle complicanze associate a una glicemia controllata in modo inefficace.

I pazienti diabetici spesso tengono costantemente sotto controllo i propri livelli di glicemia, per verificare che la dieta e i farmaci prescritti siano appropriati ed efficaci nel mantenere i livelli di glicemia entro un intervallo target definito dal medico.

Altre due analisi molto importanti utilizzate per verificare che la glicemia sia sotto controllo e che la funzionalità renale sia buona sono quelle dell'emoglobina A1c e l'albumina nelle urine (anche definita microalbumina).

EMOGLOBINA A1c (HbA1c)

L'emoglobina A1c (HbA1c) è una molecola di emoglobina modificata chimicamente. Si forma quando il glucosio del sangue entra nei globuli rossi e si lega all'emoglobina. Quando la concentrazione di glucosio nel sangue aumenta, una maggiore quantità di glucosio reagisce con l'emoglobina. Poiché i globuli rossi circolano con un'emivita di tre mesi, vale a dire che la metà dei globuli rossi viene distrutta e sostituita da nuovi globuli rossi ogni tre mesi, il livello di alterazione dell'emoglobina da parte del glucosio riflette il controllo del glucosio negli ultimi tre mesi. L'emoglobina A1c viene espressa come una percentuale, in riferimento alla percentuale di molecole di emoglobina che hanno una molecola di glucosio legata. L'HbA1c ora si può utilizzare per valutare il diabete.

ALBUMINA NELLE URINE (MICROALBUMINA)

Le analisi dell'albumina nel sangue (micro albumina) consentono di rilevare quantità minime di albumina che passano dai reni alle urine. La prima traccia di albumina nelle urine è un segnale di compromissione della funzionalità renale. Un rilevamento precoce consente di adottare un trattamento più aggressivo che prevenga ulteriori danni ai reni.

| ANALISI | FREQUENZA | MOTIVAZIONE |
|--|----------------------------|--|
| Glicemia | Ogni giorno (dal paziente) | Monitoraggio del controllo del glucosio e adeguamento della terapia farmacologica per mantenere i livelli di glicemia target |
| HbA1c (emoglobina A1c, glicemoglobina, emoglobina glicata) | 2-4 volte l'anno | Verifica del controllo del glucosio su un periodo di tre mesi. Si può utilizzare per lo screening del diabete |
| Albumina nelle urine (microalbumina) | 1-2 volte l'anno | Per il rilevamento precoce di una funzionalità renale anomala |

<http://professional.diabetes.org/GlucoseCalculator.aspx>.

I profili lipidici vengono spesso inclusi nei trattamenti del diabete, poiché i diabetici presentano maggiori rischi di insorgenza di malattia cardiovascolare. Nella sezione successiva vengono illustrate queste analisi.

ATEROSCLEROSI E MALATTIE CARDIOVASCOLARI

Il cuore e il sistema circolatorio (definiti insieme sistema cardiovascolare) sono fondamentali per la distribuzione dell'ossigeno e dei nutrienti a organi e tessuti. Alcune malattie che compromettono questa funzione sono:

- Aterosclerosi (accumulo di cellule e detriti, definiti placca, sulle pareti delle arterie)
- Infarto del miocardio o infarto (interruzione improvvisa del flusso sanguigno attraverso il muscolo cardiaco, che conduce al danneggiamento e alla morte delle cellule cardiache)
- Insufficienza cardiaca congestizia (il cuore non è più in grado di pompare quantità di sangue adeguate)

Queste tre patologie sono l'oggetto di alcune delle analisi di chimica clinica.

ATEROSCLEROSI

L'aterosclerosi, ovvero l'accumulo di depositi grassi sulle pareti delle arterie, è spesso un precursore di cardiopatie successive. Questi depositi grassi, definiti placca, provocano un restringimento dei vasi sanguigni e ostacolano il flusso del sangue verso muscoli e tessuti. A volte un pezzo della placca si stacca da un sito e viene trasportato in un altro sito dove ostruisce il passaggio del sangue attraverso un vaso. Quando il vaso bloccato è un'arteria coronaria, l'ostruzione causa un infarto. Quando il vaso bloccato è nel cervello, l'ostruzione causa un ictus.

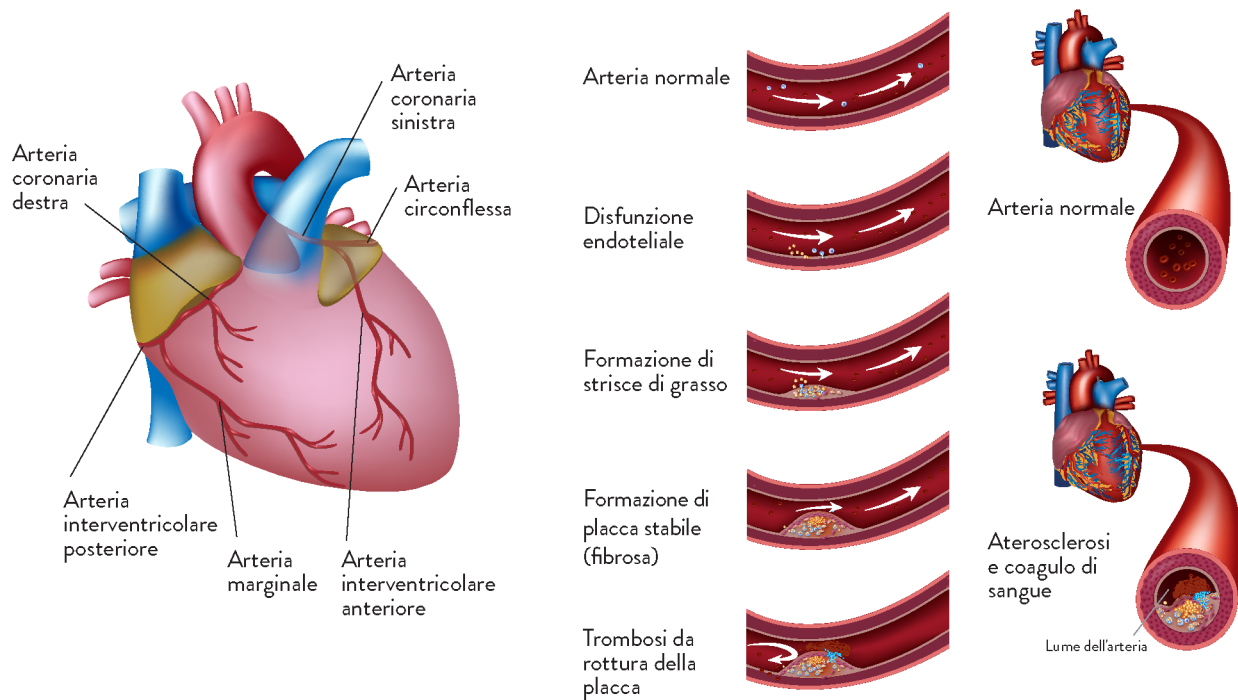


Figura 7-1: Diagramma del cuore con un accumulo di placca in un'arteria coronaria.

Sono stati identificati molti dei fattori di rischio per l'aterosclerosi. Alcuni di questi sono la storia familiare, il fumo, la pressione alta, il diabete, la mancanza di esercizio, le diete ricche di grassi saturi e alcuni componenti che circolano nel sangue come colesterolo e proteina C-reattiva (CRP). Ai laboratori clinici viene spesso richiesto di misurare questi componenti del sangue, per aiutare i medici a valutare il rischio di sviluppo di una malattia cardiovascolare per un paziente e decidere gli interventi più appropriati, come una dieta e una terapia farmacologica.

Il colesterolo, uno dei fattori di rischio per lo sviluppo di una malattia cardiovascolare, è una molecola importante per la salute e la vita. È presente nelle pareti di tutte le cellule e costituisce la base di molti ormoni importanti. Il corpo è dotato di un complesso sistema metabolico che garantisce la produzione e la distribuzione di quantità adeguate di colesterolo a tutte le cellule del corpo. La dieta contribuisce per circa il 10% del colesterolo necessario. Il fegato produce il resto dagli acidi grassi.

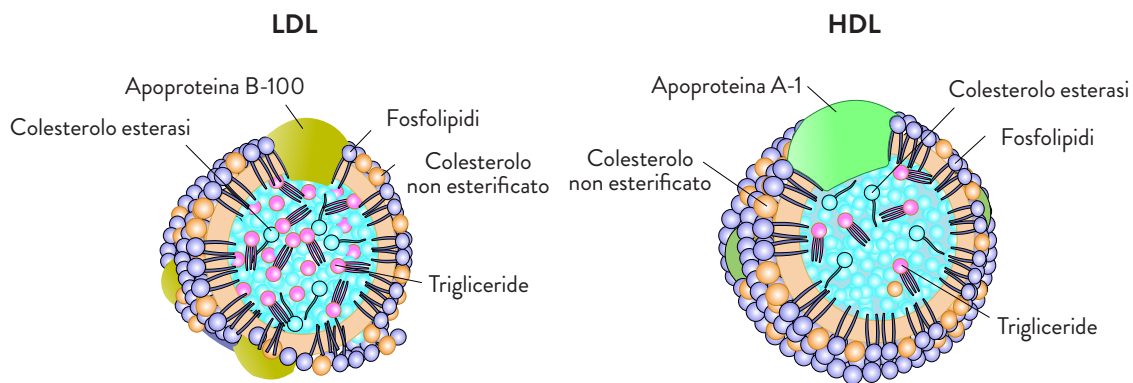


Figura 7-2: Struttura della lipoproteina.

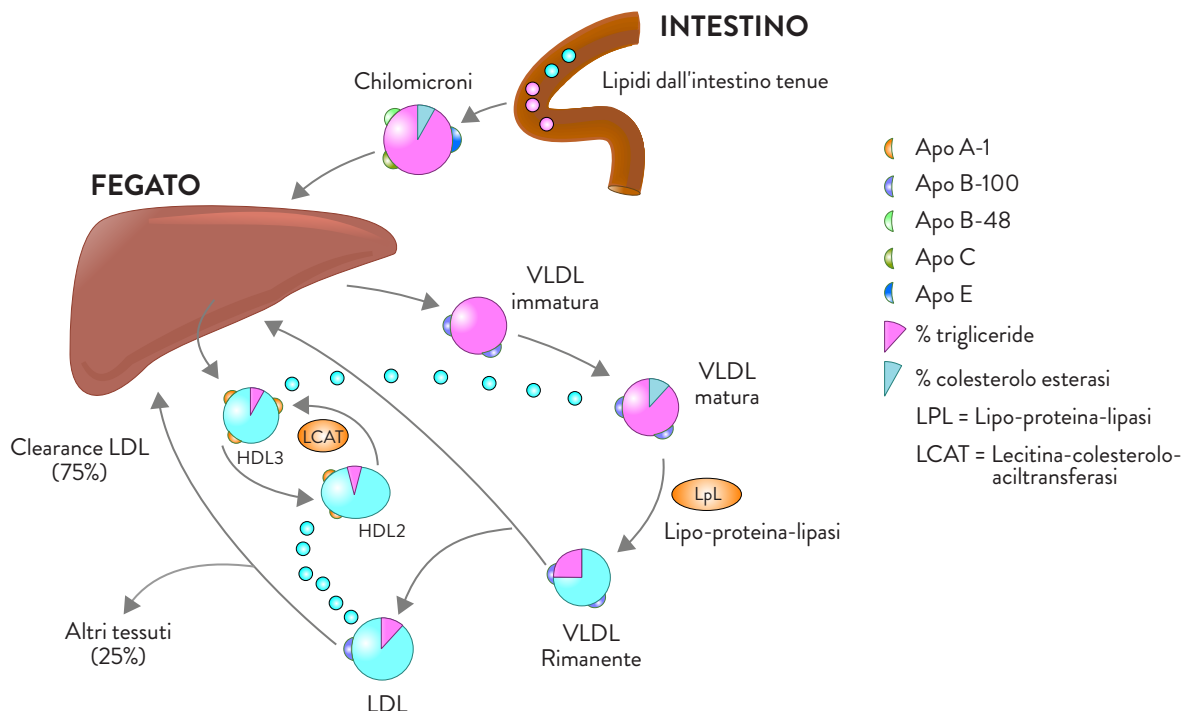


Figura 7-3: Metabolismo della lipoproteina.

Il colesterolo viene trasportato nel sangue da particelle di lipoproteina, complessi di proteina, acidi grassi, colesterolo e colesterolo esterasi. Livelli elevati di due di queste lipoproteine, le lipoproteine a bassa densità (LDL) e le lipoproteine a densità molto bassa (VLDL), sono associati a un aumento del rischio di malattia cardiovascolare. Una terza lipoproteina, la lipoproteina ad alta densità (HDL), è associata a una diminuzione del rischio di malattia cardiovascolare.

$$\text{Colesterolo totale} = \text{colesterolo HDL} + \text{colesterolo LDL} + \text{colesterolo VLDL}$$

Un profilo lipidico include una serie di analisi che consentono di rilevare le quantità relative di colesterolo associate alle diverse particelle di lipoproteina. Un profilo lipidico comprende:

Colesterolo totale

- Colesterolo HDL (HDL-C)
- Trigliceridi
- Colesterolo LDL (LDL-C)

In base alle ricerche epidemiologiche e alle sperimentazioni cliniche, la quantità di LDL-C è l'indicatore più affidabile dello sviluppo di una malattia cardiovascolare. Il rischio di sviluppo di una malattia e le terapie per la riduzione del colesterolo si basano sui valori di LDL-C, che vengono spesso calcolati con la formula:

$$\begin{aligned} \text{Quando i lipidi vengono misurati in mg/dl:} & \quad \text{LDL-C calcolato} = \text{Colesterolo totale} - \text{HDL-C} - \text{Trigliceridi}/5 \\ \text{Quando i lipidi vengono misurati in mmol/l:} & \quad \text{LDL-C calcolato} = \text{Colesterolo totale} - \text{HDL-C} - \text{Trigliceridi}/2,2 \end{aligned}$$

Per il calcolo dell'LDL si presume che il trigliceride (TG) misurato nel campione è associato alla VLDL e che non sono presenti chilomicroni. L'uso di un campione di sangue a digiuno garantisce l'assenza di TG chilomicroni. Per digiuno si intende l'assenza di qualsiasi assunzione di calorie per un minimo di otto ore prima del prelievo del campione di sangue.

L'analisi del LDL diretto misura i valori di LDL direttamente, senza calcoli e senza necessità di digiuno. Si rivela particolarmente utile per la valutazione del LDL-C nei bambini e nei pazienti diabetici che non possono digiunare per 8-12 ore senza che insorga un rischio di ipoglicemia.

Obiettivi tipici per il colesterolo LDL*

- <160 mg/dl (4,13 mmol/l) per le persone con uno o nessun altro fattore di rischio
- <130 mg/dl (3,36 mmol/l) per le persone con due o più fattori di rischio
- <100 mg/dl (2,59 mmol/l) per i pazienti affetti da cardiopatia o diabete

*Ulteriori informazioni sulle linee guida per il trattamento e i valori target sono descritti nel terzo rapporto del National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel. Vedere il documento all'indirizzo www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/atp3xsum.pdf.

FATTORI DI RISCHIO PER LA MALATTIA CARDIOVASCOLARE (MCV)

- Fumo
- Pressione sanguigna alta (BP >140/90 mmHg o sotto trattamento con antiipertensivi)
- Colesterolo HDL basso (<40 mg/dl)
- Storia familiare di cardiopatia congestizia prematura (nei parenti di primo grado maschi, <55 anni; nei parenti di primo grado femmine <65 anni)
- Età (uomini >45 anni; donne >55 anni)

Nota: il colesterolo HDL >60 mg/dl viene considerato un fattore di rischio "negativo". La sua presenza rimuove un fattore di rischio dal conteggio totale.

PROTEINA C-REATTIVA AD ALTA SENSIBILITÀ (HS-CRP)

L'analisi della proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP) si utilizza per misurare valori di CRP bassi che sarebbero altrimenti non rilevabili con un'analisi della CRP standard. Il CRP è una proteina di fase acuta prodotta dal fegato in risposta a un'inflammazione. Aumenta in caso di patologie infiammatorie e lesioni, ma non è rilevabile nelle persone sane. L'analisi della hs-CRP consente di misurare i livelli di CRP nelle persone sane e di operare una distinzione tra quelle con valori nella fascia alta dei livelli normali e quelle con valori nella fascia bassa dei livelli normali. Alcuni studi hanno dimostrato che le persone con valori di hs-CRP nella fascia alta dei livelli normali presentano un maggiore rischio di infarto rispetto a quelli con valori di CRP nella fascia bassa dei livelli normali.

ASPARTATO AMINOTRANSFERASI (AST) E ALANINA AMINOTRANSFERASI (ALT)

Molti trattamenti farmacologici per la riduzione del colesterolo, in particolare quelli per cui si utilizzano i farmaci definiti statine, hanno come obiettivo il fegato, che è la principale fonte di produzione del colesterolo in circolazione. Tali farmaci possono avere effetti collaterali indesiderati sul fegato. Ai pazienti trattati con farmaci per la riduzione del colesterolo vengono spesso prescritte analisi per gli enzimi epatici, come AST o ALT, che consentono di verificare se i farmaci stanno provocando dei danni al fegato.

INFARTO (INFARTO DEL MIOCARDIO, MI)

Gli infarti del miocardio si verificano quando il flusso di sangue al muscolo cardiaco si riduce o si interrompe a causa di un restringimento delle arterie coronarie, che a sua volta deriva da una placca aterosclerotica o dall'ostruzione di un coagulo (placca proveniente da altri punti del sistema circolatorio) in un'arteria coronaria. La privazione di ossigeno che ne consegue danneggia le cellule cardiache o provoca il decesso, con il rilascio di contenuto cellulare nella circolazione. Questi componenti si possono misurare in laboratorio per confermare la presenza di un infarto del miocardio.

ANALISI CHE RILEVANO UN INFARTO DEL MIOCARDIO

| ANALISI (NOMI ALTERNATIVI) | DESCRIZIONE | SCOPO E FREQUENZA DELL'ANALISI |
|--------------------------------------|--|--|
| Troponina (Troponina I, Troponina T) | Le troponine sono proteine che si trovano nelle cellule del muscolo cardiaco e che vengono rilasciate in circolazione in caso di danno cellulare | Utile per la diagnosi di un infarto o di un infarto del miocardio (MI) acuto. Le analisi vengono ripetute ogni 6-8 ore per più giorni; i valori di troponina restano elevati per un massimo di 10 giorni dopo un infarto al miocardio |
| Mioglobina | Proteina presente in tutto il tessuto muscolare. Viene rilasciata in circolazione quando si danneggia un muscolo | Aumenta entro poche ore da un infarto, ma non è una proteina specifica e può aumentare a seguito di un danno a qualsiasi muscolo. In alcuni casi la sua assenza viene utilizzata per escludere un infarto del miocardio |
| CK, CK-MB | Enzima che si trova in molti tessuti diversi in varie forme: CK-MM è una forma muscolare, CK-BB è una forma cerebrale CK-MB è soprattutto una forma cardiaca, ma si trova anche in altri tessuti | CK e CK-MB si possono utilizzare per la diagnosi dell'infarto al miocardio sulla base di un aumento e riduzione caratteristici dei valori di CK-MB in un periodo compreso tra circa 12 ore e due giorni dopo l'infarto al miocardio. Queste analisi sono state in gran parte sostituite dalle analisi delle troponine, che offrono una maggiore sensibilità e specificità per i danni al tessuto cardiaco. È possibile utilizzare il CK-MB per la diagnosi di un secondo infarto del miocardio, quando la troponina è ancora elevata dopo il primo infarto |

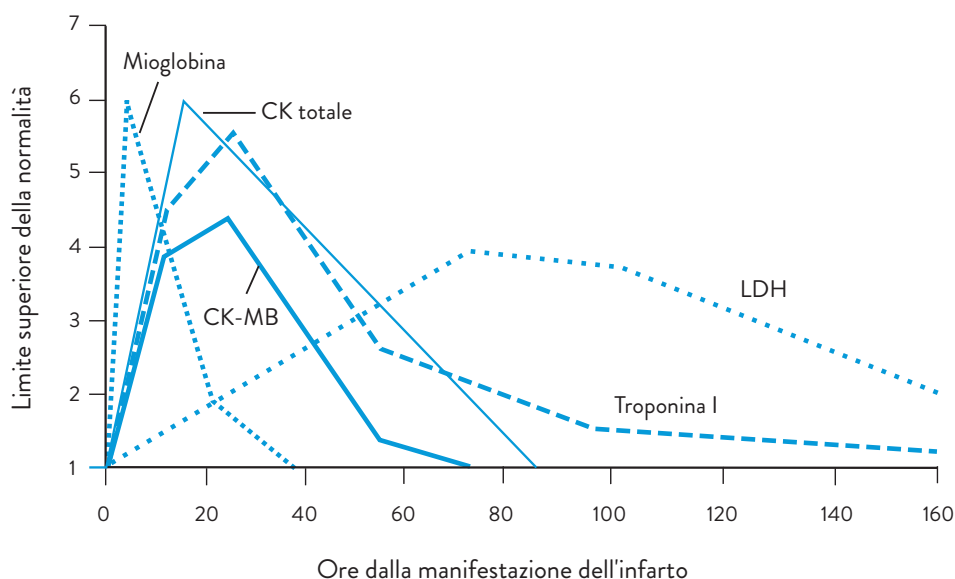


Figura 7-4: Variazioni dei marcatori cardiaci dopo un infarto del miocardio (MI).

INSUFFICIENZA CARDIACA CONGESTIZIA

Un episodio acuto di infarto del miocardio può danneggiare il muscolo cardiaco, così come uno sforzo strenuo per pompare sangue in arterie parzialmente ostruite, dei difetti congeniti e le tossine o infezioni. Tali danni possono ridurre la funzionalità cardiaca, provocare un inspessimento delle pareti della camera cardiaca e influire negativamente sulla capacità di pompare costantemente quantità adeguate di sangue. La condizione che ne risulta viene definita insufficienza cardiaca congestizia e può causare l'accumulo di liquidi in polmoni e tessuti (edema), difficoltà respiratorie e affaticamento.

BNP e NT-proBNP: il tessuto cardiaco produce un ormone chiamato Peptide natriuretico tipo B (BNP) che aiuta a regolare il volume del sangue e la funzionalità cardiaca. In caso di insufficienza cardiaca congestizia vengono spesso secreti in circolo livelli eccessivi di BNP, che si possono misurare per valutare il livello di stress imposto al muscolo cardiaco. Il BNP viene sintetizzato come molecola precorritrice definita pro-BNP, che viene quindi scissa in due sezioni: una sezione inattiva definita NT-proBNP e una sezione attiva chiamata BNP. Con le analisi di laboratorio in genere si misura il BNP o il NT-proBNP.

PATOLOGIE DELLA TIROIDE

La tiroide, una piccola ghiandola localizzata nella gola, produce due ormoni, tiroxina (T₄) e triiodotironina (T₃), che controllano il metabolismo energetico nei tessuti. Un basso livello di T₃ e T₄ in circolo vengono rilevati dalla ghiandola ipotalamo, che quindi produce l'ormone di rilascio della tireotropina (TRH) che a sua volta stimola la ghiandola pituitaria a produrre tireotropina (TSH), che infine stimola la ghiandola tiroide a produrre T₃ e T₄. Questo elaborato processo di feedback garantisce un metabolismo corretto dell'energia.

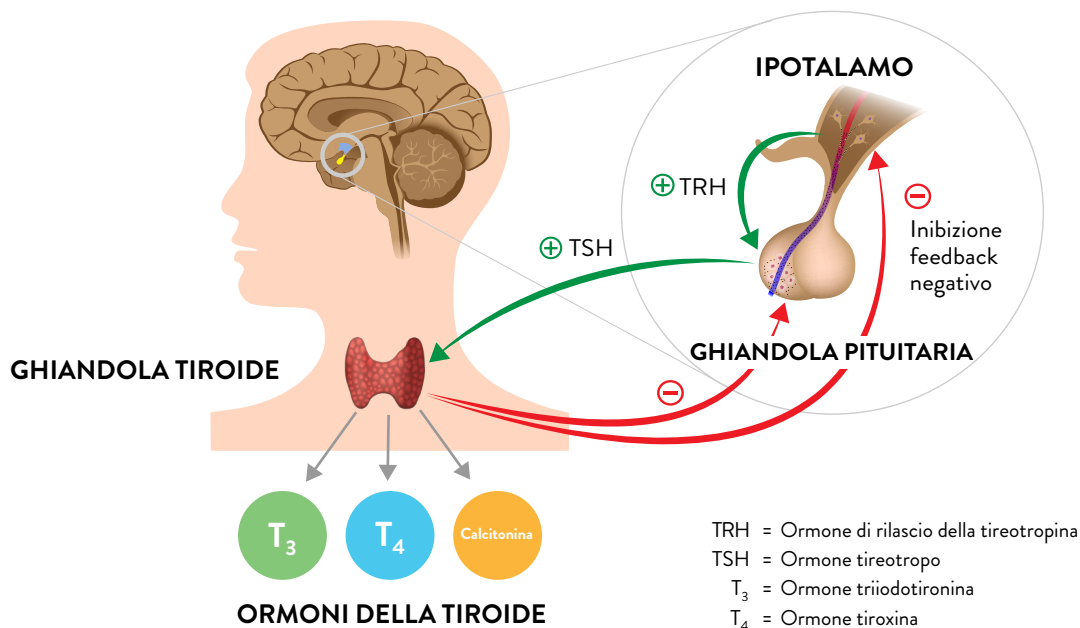
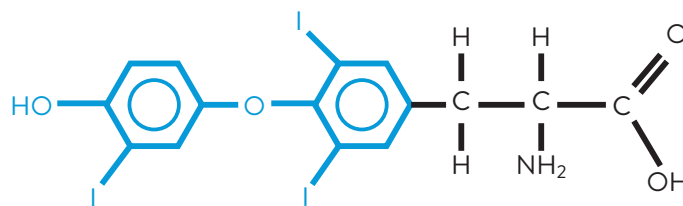
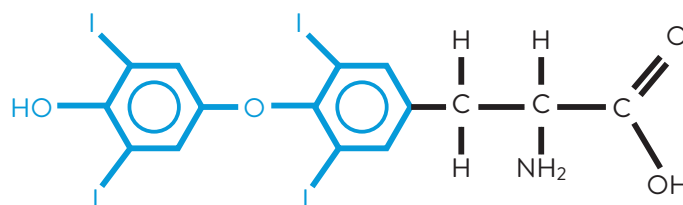


Figura 7-5: Regolazione della funzione tiroidea.



3', 3, 5-Triiodotironina, T₃



3', 5', 3, 5-Tetraiodotironina
Tiroxina, T₄

Figura 7-6: Patologia della tiroide.

Ipotiroidismo: definito come una scarsa attività della ghiandola tiroide. Il risultato è una condizione in cui il metabolismo rallenta. L'ipotiroidismo causa sintomi quali affaticamento, aumento di peso, pelle secca, perdita dei capelli e brividi causati dalla termoregolazione inefficace del corpo.

Iperitiroidismo: definito come un'attività eccessiva della ghiandola tiroide. Il risultato è una condizione in cui il metabolismo accelera. L'ipertiroidismo causa perdita di peso, aumento della frequenza cardiaca, insonnia e ansia.

ORMONE TIREOTROPO (TSH)

Il TSH viene spesso misurato durante i test di screening della funzionalità tiroidea. Se il TSH non rientra nell'intervallo di riferimento normale, possono essere prescritte analisi del T4 e/o T3 per valutare la funzionalità tiroidea. Poiché T4 e T3 circolano entrambi con la maggior parte dell'ormone legato a una proteina di trasporto (globulina legante ormoni tiroidei), durante le analisi di laboratorio si possono misurare la quantità totale di ormone (T4 o T3 totale) oppure solo la frazione libera o non legata (T4 e T3 liberi). La frazione libera è la parte biologicamente attiva e viene spesso preferita all'ormone totale, poiché la quantità totale può essere il risultato di condizioni non tiroidee che influiscono sulla concentrazione di proteina legante. L'approccio tipico allo screening delle patologie della tiroide consiste nell'esecuzione delle analisi del TSH. Se i valori risultano anomali, si procede alla misurazione del T4 libero.

La tabella riportata di seguito descrive il modo in cui si utilizzano spesso questi risultati per evidenziare possibili problemi.

| TSH | T4 O T4 LIBERO | T3 O T3 LIBERO | INTERPRETAZIONE |
|-------|-----------------|-----------------|-------------------------------------|
| Alto | Normale | Normale | Leggero (subclinico) ipotiroidismo |
| Alto | Basso | Basso o normale | Ipotiroidismo |
| Basso | Normale | Normale | Leggero (subclinico) ipertiroidismo |
| Basso | Alto o normale | Alto o normale | Ipertiroidismo |
| Basso | Basso o normale | Basso o normale | Patologia non tiroidea |

Le analisi del TSH si utilizzano anche per monitorare il trattamento dell'ipotiroidismo e verificare che i dosaggi siano corretti.

ANEMIA, FERRO E NUTRIZIONE

L'anemia è la condizione in cui sono in circolo quantità ridotte di emoglobina e globuli rossi. Le anemie possono essere causate da una serie di cause, quali:

- Emorragie: ad esempio un'emorragia dovuta al mestruo nelle donne, a un tumore al colon, a una donazione di sangue o a emolisi intravascolare può ridurre la quantità di ferro disponibile e necessaria per produrre nuovi globuli rossi
- Diete carenti: una dieta con nutrienti insufficienti o un problema di assorbimento del ferro nell'intestino può portare a carenze di ferro
- Eritropoietina (EPO) insufficiente: i reni non riescono a produrre EPO, un ormone importante che stimola la produzione di globuli rossi nel midollo osseo

Con le analisi che valutano l'anemia si tenta anche di evidenziarne la causa. Il numero e le dimensioni dei globuli rossi vengono in genere valutati nella sezione di ematologia del laboratorio, nell'ambito dello screening per le anemie. Alcune delle analisi di chimica clinica importanti nella valutazione delle anemie e lo stato del ferro sono:

FERRO

Il ferro è un nutriente necessario che viene incorporato in un complesso denominato eme, l'entità che lega l'ossigeno nei globuli rossi (parte dell'emoglobina) e nei muscoli (parte della mioglobina), oltre che in una serie di enzimi importanti in vari tessuti e cellule. Ogni giorno si perdono circa 12 milligrammi di ferro a seguito della rottura di molecole che contengono ferro. Il ferro che si perde deve essere sostituito con il ferro assunto dagli alimenti per mantenere livelli di ferro sufficienti per la produzione di eme, emoglobina, globuli rossi e altre molecole importanti.

TRANSFERRINA

La transferrina è la proteina che trasporta il ferro in circolo. Ogni molecola di transferrina è in grado di trasportare due atomi di ferro, quindi la capacità totale ferro legante (TIBC) dipende dalla quantità di transferrina presente. Il numero di siti aperti sulla transferrina in grado di legare ulteriore ferro viene definito come capacità ferro legante non saturata (UIBC). TIBC e UIBC si possono misurare nei laboratori di chimica.

FERRITINA

La ferritina è una proteina di immagazzinamento che si lega al ferro e lo conserva nei tessuti, soprattutto nel fegato. Parte della ferritina circola nel sangue. I livelli di ferritina nel sangue vengono utilizzati come marcatori surrogati della quantità di ferritina nelle cellule.

| PATOLOGIA | FERRO | TIBC | UIBC | FERRITINA |
|----------------------------------|-------|-------|--------------------|--------------------|
| Carenza di ferro | Basso | Alto | Alto | Basso |
| Patologia cronica | Basso | Basso | Da basso a normale | Da normale ad alto |
| Malnutrizione cronica | Basso | Basso | Da basso a normale | Da basso a normale |
| Emocromatosi o accumulo di ferro | Alto | Basso | Basso | Alto |

ACIDO FOLICO (FOLATO) E VITAMINA B₁₂ (COBALAMINA)

Due vitamine, acido folico e B₁₂, sono fondamentali per la normale formazione dei globuli rossi. Se una o entrambe sono insufficienti, non viene prodotto un numero sufficiente di globuli rossi e si sviluppa un'anemia. Durante la gravidanza, sono necessarie quantità aggiuntive di B₁₂, specialmente il folato, per lo sviluppo del feto, quindi alle donne gravide viene consigliato di consumare maggiori quantità di folato. Molti cibi come pane, grani e cereali vengono fortificati con il folato. Le analisi dei livelli nel sangue di queste due vitamine si eseguono spesso per verificare che siano presenti quantità adeguate. Se si rilevano delle carenze, si indaga sulle possibili cause. Alcune delle possibili cause sono le patologie dell'assimilazione, come la celiachia o la mancanza di fattore intrinseco, una proteina che promuove l'assimilazione della vitamina B₁₂ dall'intestino.

APTOGLOBINA

L'aptoglobina è una proteina che lega l'eme alla distruzione delle proteine che contengono eme. Quando un processo emolitico causa una distruzione eccessiva di globuli rossi ed emoglobina, l'eme rilasciato si lega all'aptoglobina. Il complesso eme-aptoglobina viene assimilato e distrutto dal fegato. Il processo conduce a una riduzione del livello di aptoglobina, che può quindi evidenziare un'anemia dovuta a un processo emolitico.

EPO

L'eritropoietina (EPO) è un ormone che stimola la produzione di globuli rossi. L'EPO viene prodotta dai reni in risposta al rilevamento di una quantità di ossigeno trasportata insufficiente e alla necessità di produrre ulteriori globuli rossi. In caso di patologia renale, la produzione di EPO è insufficiente. Le analisi dell'EPO aiutano a individuare le anemie che derivano da una produzione insufficiente di EPO da parte dei reni.

FUNZIONALITÀ RENALE

I reni filtrano il sangue per rimuovere i prodotti di scarto e le tossine per trasferirli quindi alle urine per l'eliminazione. Quando i reni non funzionano in modo corretto, si verificano due tipi di problemi:

1. Tossine e prodotti di scarto che dovrebbero essere filtrati e passare dal sangue alle urine restano nel sangue con concentrazioni elevate. Due esempi sono la creatinina e l'azoto ureico (BUN).
2. Le sostanze del sangue che non dovrebbero essere filtrate e passare dal sangue alle urine, ma dovrebbero essere conservate dai reni, sfuggono nelle urine, con il risultato di livelli elevati nelle urine e bassi nel sangue. Un esempio è l'albumina.

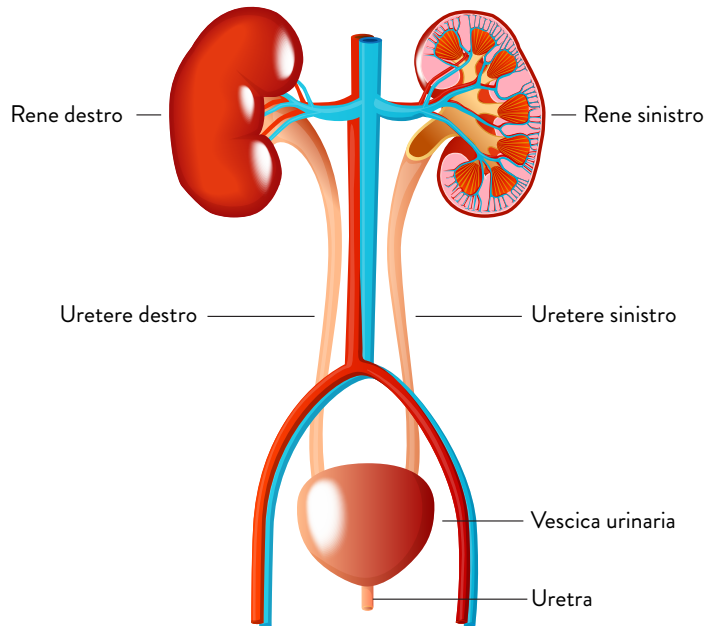


Figura 7-7: Rene.

Il processo di filtrazione del rene avviene in regioni strutturali definite glomeruli e in genere viene valutato mediante un concetto definito velocità di filtrazione glomerulare o GFR. Il GFR viene espresso come volume di plasma sanguigno filtrato al minuto per una sostanza specifica. Si possono utilizzare una serie di sostanze diverse per determinare il GFR, ma la più comune è la creatinina.

MALATTIA RENALE CRONICA (CKD)

La malattia renale cronica è un danneggiamento dei reni che si estende su un periodo di tempo prolungato e dovuto a patologie quale il diabete o a un trauma. Se i reni sono danneggiati, la loro normale funzione di filtrazione delle sostanze di scarto è compromessa e si può giungere a un'insufficienza renale.

Nelle prime fasi di una malattia renale cronica è possibile che i sintomi passino inosservati e la maggior parte dei pazienti vive per anni senza la consapevolezza di avere una malattia renale cronica. Con il procedere della compromissione della funzionalità renale, iniziano a manifestarsi sintomi quali nausea, gonfiore, pressione sanguigna alta e inappetenza.

I pazienti affetti da malattia renale cronica possono essere rapidamente identificati mediante semplici analisi di laboratorio. Le complicanze della malattia renale cronica si possono gestire e trattare, evitando l'insufficienza renale, la dialisi costante e, nel peggiore dei casi, il trapianto del rene. La malattia renale cronica si può suddividere in cinque stadi. I medici, con l'aiuto di alcune analisi di laboratorio specifiche, possono valutare lo stadio della malattia del paziente.

GFR E STADI DELLA MALATTIA RENALE CRONICA

| STADIO | DESCRIZIONE | VELOCITÀ DI FILTRAZIONE GLOMERULARE (GFR) |
|---------|--|---|
| Nessuno | Funzione renale normale | 90 o maggiore |
| 1 | Danno ai reni (ad esempio, proteina nelle urine) con GFR normale | 90 o maggiore |
| 2 | Danno renale con una leggera diminuzione della GFR | Da 60 a 89 |
| 3 | Diminuzione moderata del GFR | Da 30 a 59 |
| 4 | Diminuzione grave della GFR | Da 15 a 29 |
| 5 | Insufficienza renale | Meno di 15 |

Le analisi di laboratorio che si utilizzano di solito per valutare e diagnosticare la malattia renale cronica sono: creatinina, clearance della creatinina, GFR, albumina, azoto ureico nel sangue, calcio, biossido di carbonio, cloro, cistatina C, fosforo, potassio e sodio.

CLEARANCE DELLA CREATININA

Per la clearance della creatinina è necessario programmare con attenzione un prelievo delle urine che consenta di misurare la quantità di creatinina escreta in un determinato periodo di tempo. A questa operazione va associato un prelievo di sangue eseguito all'inizio o alla fine del periodo di prelievo delle urine, per misurare la concentrazione nel plasma.

$$\text{GFR} = \frac{\text{Concentrazione di creatinina nelle urine} \times \text{Velocità di escrezione delle urine in ml/min}}{\text{Concentrazione di creatinina nel sangue}}$$

Se viene escreto 1 grammo di creatinina in 1,0 litro di urina (1.000 mg/l o 100 mg/dl) in un periodo di 24 ore (1.440 min) e la concentrazione di creatinina nel plasma è di 0,7 mg/dl, il GFR sarà:

$$\text{GFR} = \frac{100 \text{ mg/dl} \times 1.000 \text{ ml}/1.440 \text{ min}}{0,7 \text{ mg/dl}} = 99 \text{ ml/min}$$

Negli adulti il GFR in genere è compreso tra 50 e 150 ml/min, mentre si registrano valori più alti negli individui più giovani e più bassi negli anziani.

Il prelievo di un campione di urina in base a tempi definiti con precisione presenta spesso delle difficoltà. Campioni prelevati in modo non corretto o con una tempistica errata possono introdurre errori di valutazione della GFR.

VELOCITÀ DI FILTRAZIONE GLOMERULARE STIMATA (EGFR)

Per evitare i problemi del prelievo dei campioni di urina temporizzati, è possibile stimare la GFR utilizzando una formula derivata empirica. Esistono alcune formule che consentono di stimare la GFR in base alla creatinina misurata nel plasma. Tali formule variano per la rilevanza attribuita a fattori quali età, dimensioni corporee, sesso ed etnia. Nessuna delle formule è stata adottata come standard universale. Il valore stimato che si ottiene con questo calcolo viene contrassegnato dalla sigla eGFR.

La GFR si può misurare con precisione sottoponendo ad analisi campioni di urina delle 24 ore alla ricerca di vari marcatori endogeni ed esogeni filtrati liberamente dai glomeruli. La misurazione della GFR, tuttavia, è complessa e non viene eseguita spesso nei laboratori clinici. La eGFR consente di individuare i pazienti prima che la funzionalità renale sia gravemente compromessa e in modo da poter avviare la terapia ed evitare la malattia renale allo stadio finale (ESRD), che richiede la dialisi o il trapianto del rene. L'eGFR non è precisa come la GFR misurata, approssimandosi a +/-30% del valore reale, ma è molto più comoda e facile da calcolare. La vecchia formula di Cockcroft-Gault, $C_{Cr} = ([140 - \text{età}] \times \text{peso}) / (72 S_{Cr}) \times 0,85$ (**nel caso di una donna**), risale agli anni '70 e viene ancora utilizzata dai farmacisti per stimare i dosaggi dei farmaci. Oggi è stata sostituita dalla formula MDRD (Modification of Diet in Renal Disease, modifica della dieta nella malattia renale):

$$eGFR = 175 \times (S_{Cr})^{-1,154} \times (\text{età})^{-0,203} \times (0,742 \text{ se donna}) \times (1,210 \text{ se di colore})$$

La formula per l'eGFR MDRD originale utilizzava il fattore "186" invece di "175" ed era basata su un dosaggio di creatinina senza standardizzazione ottimale. La maggior parte dei dosaggi di creatinina odierni sono stati ristandardizzati e tracciabili a un nuovo materiale di riferimento secondario basato su siero (SRM 967) e a un metodo di riferimento a standard aureo, LC-IDMS (cromatografia liquida-spettrometria di massa di diluizione dell'isotopo). È importante sapere in che modo viene standardizzato il dosaggio di creatinina utilizzato da un laboratorio, per garantire l'adozione della versione corretta dell'equazione MDRD per l'eGFR. Il sesso dei pazienti è in genere noto, quindi si può applicare il fattore di correzione per le donne (che hanno una massa muscolare inferiore agli uomini e valori di creatinina più bassi) secondo necessità. L'etnia dei pazienti non è sempre nota o chiara ed è consigliabile produrre due referti per l'eGFR, uno con e uno senza il fattore di correzione per i pazienti di colore, in modo che il medico possa scegliere quello più adatto al paziente. Il fattore di correzione per i pazienti di colore viene utilizzato perché, in generale, i neri hanno una massa muscolare maggiore e valori di creatinina più alti rispetto ai bianchi. Sono in corso degli studi per una ridefinizione precisa dell'equazione MDRD, allo scopo di adattarla ai pazienti pediatrici e geriatrici. Sono state inoltre suggerite altre equazioni per l'eGFR. In generale l'equazione MDRD si può applicare agli adulti dai 18 ai 70 anni.

Alcuni studi recenti hanno rilevato che il calcolo dell'eGFR con la cistatina C al posto della creatinina o in aggiunta alla creatinina risulta più accurata per alcune popolazioni di pazienti, quali gli anziani o i bambini i cui valori di creatinina sono influenzati da età e sesso. La cistatina C sembra variare di meno in base a età e sesso ed è un ottimo predittore della filtrazione renale.

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 7

1. Quale delle seguenti analisi è la migliore soluzione per il monitoraggio del controllo del glucosio del diabete in un periodo di 8-12 settimane?
 - A Glucosio
 - B Microalbumina nelle urine
 - C Emoglobina A1c
 - D Aptoglobina
2. La particella di lipoproteina che si utilizza per individuare un aumento del rischio di patologie delle arterie coronarie e per determinare e monitorare il trattamento per livelli di colesterolo alti è:
 - A HDL
 - B LDL
 - C Apolipoproteina A
 - D Chilomicroni
3. Quale analisi è più specifica in caso di infarto del miocardio?
 - A LDH
 - B CK
 - C Troponina
 - D Mioglobina
4. Se i valori di uno screening del TSH sono alti, quale analisi viene in genere prescritta?
 - A Colesterolo
 - B T4 libero
 - C Ferritina
 - D Glucosio
5. In quali condizioni la TIBC è alta?
 - A Emocromatosi
 - B Malattia cronica
 - C Malnutrizione
 - D Carenza di ferro
6. Quando i reni non funzionano in modo corretto per filtrare il sangue e liberare il corpo dalle sostanze di scarto, quale di questi risultati si produce con maggiore probabilità?
 - A GFR = 100 ml/min
 - B Livelli elevati di creatinina nel sangue
 - C Livelli elevati di albumina nel sangue
 - D Livelli di BUN bassi nel sangue

SEZIONE 8

UNITÀ DI MISURA

OBIETTIVI DELL'APPRENDIMENTO

Al termine di questa sezione si sarà in grado di:

- Identificare i diversi tipi di unità per la refertazione delle concentrazioni di analita
- Convertire le unità dal sistema convenzionale al Système International (SI)

CONCETTI CHIAVE

1. Le concentrazioni vengono misurate in quantità di sostanza per volume di soluzione.
2. Le concentrazioni possono essere basate su massa, numero di molecole o attività.
3. I laboratori in genere utilizzano una di due convenzioni di misurazione per la refertazione delle concentrazioni di analita.

Per le misurazioni quantitative della concentrazione, le più frequenti nei laboratori di chimica clinica, i risultati vengono espressi in valori numerici e unità.

Si consideri questo esempio: Colesterolo 192 mg/dl.

Il valore numerico, 192 mg nell'esempio, rappresenta la quantità di sostanza (colesterolo). L'unità dei volumi, il decilitro (dl) nell'esempio, identifica la quantità di liquido che contiene la sostanza. Alcune altre unità importanti sono la durata della raccolta dei campioni, la lunghezza del percorso della cuvetta utilizzata per le misurazioni ottiche e la temperatura a cui vengono eseguite le analisi.

Le analisi qualitative, anche se sono refertate senza unità di misura, sono basate su valori di soglia definiti da una concentrazione. Vengono refertati come positivi i risultati delle analisi per i campioni in cui la concentrazione di analita è uguale o maggiore del valore di soglia. Vengono refertati come negativi i risultati delle analisi per i campioni in cui la concentrazione è minore del valore di soglia. I dosaggi delle droghe di abuso sono un esempio di questo tipo di analisi.

Il lettore deve consultare l'Appendice B: Riferimenti per informazioni più approfondite su questi argomenti, in particolare *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 7a Edizione, 2015, e il sito web dell'International Bureau of Weights and Measures (BIPM) www.bipm.org.

Le unità in chimica clinica sono tradizionalmente metriche decimali. Nella tabella riportata di seguito sono illustrate alcune delle unità che si utilizzano di solito per il calcolo o la refertazione dei risultati di laboratorio.

| TIPO DI MISURAZIONE | UNITÀ DI BASE (ABBREVIAZIONE) | ALTRE MISURE DELL'UNITÀ DI BASE (ABBREVIAZIONE) | RELAZIONE CON L'UNITÀ DI BASE |
|---|---|--|--|
| Massa dell'analita o della soluzione in analisi | Grammi (g) | Chilogrammi (kg) Milligrammi (mg) Microgrammi (μg) Nanogrammi (ng) | 1.000 grammi $0,001$ o 10^{-3} grammi 10^{-6} grammi 10^{-9} grammi |
| Molecole di analita | Mole (mol) [una mole è pari a $6,02 \times 10^{23}$ molecole] | Millimole (mmol) Micromole (μmol) Nanomole (nmol) | $0,001$ o 10^{-3} moli 10^{-6} moli 10^{-9} moli |
| Volume di soluzione | Litro (l) | Decilitro (dl) Millilitro (ml) Microlitro (μl) | $0,1$ o 10^{-1} litri 10^{-3} litri 10^{-6} litri |
| Tempo | Ora (hr) | Minuto (min) Secondo (sec) | $1/60$ di un'ora $1/60$ di un minuto |
| Attività enzimatica | Unità internazionale (IU) Katal (kat) | MilliIU (mIU) MicroIU (μIU) Millikat (mkat) Microkat (μkat) | 10^{-3} IU 10^{-6} IU 10^{-3} kat 10^{-6} kat |
| Temperatura | Gradi centigradi ($^{\circ}\text{C}$) | | |
| Lunghezza | Metro (m) | Centimetro (cm) Millimetro (mm) Micrometro (μm) | 10^{-2} metri 10^{-3} metri 10^{-6} metri |

I sistemi di unità di misura di uso comune sono due. Negli Stati Uniti il sistema di refertazione dei risultati utilizzato più di frequente è costituito dalle cosiddette unità convenzionali. In ambito internazionale la maggior parte degli altri paesi utilizza una convenzione definita *Systeme International* o unità SI.

MOLI E MASSA

Per alcuni degli analiti più comuni le due convenzioni differiscono per la scelta della massa piuttosto che delle moli per esprimere la quantità di materiale. In questi casi i due sistemi di unità di misura si possono convertire senza problemi utilizzando il peso molecolare dell'analita. Se si moltiplicano le moli di analita per il suo peso molecolare si ottengono i grammi. Se si dividono i grammi di analita per il suo peso molecolare si ottengono le moli. I fattori di conversione sono basati sul peso molecolare e su un moltiplicatore appropriato (un fattore di 10) e consentono di definire con precisione unità di analita e volume di riferimento.

Un esempio, la conversione da unità convenzionali di glucosio (mg/dl) a SI (mmol/l), è riportato di seguito. Il peso molecolare si utilizza per convertire i mg in mmol e si applica un fattore 10 per convertire la concentrazione in un decilitro a quella in un litro.

$$\frac{100 \text{ mg di glucosio}}{\text{dl}} \times \frac{1 \text{ mole}}{180 \text{ grammi (MW di glucosio)}} = \frac{0,55 \text{ millimoli di glucosio}}{\text{dl}}$$

$$\frac{0,55 \text{ mmol di glucosio}}{\text{dl}} \times \frac{10 \text{ dl}}{\text{l}} = \frac{5,5 \text{ mmol di glucosio}}{\text{l}}$$

Quindi il fattore di conversione è $\frac{1 \text{ gm}}{180 \text{ gm/mole}} \times \frac{10 \text{ dl}}{\text{l}} = 0,055$

Nella tabella riportata di seguito sono illustrati alcuni esempi di analisi in cui le unità convenzionali e SI differiscono a causa dell'uso della massa piuttosto che delle moli nella refertazione della concentrazione di analita.

| ANALITA OGGETTO DI ANALISI | UNITÀ CONVENZIONALI | UNITÀ SI | PESO MOLECOLARE O ATOMICO | FORMULA DI CONVERSIONE DA UNITÀ CONVENZIONALI E SI |
|----------------------------------|------------------------|----------|---------------------------------|--|
| Bilirubina | mg/dl | μmol/l | 585 | 17,1 x mg/dl = μmol/l |
| Calcio | mg/dl | mmol/l | 40 | 0,25 x mg/dl = mmol/l |
| Colesterolo | mg/dl | mmol/l | 386 | 0,0259 x mg/dl = mmol/l |
| Creatinina | mg/dl | μmol/l | 113 | 88,4 x mg/dl = μmol/l |
| Glucosio | mg/dl | mmol/l | 180 | 0,055 x mg/dl = mmol/l |

ATTIVITÀ ENZIMATICA

Gli enzimi sono catalizzatori che accelerano le reazioni chimiche. L'attività enzimatica esprime la velocità a cui avviene la reazione in presenza di un enzima. Minore è la quantità di enzima presente, più è lenta la reazione. Maggiore è la quantità di enzima presente, più è veloce la reazione. Se la medesima reazione procede a velocità doppia quando si utilizza il siero prelevato a un paziente rispetto al siero di un altro paziente, si dice che il primo paziente ha un'attività enzimatica doppia nel sangue rispetto al secondo paziente.

L'attività enzimatica, che viene espressa in velocità di una reazione chimica catalizzata, si misura come numero di moli del composto chimico iniziale (chiamato substrato) convertito in prodotto in un determinato periodo di tempo (al secondo o al minuto).

Nelle due convenzioni di refertazione, sono disponibili diverse opzioni per esprimere il tasso di conversione del substrato.

| | | |
|----------------------|---------------------|----------------------------|
| Convenzionale | Unità di enzima (U) | $\mu\text{mol}/\text{min}$ |
| SI | Katal (kat) | mol/sec |

Conversione di: $1 \mu\text{mol}/\text{min}$ in mol/sec

$$\frac{1 \mu\text{mol}}{\text{min}} \times \frac{1 \text{ mol}}{10^6 \mu\text{mol}} \times \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ sec}} = 1,7 \times 10^{-8} \text{ mol}/\text{sec} \text{ o kat o } 0,017 \mu\text{kat}$$

Se un enzima agisce su più substrati diversi, convertendoli in forme chimiche diverse, ognuno di tali substrati può essere utilizzato per analizzare l'attività dell'enzima. Le condizioni di reazione (ad esempio, temperatura e pH) utilizzate per misurare la conversione del substrato in prodotto influiscono sulla velocità di conversione. A temperature più elevate di solito si ottengono reazioni più veloci. Le variazioni di pH possono influire sull'attività enzimatica, con un determinato pH che promuove l'attività ottimale e gli altri che rallentano la reazione. Ne consegue che la refertazione di un'attività enzimatica dipende da tutti i dettagli e le condizioni specifici della reazione. I valori numerici dell'attività enzimatica possono variare in modo sensibile da un laboratorio all'altro, a causa delle diverse scelte in merito a substrato e condizioni di reazione. Di recente si sono realizzati alcuni progressi sulla strada della standardizzazione dei dosaggi, grazie all'utilizzo di formulazioni di reagente ottimali definite dai metodi di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).

Alcuni esempi degli effetti delle condizioni di reazione e della scelta delle unità di misura nella refertazione dell'attività enzimatica dimostrano che le sole unità di misura non consentono di confrontare i valori di laboratori diversi.

| ANALITA OGGETTO DI ANALISI | UNITÀ CONVENZIONALI | INTERVALLI DI RIFERIMENTO | UNITÀ SI | INTERVALLI DI RIFERIMENTO | FATTORE DI CONVERSIONE SI |
|-------------------------------|---------------------|---------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|
| Enzima A (substrato X, 37 °C) | IU/l | 10-50 | μkat/l | 0,17-0,85 | 0,017 |
| Enzima A (substrato X, 25 °C) | IU/l | 3-8 | μkat/l | 0,05-0,14 | 0,017 |
| Enzima B (substrato Z, 37 °C) | IU/l | 20-35 | μkat/l | 0,34-0,60 | 0,017 |
| Enzima B (substrato J, 37 °C) | IU/l | 100-300 | μkat/l | 1,7-5,1 | 0,017 |

Concetto importante: le attività enzimatiche riportate con le stesse unità di misura non sono comparabili se le analisi sono state eseguite in condizioni di reazione diverse.

ANALITI CHE NON SI POSSONO ESPRIMERE IN TERMINI DI MOLECOLE O MOLI

In alcuni casi un analita non è una singola molecola ma rappresenta un gruppo di molecole eterogenee con pesi molecolari diversi. Un esempio sono le analisi della proteina totale, con cui si misurano tutte le diverse proteine presenti in un campione. Non è possibile utilizzare un singolo peso molecolare per specificare questa miscela e l'espressione in moli per litro non avrebbe significato. In altri casi una molecola non ha un peso molecolare ben definito ed è preferibile specificarne la massa piuttosto che le moli di materiale. Ne sono un esempio le proteine come l'antigene prostatico specifico, la proteina C-reattiva e l'alfafetoproteina i cui pesi molecolari non sono ben definiti. In questi casi il sistema di refertazione SI, come il sistema convenzionale, utilizza un valore in massa per specificare la quantità di materiale presente. Tuttavia, si possono evidenziare delle differenze nelle unità refertate tra i due sistemi, come illustrato di seguito.

Nella tabella riportata di seguito sono illustrati degli esempi di analiti refertati in unità di massa sia nel sistema convenzionale che in quello SI.

| ANALITA OGGETTO DI ANALISI | UNITÀ CONVENZIONALI | UNITÀ SI | FATTORE DI CONVERSIONE SI |
|----------------------------|---------------------|----------|---------------------------|
| Proteina C-reattiva | mg/dl | mg/l | 10 |
| Alfafetoproteina | ng/ml | μg/l | 1 |
| Proteina totale | g/dl | g/l | 10 |
| Immunoglobulina M | mg/dl | mg/l | 10 |

DOMANDE DI REVISIONE: SEZIONE 8

1. Quale delle seguenti unità di misura si utilizza per la refertazione del glucosio in un laboratorio di chimica clinica?
 A mg/dl B once/l
 C ml/l D Sono tutte unità accettabili
2. Qual è il valore di 150 mg/dl di glucosio convertito in unità SI?
 A 1,61 mmol/l B 8,25 mmol/l
 C 0,367 mmol/l D Nessuno di questi valori
3. Se il colesterolo totale è 4,0 mmol/l, qual è il valore in unità convenzionali?
 A 154 mg/dl B 102 mg/dl
 C 40 mg/dl D Nessuno di questi valori
4. Se l'attività enzimatica per LD è 40 IU/l a 25 °C, qual è l'attività a 37 °C?
 A 40 IU/l B 59 IU/l
 C 27 IU/l D Non è possibile saperlo in base alle informazioni fornite

APPENDICE

APPENDICE A:
GLOSSARIO DEI TERMINI

APPENDICE B:
RIFERIMENTI

APPENDICE C:
RISPOSTE CORRETTE

APPENDICE A: GLOSSARIO DEI TERMINI

Accuratezza: la capacità da parte delle analisi di ottenere un valore target noto per un campione. Le analisi accurate sono caratterizzate da bias e imprecisioni minime.

Acidosi: stato di diminuzione dei componenti basici (alcalini) e accumulazione di composti acidi nel sangue che provocano una diminuzione del pH.

Adiposo: relativo o correlato al tessuto grasso del corpo, ovvero al tessuto ricco di lipidi.

Alcalosi: stato di eccesso dei componenti basici (alcalini) o perdita dei composti acidi nel sangue che provocano un aumento del pH.

Amminoacido: acido organico che costituisce le fondamenta delle proteine.

Analisi: il processo complessivo per il rilevamento e la misurazione di un analita.

Analita: la sostanza oggetto della misurazione (ad esempio, glucosio, sodio, colesterolo).

Anticorpo: un'immunoglobulina prodotta dal sistema immunitario del corpo in risposta a una stimolazione antigenica.

Antigene: una sostanza estranea che provoca una risposta immunitaria e la produzione di anticorpi.

Assorbanza: la quantità di luce che viene assorbita dall'analita in una soluzione. L'assorbanza è direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita.

Assorbimento atomico: Un metodo spettrofotometrico in cui l'analita è un elemento (ad esempio, Ca) che assorbe la luce a una determinata lunghezza d'onda. La diminuzione dell'intensità della luce che colpisce il fotorilevatore corrisponde all'aumento delle concentrazioni di analita.

Attività enzimatica: una misura quantitativa dell'attività catalizzatrice di un enzima presente nel campione. La concentrazione dell'enzima viene spesso espressa in termini di attività invece che di unità quantitative.

Bias: l'errore che si osserva in un metodo di analisi. Maggiore è il bias, minore è l'accuratezza dell'analisi.

Bilirubina (ittero): colorazione gialla del plasma causata dalla rottura dell'emoglobina che produce un accumulo di bilirubina.

Bilirubinemia: la bilirubina che circola nel sangue.

Calibrazione: procedura eseguita con l'utilizzo di calibratori (campioni con concentrazioni di analita note) che consentono di costruire una curva di calibrazione da utilizzare per la valutazione della concentrazione quantitativa di analita nei campioni non noti (dei pazienti).

Campione biologico: il tipo di fluido biologico in cui si trova l'analita (ad esempio, sangue, urine, liquido cerebrospinale) o la forma in cui il liquido viene sottoposto ad analisi (ad esempio, siero, plasma, sangue intero).

Campione: il fluido dopo la preparazione per l'analisi (ad esempio, siero o plasma dopo la centrifugazione).

Catalizzatore: sostanza che accelera una reazione chimica, come un enzima nel corpo.

Catione: uno ione che trasporta una carica positiva.

Complemento: gruppo di proteine del siero che, quando attivato, produce effetti infiammatori e la lisi delle cellule.

Concentrazione: quantità di analita misurata in un campione ed espressa quantitativamente (ad esempio, mg/dl, mmol/l).

Diabete: malattia molto comune dovuta a un mancato controllo della glicemia. Le concentrazioni di zucchero nel sangue (glucosio) aumentano in modo anomalo a causa dell'incapacità di produrre o utilizzare l'insulina.

Dosaggio immunometrico: dosaggio basato su una reazione antigene-anticorpo.

Droghe di abuso (DOA): droghe illegali (ad esempio, LSD, cocaina) o farmaci prescrittibili (ad esempio, anfetamine, oppiacei) che vengono utilizzati per scopi ricreativi.

Effetti della matrice: effetto di interferenza di una matrice campione che provoca un aumento o una riduzione non reali nei risultati di un'analisi. Alcuni fattori comuni che provocano tale effetto sono emolisi, ittero e lipemia.

Elettrodo ione-selettivo (ISE): un dispositivo potenziometrico utilizzato per misurare selettivamente singoli elettroliti quali Na, K e Cl.

GLOSSARIO DEI TERMINI, CONTINUA

Elettroliti: cationi (ad esempio, Na, K) e anioni (Cl) misurati nei campioni.

Emoglobina: proteina presente nei globuli rossi che trasporta l'ossigeno dai polmoni ai tessuti.

Emolisi: rottura dei globuli rossi che provoca il rilascio di emoglobina nel plasma o siero.

Emostasi: stato di equilibrio nel corpo tra coagulazione del sangue e lisi dei coaguli.

Enzima: proteina nel corpo che agisce da catalizzatore e converte un substrato in un prodotto.

Essudato: fluido che è fuoriuscito da un tessuto o capillare, in genere in risposta a un'inflammazione o un trauma.

Extracellulare: componente che si trova all'esterno della cellula.

Fase analitica: tutte le procedure correlate all'analisi di un campione per un analita.

Fase postanalitica: tutte le procedure correlate alla gestione del campione e alla refertazione dei risultati che seguono la fase analitica (analisi).

Fase preanalitica: tutte le procedure correlate al prelievo del campione e alla gestione che precedono la fase analitica (analisi).

Fluidi corporei: fluidi presenti nelle cavità o negli spazi del corpo (ad esempio, liquido pleurico, liquido addominale, liquido pericardico e liquido sinoviale).

Fotometria: misurazione dell'intensità della luce a diverse lunghezze d'onda.

HIL: emolisi, ittero e lipemia; i fattori più comuni che interferiscono con le analisi dei campioni di sangue.

Intervallo di misurazione analitica: la gamma dinamica dei valori per l'analisi (i valori più alti e più bassi che si possono misurare con la strumentazione senza diluizione o manipolazione del campione).

Intervallo di riferimento: l'intervallo delle concentrazioni normali previsto per un analita in una popolazione di pazienti. Spesso varia in base a età, sesso o altri fattori discriminanti.

Intracellulare: componente che si trova all'interno della cellula.

Ittero (bilirubina): colorazione gialla del plasma causata dalla rottura dell'emoglobina che produce un accumulo di bilirubina.

Legge di Beer: l'equazione di base che mette in relazione la concentrazione di analita all'assorbimento spettrofotometrico.

Linfoma di Hodgkin: neoplasia maligna delle cellule linfatiche di origine incerta.

Lipemia: colorazione lattiginosa del plasma causata da un aumento dell'accumulo di lipidi, in genere trigliceridi.

Lipidi: gli analiti comuni di colesterolo e trigliceridi e composti correlati, come acidi grassi liberi e lipoproteine.

Lipoproteina a bassa densità (LDL): particella di lipoproteina che si trova nel sangue ed è costituita da proteina, con poco trigliceride e una proporzione elevata di colesterolo che viene associata a un aumento del rischio di sviluppo dell'aterosclerosi.

Lipoproteina ad alta densità (HDL): una particella di lipoproteina presente nel corpo costituita da una proporzione elevata di proteina con poco trigliceride e colesterolo e che viene associata a una riduzione del rischio di aterosclerosi.

Malattia cardiovascolare (MCV): malattia del cuore e delle arterie cardiache provocata dall'accumulo di depositi lipidici o da altre cause di malfunzionamento del cuore. Per il rilevamento e il monitoraggio della malattia cardiovascolare si utilizzano diversi analiti.

Matrice: il fluido biologico che viene prelevato e utilizzato per un analita (ad esempio, sangue, urine) o la forma del fluido biologico sottoposto ad analisi (ad esempio, siero, plasma).

Metaboliti: prodotti di anabolismo e catabolismo. Analiti creati per sintesi nel corpo (ad esempio, glucosio, colesterolo) o rottura (ad esempio, creatinina, urea).

Metodo/metodologia: il principio o la tecnica di misurazione di base che si utilizza in un sistema analitico per eseguire un'analisi.

GLOSSARIO DEI TERMINI, CONTINUA

Monitoraggio dei farmaci terapeutici: analisi indirizzata verso i farmaci terapeutici più comuni (ad esempio, digossina, teofillina, acido valproico) che consente di determinare se la concentrazione rientra nella gamma terapeutica, è inferiore a tale intervallo o superiore (gamma tossica).

Morbo di Addison: insufficienza adrenocorticale cronica.

Morbo di Paget: patologia ossea, spesso di origine familiare, che conduce a un ammorbidimento delle ossa.

NADH: idrogeno nicotinammide adenina dinucleotide.

Nefrotico: relativo alle malattie dei tubuli renali.

Neonatale: riferito al periodo che segue immediatamente la nascita.

Omeostasi: stato di equilibrio nel corpo.

Pannello: una serie di analisi correlate e prescritte insieme.

Placca: depositi lipidici nelle arterie che causano stenosi e che conducono a malattie cardiovascolari.

Plasma: il liquido giallastro trasparente che si ottiene quando si preleva sangue in una provetta che contiene anticoagulante. I fattori di coagulo non vengono attivati e non si forma un coagulo (in genere la provetta è viola, verde o azzurra).

Potenziometria: misurazione della differenza di potenziale elettrico tra due elettrodi in una cellula elettrochimica. La metodologia utilizzata da un elettrodo ione-selettivo.

Precisione: la riproducibilità di un'analisi. La capacità di ottenere valori quantitativi molto simili nel caso di ripetizione di un'analisi su un campione.

Pressione osmotica: forza che sposta l'acqua o un altro solvente attraverso una membrana separando una soluzione. In genere il movimento procede da una concentrazione più bassa a una concentrazione più alta.

Proteine: molecole proteiche di grandi dimensioni come l'albumina e le immunoglobuline (IgA, IgG, IgM).

Provette di prelievo: i diversi tipi di dispositivi utilizzati per prelevare campioni di sangue. In vetro o in plastica, senza o con anticoagulanti e/o separatori del gel.

Reagente: una miscela chimica a cui viene aggiunto un campione per l'esecuzione delle analisi.

Renale: relativo al rene.

Siero: porzione liquida del plasma che resta dopo la rimozione dei coaguli.

Sindrome di Cushing: iperplasia delle ghiandole surrenali provocata da un adenoma della ghiandola pituitaria.

Sindrome di Dubin Johnson: difetto ereditario della funzione descrittiva del fegato. È caratterizzato da livelli eccessivamente alti di bilirubina coniugata.

Sindrome di Reye: un'encefalopatia rara, acuta e spesso fatale tipica dell'infanzia contrassegnata da un edema cerebrale acuto. Nella maggior parte dei casi si verifica come conseguenza di un'influenza o di un'infezione del tratto respiratorio superiore.

Spettrofotometria: misurazione dell'intensità della luce a diverse lunghezze d'onda.

Titolo: la quantità di anticorpo trovato in un campione a seguito dell'esposizione a un antigene. Un titolo alto in genere si rileva dopo una risposta immunitaria e tende a diminuire nel tempo dopo l'esposizione all'antigene.

Tossicologia: analisi dei farmaci terapeutici o delle droghe di abuso.

Tracciabilità: ancoraggio dei calibratori di una metodologia di analisi a materiali e/o metodi di riferimento riconosciuti al fine di garantire l'accuratezza dei risultati. Viene descritta con una catena di tracciabilità metodologica.

Urina: Il liquido di scarto acquoso prodotto dei reni. Il fluido corporeo più comune, dopo il sangue, utilizzato per le analisi.

Velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR): una stima del valore di GFR basata su un'analisi misurata comunemente, la creatinina o la cistatina C, e su un'equazione che tiene conto di diversi fattori che influiscono sulla GFR.

Velocità di reazione: descrive la velocità in base alla quale varia una misurazione di rilevamento nel corso del tempo.

APPENDICE B: RIFERIMENTI

LIBRI DI TESTO DI CHIMICA CLINICA GENERALE

Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7a edizione, a cura di Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood e David E. Bruns. W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA, 2015.

Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 20a edizione, a cura di John Bernard Henry, Frederick R. Davey, Chester J. Herman, et al. Saunders, Philadelphia, PA, 2001.

Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation, 5a edizione, 2009. A cura di Lawrence A. Kaplan, Amadeo J. Pesce e Steven Kazmierczak.

Clinical Diagnostic Technology – The Total Testing Process, 2003, Volume 1: The Preanalytical Phase. A cura di Kory M. Ward-Cook, Craig A. Lehmann, Larry E. Schoeff e Robert H. Williams.

Clinical Diagnostic Technology – The Total Testing Process, 2005, Volume 2: The Analytical Phase. A cura di Kory M. Ward-Cook, Craig A. Lehmann, Larry E. Schoeff e Robert H. Williams.

Clinical Diagnostic Technology – The Total Testing Process, 2006, Volume 3: The Postanalytical Phase. A cura di Kory M. Ward-Cook, Craig A. Lehmann, Larry E. Schoeff e Robert H. Williams.

Contemporary Practice in Clinical Chemistry, 2006. A cura di William Clarke e D. Robert Dufour.

Basic Method Validation, 3a edizione, 2009. James O. Westgard, con contributi di Elsa F. Quam, Patricia L. Barry, Sharon S. Ehrmeyer e R. Neill Carey.

RISORSA ONLINE PER L'INTERPRETAZIONE DELLE ANALISI DEI LABORATORI CLINICI

Lab Tests Online®. Il sito degli Stati Uniti www.labtestsonline.org contiene collegamenti verso i siti di altri paesi e in altre lingue.

ORGANIZZAZIONI CHE OFFRONO SERVIZI E MATERIALI PER LA FORMAZIONE

National Institutes of Standardization and Technology (NIST): www.nist.gov

American National Standards Institute (ANSI): www.ansi.org

World Health Organization (WHO): www.who.int/en/

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI - in precedenza NCCLS): www.clsi.org

International Federation of Clinical Chemistry (IFCC): www.ifcc.org

Institute for Reference Materials and Methods (IRMM): www.irmm.jrc.be

National Institute for Biologic Standards and Control (NIBSC): www.nibsc.ac.uk

American Diabetes Association (ADA): www.diabetes.org

National Cholesterol Education Program (NCEP): www.nhlbi.nih.gov/about/ncep

National Kidney Foundation (NKF): www.kidney.org/kidneydisease/ckd/knowgfr.cfm

International Bureau of Weights and Measures (BIPM): www.bipm.org

ORGANIZZAZIONI CHE OFFRONO PROGRAMMI DI STANDARDIZZAZIONE

Cholesterol Reference Method Laboratory Network: www.cdc.gov/labstandards/crmln.html

National Glycohemoglobin Standardization Program: www.ngsp.org

IFCC HbA1c Standardization Program: www.ifcchba1c.net

RISORSA ONLINE PER LA VARIAZIONE BIOLOGICA E LA DEFINIZIONE DEGLI INTERVALLI DI ACCURATEZZA TARGET

Westgard QC: www.westgard.com/guest17.htm

APPENDICE C: RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 1

1. A. Calcio
2. Cinque qualsiasi dei seguenti: sangue, urine, liquido cerebrospinale, liquido pleurico, liquido sinoviale, liquido peritoneale, liquido pericardico, saliva, liquido amniotico
3. C. Analizzando campioni di persone sane
4. C. 1 su 100
5. D. Nessun additivo

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 2

1. B. Elettroliti
2. A. Endpoint (end-up)
3. A. Immunoturbidimetria
4. B. Tra 2 e 3 nmol/l

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 3

1. A. Blanking
2. A. Misurazione dell'attività della lipasi
3. B. Rimuovere le sostanze che potrebbero essere misurate erroneamente come analita
4. B. Microscopia

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 4

1. A. 50, 51, 52
2. B. 95, 100, 105
3. C. Entrambi i metodi subiscono l'effetto matrice del materiale di QC.
4. C. L'accuratezza del metodo è collegata a un metodo e/o un materiale certificato
5. B. Trigliceridi

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 5

1. B. Sangue prelevato nel tipo di provetta errato
2. A. Strumentazione non calibrata correttamente
3. B. Presenza nel campione di sostanze che interferiscono
4. Tutte

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 6

1. B. Prealbumina
2. B. Ammoniaca
3. A. Amilasi e lipasi
4. D. Acetaminofene a 250 µg/ml
5. B. BNP

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 7

1. C. Emoglobina A1c
2. B. LDL
3. C. Troponina
4. B. T4 libero
5. D. Carenza di ferro
6. B. Livelli elevati di creatinina nel sangue

RISPOSTE CORRETTE ALLE DOMANDE DI REVISIONE DELLA SEZIONE 8

1. B. once/l
2. B. 8,25 mmol/l
3. A. 154 mg/dl
4. D. Non è possibile saperlo in base alle informazioni fornite

ABBOTTDIAGNOSTICS.COM

© 2017 Abbott Laboratories. ADD-00061345

