



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI  
**FEDERICO II**

# Medicina di laboratorio



**Prof.ssa Olga Scudiero**

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche  
CEINGE S.C.a.r.l.



[olga.scudiero@unina.it](mailto:olga.scudiero@unina.it)



0817463172

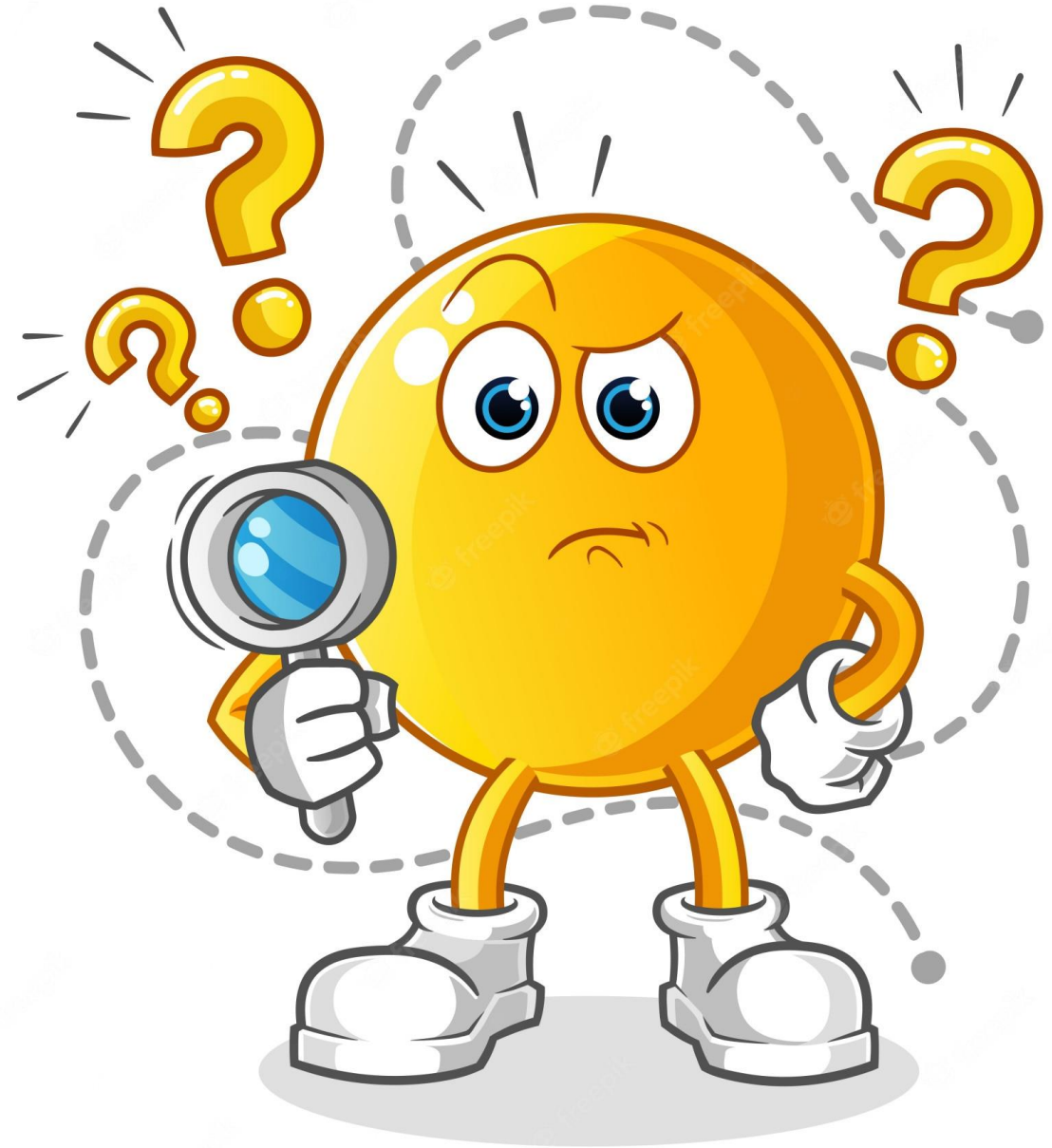
## **Argomenti della lezione: Dal prelievo del campione biologico al referto**

- Fase pre-analitica
- Fase analitica
- Fase post-analitica
- Variabilità totale

# Il quesito clinico

---

Il quesito clinico apre le porte a una corretta valutazione biochimico-clinica del paziente; in particolare, è un momento fondamentale per indirizzare il laboratorista verso l'obiettivo del prelievo e delle analisi richieste. Il primo aspetto da capire è proprio lo scopo della richiesta.





In relazione all'obiettivo, la richiesta è effettuata da figure professionali differenti: medico di base o lo specialista, medico del pronto soccorso, personale di aziende ospedaliere per i test di screening e per la prevenzione sul lavoro.



# Il paziente

I punti chiave nella relazione tra paziente e personale addetto all'accettazione dello stesso sono:

- L'accertamento dell'identità del paziente;
- L'eventuale firma del consenso informato, laddove richiesto;
- Lo stato di salute del paziente.

Il consenso informato è riservato ad alcuni test, per esempio quelli per l'HIV, le mutazioni geniche, la mappatura dei cromosomi, le tipizzazioni HLA, la ricerca di droghe ecc.

Notizie relative al paziente

MODELLO RICHIESTA INDAGINI BIOCHIMICHE

DATA \_\_\_\_\_

N° ACCETTAZIONE \_\_\_\_\_

Cognome \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_ Sesso M F

Data di nascita \_\_\_\_\_

DATI NOSOGRAFICI

Codice Struttura di provenienza N° \_\_\_\_\_

Nome Struttura \_\_\_\_\_

N° Nosografico \_\_\_\_\_

Medico richiedente \_\_\_\_\_ Tel. n° \_\_\_\_\_

Diagnosi d'ingresso \_\_\_\_\_

ROUTINE BIOCHIMICA Tel. 2436

BARRARE IL N° del PANNELLO RICHIESTO

provetta tappo giallo 7mL. Vacutainer secco con gel separatore

N° 1	N° 2	N° 3	N° 4
Na, K, FE, CA, P, GLU, URBA, CREA, UA, PT, ALB, COL, TRIG, BILT, AST, ALT, ALP, GGT, LD, CK, AMS, CHE	UREA, GLU, CREA, COL, TRIG, AST, ALT, GGT	FE, UREA, GLU, CREA, UA, PT, COL, TRIG, BILT, BILD, AST, ALT, ALP, GGT	Na, K, FE, URBA, GLU, CREA, PT, ALB, BILT, AST, ALT, ALP, LD, CK, CHE, DIB, GGT

Inserire la sigla di eventuali test in aggiunta al pannello richiesto: Col.HDL(HDL), Col. LDL(LDL), Cloro (CL), BILD, Ferritina (FER), Cap. ferrolegante(TIB), N° di Dibucaina (DIB), Amil. Pancre (PAMS), Lipasi (LPS), Aldolasi (ALS), Fruttosamina (FRU), Magnasio (MG), Curva da carico di Glucosio (GLU) T 0 - T 30 - T 60 - T 90 - T 120 - T 180.

ELETTROFORESI DELLE SIEROPROTEINE (QY)  barrare la casella

Tel. 2411 (Si accettano solo dal lunedì al giovedì)

provetta tappo ruggine 4 mL. Vacutainer secco con gel separatore

Esame Emocromocitometrico (EMO)  barrare la casella

con formula leucocitaria

INDAGINI SPECIALI: Reticolociti (RET); \_\_\_\_\_

Tel. 2406

EMOSTASI di base: PT  APTT  Fibrinogeno

barrare la casella (FIB)

provetta tappo celeste 4,5 mL. Vacutainer Na-Citrato

INDAGINI SPECIALI: Antitrombina III(AT); D-Dimero (D-D); Proteina S libera (PROSL); Proteina S totale(PS); Proteina C(PC), Plasminogeno(PLG); Fattori:II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII.

Per: var. Billebrand (vW); a2antiplasmina (AP); PAI (PAI); Inib. Fatt. V, VIII, IX, XI, XII (INV, INVIII e INIX, INVII); Antifos. (APA); Anticardiolip. (ACA); Lupus Anticoag. (LAC); Trombina-Antitrombina (TAT); Resistenza (ATC); Frammenti 1,2 (FR1) è indispensabile inviare una seconda provetta.

URINE STANDARD (EU) \_\_\_\_\_

Tel. 3032

Routine biochimica

Omocisteina Sierica (OMS)  barrare la casella

tel 3032

provette tappo viola Vacutainer EDTA-K

Omocisteina Urinaria (OMU)

provetta di plastica per urine

Prodotti di Degradazione del Fibrinogeno (PDF)

tel 3032

provetta tappo blu (da ritirare presso il laboratorio)

RICHIESTA DI DOSAGGIO NEL SIERO DI PROTEINE SPECIFICHE

tel 2411 (si accettano solo dal lunedì al giovedì)

Provetta tappo giallo 4mL Vacutainer secco con gel separatore

Prealbumina (PA); Alfa 1-antitripsina (A1AT); Alfa 1-glicoproteina acida (A1AG); Alfa 2-macroglobulina (A2M); Aptoglobina (HP); Ceruloplasmina (CER); Transferrina (TF); Recettore solubile della Transferrina (STRF); Cistatina C (CISTC); Proteina C ad alta sensibilità (USCRP)

riportare negli appositi spazi le sigle delle Indagini Speciali richieste

RICHIESTA DI DOSAGGIO NELLE URINE (Urine del mattino):

tel 2411

provetta di plastica fondo piatto

Proteina di BENCE JONES (BJ); Catene leggere legate -Immunofissazione Proteine Urinarie (HFEUR); Elettroforesi proteine urinarie (EPU); Microalbuminuria (MALB).

INDAGINI SPECIALI DI EMATOLOGIA

Glucosio 6fosfato deidrogenasi (G6PD), Piruvato Kinasi (PK),

tel 2406

provetta tappo viola Vacutainer EDTA-K

Inserire negli appositi spazi le sigle dei test richiesti

Hb glicosilata (GLIC)  barrare la casella

tel 2406

provetta tappo viola Vacutainer EDTA-K

HbA2, HbF, Hb varianti (HbAV)  barrare la casella

tel 3140

provetta tappo viola Vacutainer EDTA-K

Eritropoietina (EPO)  barrare la casella

tel 2406

provetta tappo giallo 4mL Vacutainer secco con gel separatore

Resistenze osmotiche eritrocitarie (RES):  barrare la casella

tel 2406

provetta tappo verde Et. siala di Lido

Si accettano solo il giovedì

Peptide N-terminale Natriuretico-B NT - proBNP  barrare la casella

tel 2406

provetta tappo giallo 4mL Vacutainer secco con gel separator

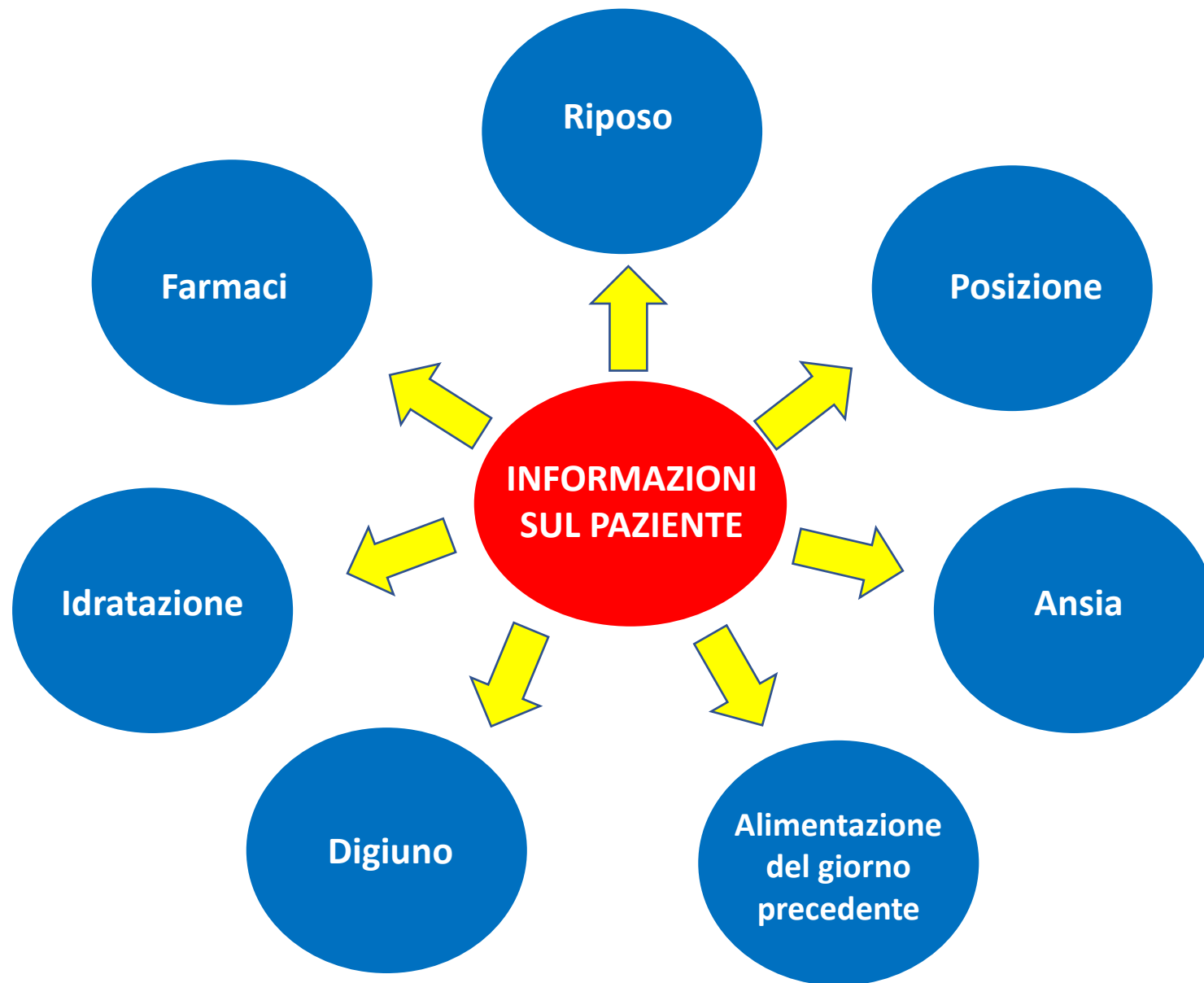
VITAMINA B12 e FOLATI (VITB) (FOL)  barrare la casella

provetta tappo giallo 4mL Vacutainer secco con gel separatore

La sigla dei test indicate in parentesi sono quella utilizzata per la programmazione info. matizzata

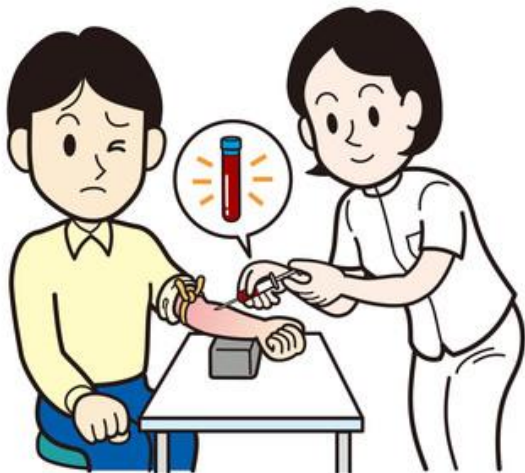
NORME PER IL PRELIEVO Non effettuare il prelievo di sangue durante l'elastografia o glucometro. Nel caso di elastografia, chiudere il flusso della flebo a 5-4 gocce/min ed effettuare il prelievo dal brucolo controllato.

Indagini speciali



- **Importanza del riposo**

L'attività fisica anche se moderata, può alterare il risultato di alcune analisi. L'esercizio aerobico può indurre una riduzione apparente dell'ematocrito, del numero di globuli rossi e dell'emoglobina, soprattutto in soggetti poco allenati. Per alcuni esami (fosfocreatina CPK, prolattina, enzimi epatici, acido piruvico, acido lattico e omovalinico urinario) al paziente si consiglia di evitare sforzi intensi nelle 12 ore precedenti il prelievo.



- **Importanza della posizione**

L'esito di alcune analisi (renina, angiotensina 1 e 2 e aldosterone) può essere influenzato dalla posizione assunta da paziente al momento del prelievo. Quest'ultimo può essere effettuato:

- in posizione eretta (**ortostatismo**)
- in posizione orizzontale dopo 3 ore di riposo (**clinostatismo**)

- **Importanza della componente ansiosa**

L'ansia del paziente è un fattore importante durante il prelievo, dal momento che induce vasocostrizione e quindi rende difficoltosa l'operazione. Per questo è importante che l'ambiente circostante sia calmo e nel caso, l'operatore può invitare il paziente ad assumere la posizione orizzontale.



- **Importanza dell'alimentazione e del digiuno**

L'alimentazione del giorno precedente è uno dei fattori più importanti che può influenzare i risultati di un prelievo. A seconda del tipo di esame, il paziente è invitato a rispettare un determinato regime alimentare.

Inoltre, è importante rispettare un digiuno di almeno 8 ore per quasi tutte le analisi, e di almeno 12 ore per il dosaggio dei trigliceridi. È importante sottolineare però, che un digiuno oltre le 24 ore può:

- sottostimare i valori di glicemia, colesterolemia, trigliceridemia, proteinemia e ormoni tiroidei;
- sovrastimare quelli di bilirubina, acido urico e creatinina.



- **Importanza dell'idratazione**

L'intensa sudorazione o alcuni trattamenti come sauna e bagno turco, eseguiti il giorno precedente il prelievo, possono causare emocoagulazione con innalzamento della maggior parte dei parametri. In questo caso, è necessario reintegrare i liquidi persi aumentando l'apporto idrico



- **Importanza dei farmaci**

I farmaci influenzano in maniera diversa un ampio numero di esami. Pertanto, è fondamentale informare il medico riguardo ai farmaci che si stanno assumendo.

# Centro prelievi



- I campioni biologici vengono prelevati dal paziente presso:
- Un centro prelievi se si tratta di sangue, feci, urina, saliva, capello, liquido seminale;
- In reparti ospedalieri se si tratta di liquor, succo gastrico, trasudati, essudati.

Il centro prelievi può trovarsi in uno spazio dedicato all'interno di un laboratorio di analisi oppure può costituire una struttura autonoma, come nel caso del punto prelievi esterno (PPE). Nel PPE avviene l'etichettatura, la conservazione e l'organizzazione del trasporto del campione biologico. I mezzi e i contenitori utilizzati per il trasporto dei campioni devono essere autorizzati dalle aziende sanitarie competenti dei territori coinvolti.

# Fase pre-analitica

I campioni da analizzare quando giungono al laboratorio di analisi, sono sottoposti ad un check-in attraverso un sistema automatizzato che permette di conoscere il volume esatto delle provette e degli esami che devono essere eseguiti.

Il sistema identifica e segnala i **campioni non idonei**, ovvero:

- Provette con quantità insufficiente di sangue;
- Provette non etichettate correttamente
- Non corrispondenza tra richiesta e tipo di prelievo;
- Sangue coagulato o emolizzato;
- Provette non schermate, nel caso di vitamine.



# Trattamenti pre-analitici

---

I trattamenti preanalitici consistono in una serie di interventi eseguiti dal campione subito dopo il check-in e fino al suo posizionamento nello strumento analizzatore. I trattamenti variano in base al tipo di esami richiesti.

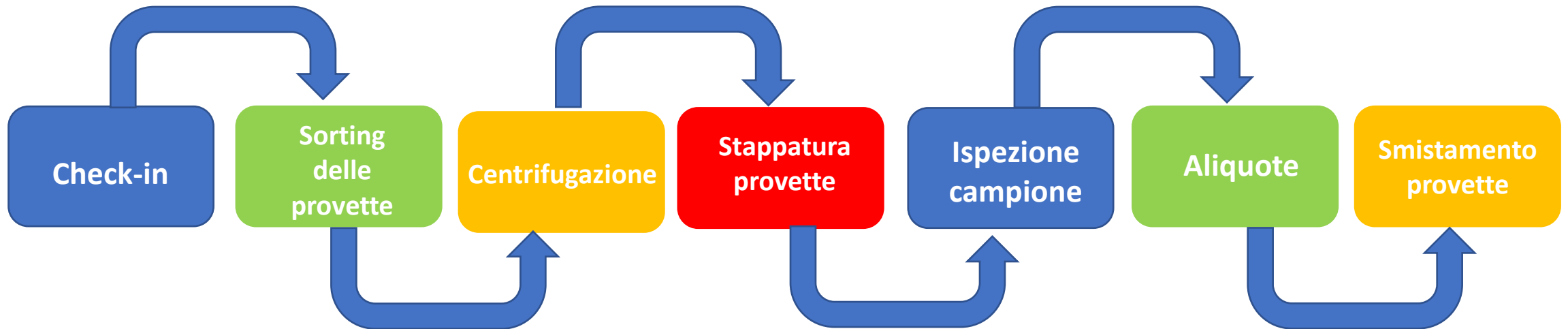
- In caso di esami su sangue intero, il campione viene posto direttamente nell'analizzatore. Al contrario se le indagini vanno effettuate su siero o plasma, il sangue viene centrifugato e successivamente conservato a diverse temperature (+4° C o -20°C) a seconda del tipo di analisi a cui dovrà essere sottoposto.



# Fase pre-analitica: il Sistema Front-end

Nel sistema front-end tutti i trattamenti preanalitici sono effettuati in automazione: dal check in al posizionamento nell'analizzatore.

- Vantaggi:**
- minore quantità di sangue richiesto grazie alla possibilità di aliquotare;
  - più rapido;
  - più economico;
  - maggiore sicurezza dell'operatore;
  - validazione dei risultati anche da postazioni esterne alla struttura.



# Fase analitica

Le analisi biochimico-cliniche possono fornire informazioni di tipo **qualitativo, quantitativo o semiquantitativo**.

Le **analisi qualitative** danno informazioni sulla presenza o assenza di uno specifico metabolita in un campione

Le **analisi quantitative** misurano la quantità di metabolita rilevato nel campione

Le **analisi semiquantitative** danno informazioni immediate sulla presenza e sulla quantità approssimativa di un metabolita, esempio le strisce reattive delle urine

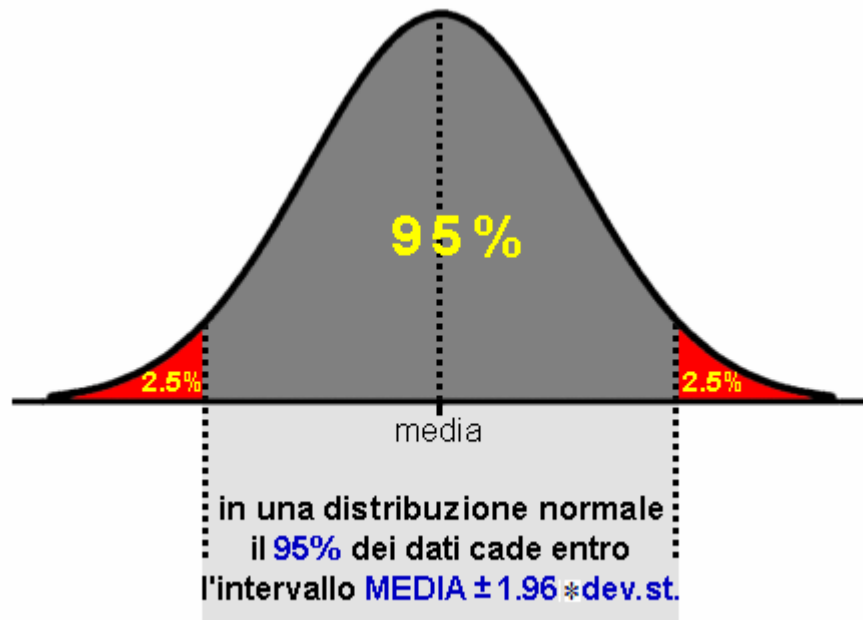
# Fase analitica: principali tecniche

Le principali tecniche utilizzate in biochimica clinica sono:

- Chemiluminescenza;
- Colorimetria e fotometria;
- Turbidimetria e nefelometria;
- RIA (Radio Immuno Assay) e IRMA (Immuno RadioMetric Assay);
- EIA (enzyme Immuno Assay) ed ELISA ( Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay);
- Elettroforesi capillare;
- Citometria a flusso;
- HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) e UFLC MS/MS (Ultra Fast Liquid Chromatography MS/MS).

# Fase analitica: cut-off quantitativo

Per i test quantitativi, è necessario stabilire i valori di riferimento o valori di normalità (cut-off quantitativi) che sono riferiti alla popolazione sana. Per definire la normalità dei valori, si effettuano analisi su un numero elevato di soggetti sani e si riportano i risultati in un grafico di distribuzione ad aspetto gaussiano con gli angoli laterali simmetrici alla media.



Il range di normalità viene individuato con calcoli matematici e statistici tramite metodi parametrici e non parametrici. Il metodo parametrico è rappresentato dalla distribuzione gaussiana a campana: i valori misurati sono distribuiti quasi simmetricamente a destra e a sinistra rispetto ad un valore centrale e si determinano la media (il valore centrale) e la deviazione standard.

L'intervallo centrale viene definito come  $media \pm 2DS$ , dove DS indica la deviazione standard. In questo intervallo solo il 5% ricade al di fuori della campana di normalità.

**I metodi non parametrici** invece utilizzano la mediana anziché la media: in questo caso i valori non derivano da una popolazione di riferimento ma sono elencati in ordine crescente/decrescente. I valori corrispondenti al 2,5° e 97,5° percentile sono i limiti della normalità all'interno dei quali sono distribuiti i valori normali.

Se un paziente ha i valori al di fuori dell'intervallo di riferimento, il medico prima di avanzare l'ipotesi di una patologia, deve considerare che:

1. Il paziente potrebbe essere sano, ma con valori statisticamente estremi oppure con caratteristiche differenti rispetto alla popolazione di riferimento;
2. La raccolta e la preparazione del campione potrebbero aver subito delle variabili tali da determinare un risultato non compreso nell'intervallo di riferimento.

## Fase analitica: attendibilità di un test

L'attendibilità di un metodo analitico indica la qualità del risultato ottenuto e i fattori che ne prendono parte dipendono dal metodo analitico utilizzato (sensibilità, specificità, accuratezza) e dall'efficienza analitica del laboratorio (abilità dell'operatore e corretto funzionamento degli strumenti).

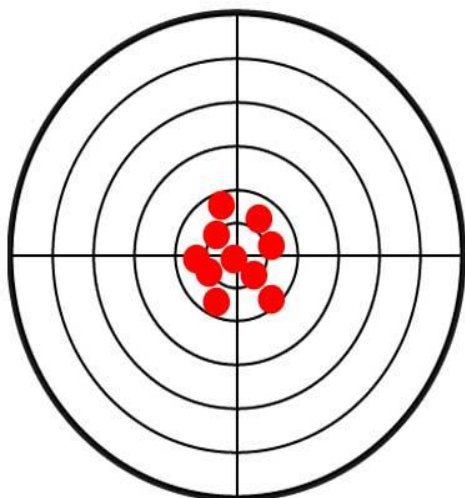
- **Sensibilità analitica:** minima quantità di analita rilevabile nel campione in esame.
- **Specificità analitica:** capacità del metodo di rilevare l'oggetto di indagine, senza che questo abbia subito interferenze.



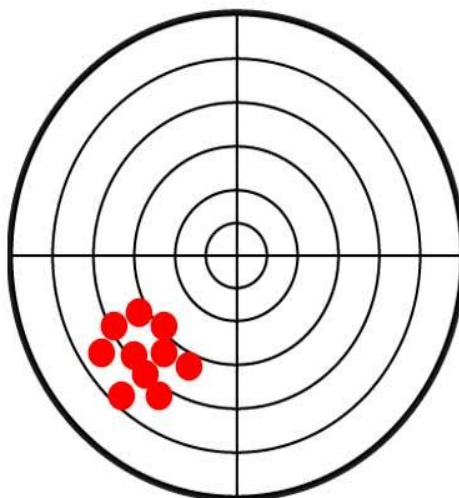
Il personale di laboratorio garantisce il controllo qualità dei risultati che presuppongono l'accuratezza analitica e la precisione.

Un metodo analitico è **accurato** quando i risultati ottenuti si avvicinano a quelli determinati con un metodo di riferimento, mentre è **preciso** quando i risultati ottenuti convergono su un valore medio, che si basa sulla concordanza tra misure ripetute dello stesso campione.

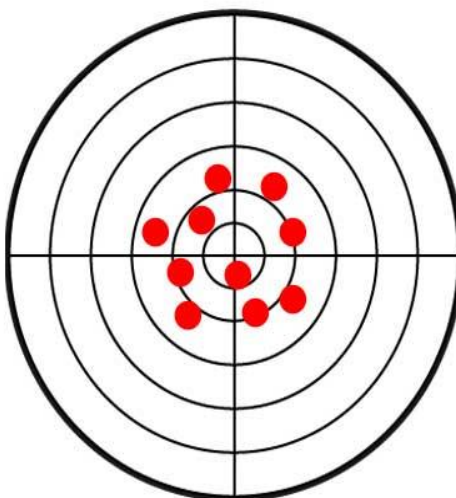
1: +Accurato +Preciso



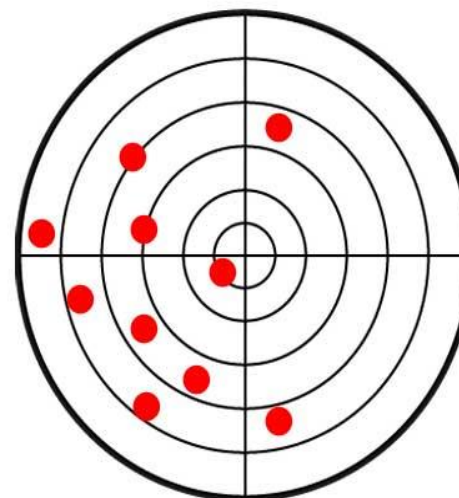
2: -Accurato +Preciso



3: +Accurato -Preciso



4: -Accurato -Preciso



# Fase analitica: errori di un test

L'obiettivo finale di un test di laboratorio è misurare la presenza e la concentrazione di metaboliti di interesse, fornendo una stima del valore reale.

- L'**imprecisione** dei risultati di misurazioni ripetute sullo stesso campione, cioè l'errore casuale o accidentale, è rappresentata dallo scostamento del valore finale dalla media di diverse misurazioni effettuate sullo stesso campione. Non si conoscono le cause, ma si può individuare l'errore grazie a delle misurazioni ripetute.
- Un **errore sistematico**, invece, rappresenta la tendenza di un metodo analitico a sovrastimare o sottostimare il vero valore dell'analita. Questo tipo di errore ha delle cause ben definite, che possono essere legate al limite del metodo, quindi scarsa sensibilità/specificità dei reagenti utilizzati, o a una non corretta calibrazione. L'errore sistematico potrebbe portare all'inaccuratezza., ma si può individuare e controllare.
- Un **errore grossolano** infine viene commesso quando un metodo analitico non è applicato correttamente e può essere prevenuto grazie a una buona organizzazione del laboratorio, seguendo tutte le procedure operative standard e nel rispetto della buona pratica di laboratorio.



# Fase analitica: falsi positivi e falsi negativi

Un test diagnostico deve saper distinguere i soggetti affetti da una malattia rispetto ai soggetti sani e , a tale scopo, deve avere una sensibilità diagnostica e una specificità diagnostica.

Per **sensibilità diagnostica** si intende la probabilità che il test sia positivo, posto che l'individuo sia malato; rappresenta la proporzione di soggetti con la malattia che sono risultati positivi al test:

$$\text{sensibilità diagnostica} = \frac{\text{veri positivi}}{\text{totale dei malati}}$$

Per **specificità diagnostica** si intende la probabilità che il test sia negativo, posto che l'individuo sia sano; rappresenta la proporzione di soggetti senza la malattia che sono risultati negativi al test:

$$\text{specificità diagnostica} = \frac{\text{veri negativi}}{\text{totale non malati}}$$

# Fase analitica: falsi positivi e falsi negativi

Per conoscere il reale contributo diagnostico di un test di laboratorio, si utilizzano anche i parametri di predittività positiva e negativa.

Il **valore predittivo positivo** (VPP) si definisce come la probabilità che il soggetto sia malato qualora sia positivo al test; è un valore che indica quanti dei soggetti positivi al test sono realmente malati:

$$\text{VPP} = \frac{\text{veri positivi}}{\text{totale positivi al test}}$$

Il **valore predittivo negativo** (VPN) si definisce come la probabilità che il soggetto sia sano qualora sia negativo al test; è un valore che indica quanti dei soggetti negativi al test sono realmente sani:

$$\text{VPN} = \frac{\text{veri negativi}}{\text{totale negativi al test}}$$

# Fase post-analitica

La fase post-analitica consiste nella preparazione e nella trasmissione del referto, documento ufficiale preparato in laboratorio e firmato dal direttore. Il sistema automatizzato in questa fase rappresenta un vantaggio perché permette di trasmettere con alta velocità un gran numero di dati.

I referti dei pazienti ricoverati sono inviati ai reparti sia in forma cartacea sia con accesso diretto al sistema informatico del laboratorio (LIS, Laboratory Information System).

Si definisce **TFR** (*Time to first result*) il tempo trascorso tra l'immissione del campione nel sistema analitico e la disponibilità del primo risultato sul LIS; mentre si definisce **TPT** (*Throughput Time*) la velocità analitica di un sistema in termini di percentuale di test refertati nell'unità di tempo. Infine con **TAT** (*Turn Around Time*) si intende il tempo che intercorre tra il momento in cui campione giunge in laboratorio e l'emissione del referto validato e utilizzabile ai fini clinici.

AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA - FEDERICO II			
DIPARTIMENTO ASSISTENZIALE DI MEDICINA DI LABORATORIO (DAsMeLab)			
Sig.:	<input type="text"/>	Reparto:	<input type="text"/>
Sesso:	F	N° CC:	
Data di Nascita:	<input type="text"/>	li 02/11/2005	n° accett. 1335
Luogo di Nascita:			
Esami	Risultati	U.Misura	Valori di riferimento
SODIO (Na+)	139	mmol/L	135 - 148
POTASSIO (K+)	4,6	mmol/L	3.5 - 5.3
CALCIO (Ca Tot)	9,5	mg/dl	8.9 - 10.3
FOSFORO (P)	4,2	mg/dL	3.0 - 4.5
FERRO (Fe)	136	µg/dl	45 - 150
FERRITINA	31	ng/mL	5 - 150
UREA	30	mg/dL	18 - 53
GLUCOSIO (GLU)	94	mg/dL	60 - 110
CREATININA (CREA)	0,7	mg/dL	0.5 - 1.2
PROTEINE TOTALI (PT)	7,8	g/dL	6.5 - 8.2
ALBUMINA (ALB)	4,4	g/dL	3.6 - 5.2
ACIDO URICO (UA)	* 2,0	mg/dL	2.4 - 5.7
BILIRUBINEMIA TOTALE	0,32	mg/dL	0.2 - 1.1
COLESTEROLO TOTALE (COL)	180	mg/dL	fino a 190 (valori decisionali)
TRIGLICERIDI (TRIG)	78	mg/dL	fino a 180 (valori desiderabili)
HDL COLESTEROLO (Col HDL)	75	mg/dL	> 45
LDL COLESTEROLO (Col LDL)	97	mg/dl	< 130
AST	17	U/L	<35
ALT	13	U/L	<35
ALP	* 33	U/L	35 - 104
GGT	8	U/L	5 - 36
LDH	278	U/L	227 - 450
C H E	6540	U/L	5400 - 11500
C K	96	U/l	0 - 140
AMS	115	U/L	28 - 100

# Fase post-analitica

Un secondo aspetto importante della fase post analitica è il destino del campione analizzato. Generalmente, al termine delle analisi, il campione non viene smaltito subito perché in caso di risultati dubbi può essere richiesta una ripetizione della misurazione.; oppure si possono richiedere esami aggiuntivi per una corretta interpretazione dei risultati. Pertanto la fase post analitica prevede:

- **Mappatura**, durante la quale il campione viene siglato per essere identificato tra i campioni già analizzati;
- Inserimento del campione nell'**archivio**, al fine di ripetere le analisi già effettuate o per un completamento diagnostico;
- **Conservazione** che avviene a temperature basse a seconda del tipo di campione.

# Variabilità Totale

Il dato finale può essere influenzato da numerosi fattori, alcuni legati al paziente, altri alla gestione del campione, altri ancora ai metodi di analisi

