

BIOCHIMICA CLINICA

Prende in esame qualunque materiale biologico facilmente disponibile per la misura di sostanze o proprietà che possono presentare qualche interesse al fine di prevenire, diagnosticare o curare uno stato di malattia nell'individuo.

qStretto rapporto con la Biochimica che ha lo scopo di descrivere e ricavare comportamenti e leggi che siano validi in generale.

qLa Biochimica clinica è interessata allo studio del singolo individuo ed utilizza la misura della eventuali alterazioni riscontrabili nei materiali biologici per fornire prove a favore o contro l'ipotesi diagnostica che è stata formulata.

Finalità del laboratorio di biochimica clinica:

- Diagnosi e prevenzione di malattie su base biochimica
- Classificazione e caratterizzazione fisiopatologica di malattie
- Controllo del dosaggio di farmaci per eventuale aggiustamento della posologia
- Determinazione del rischio lavorativo o di abuso di sostanze (tossicologia)
- Raccolta dati per analisi statistiche e/o epidemiologiche

- Procedimento volto ad evidenziare la presenza o a misurare la quantità di un parametro (analita/costituente) biochimico in un campione biologico.
- q Qualitativo
- q Semi-quantitativo q Quantitativo

Le metodiche diagnostiche possono essere distinte in:

qIn vivo: eseguite su tessuto vivente all'interno dell'organismo (spettroscopia di risonanza magnetica)

qEx vivo: eseguite su tessuto vivente all'esterno dell'organismo (sangue, urine, feci, ecc..)

Caratteristica che può essere misurata oggettivamente e che funge da indicatore di un normale processo biologico, di un processo patologico o della risposta alla terapia"

NIH Biomarkers Definitions Working Group

qI biomarcatori sono utili soprattutto nella prevenzione e diagnosi precoce di malattia e nel monitorare l'efficacia delle terapie.

I biomarcatori possono essere distinti in Ø Pre-clinici

Ø Clinici v In vivo

v Ex vivo

o Clinici

o Molecolari o Di imaging

Caratteristiche di un biomarcatore ideale:

q Facile reperibilità e scarsa invasività q Basso costo

q Specificità e sensibilità

q Riproducibilità

q Possibilmente correlato fisiopatologicamente alla malattia in esame

Gli esami di laboratorio vengono condotti su liquidi o tessuti biologici prelevati dal paziente a campioni biologici, o matrici (sistemi dai quali ricavare informazioni)

q I campioni più frequentemente utilizzati per le indagini biochimiche sono i campioni di sangue e urine.

La Medicina di Laboratorio di può suddividere, dal punto di vista organizzativo, in:

qAnatomia patologica qBiochimica clinica qMicrobiologia clinica qPatologia clinica

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

Appropriatezza in medicina

Qualsiasi intervento correlato al bisogno del paziente o della collettività, fornito nei modi e nei tempi adeguati, sulla base di standard riconosciuti, con un bilancio positivo tra benefici, rischi e costi.

q Nel contesto della medicina di laboratorio

Appropriatezza prescrittiva: l'informazione del laboratorio clinico nasce dall'appropriatezza della richiesta e assume valore se è in grado di influenzare il processo decisionale clinico e gli esiti di salute del paziente (outcome).

q Stima: tasso di sottoutilizzo degli esami di laboratorio 44.8% e sovrautilizzo del 20.6% (circolo vizioso di un esame «mal chiesto»)

EBM

Si basa sulla revisione sistematica delle evidenze scientifiche su una specifica situazione clinica in relazione alla sua diagnosi, monitoraggio e trattamento al fine di garantire decisioni accurate riguardo la cura dei pazienti, riconoscendo però la necessità di integrare le evidenze con la competenza clinica.

Strumenti identificati per promuovere l'appropriatezza:

§ Linee guida

§ Percorsi diagnostico-terapeutici

§ Procedure e protocolli operativi condivisi dalle società scientifiche § Livelli essenziali di assistenza

I protocolli sono un altro strumento utile per il trasferimento di conoscenze.

q Si tratta di documenti vincolanti nei quali si formalizza la sequenza delle azioni che devono essere eseguite per conseguire un obiettivo descrivendo quindi uno schema di comportamento diagnostico e terapeutico predefinito.

LEA

Livelli essenziali di assistenza

q Sono costituiti dall'insieme delle attività, dei servizi e delle prestazioni che il Servizio Sanitario Nazionale eroga a tutti i cittadini gratuitamente o con il pagamento di un ticket, indipendentemente dal reddito e dal luogo di residenza.

q Definizione dei LEA è un tema di grande attualità di politica sanitaria, rappresenta infatti il tentativo da parte del decisore politico, congiuntamente con esperti del settore, di soddisfare le esigenze sanitarie del territorio secondo la rigorosa applicazione dell'appropriatezza.

Il processo diagnostico

q La National Academy of Medicine ha prodotto una recente concettualizzazione del processo diagnostico.

q Superamento dell'enfasi su schemi classificativi e di categorizzazione.

q Il processo diagnostico è un'attività complessa, collaborativa e centrata sul paziente, che coinvolge la raccolta delle informazioni e il ragionamento clinico con l'obiettivo di comprendere il problema di salute del paziente

Processo ciclico di raccolta, integrazione e interpretazione delle informazioni che porta a stabilire un'ipotesi di lavoro (diagnosi potenziali, man mano che il processo procede, la lista di diagnosi possibili si restringe, "modificazione e raffinamento diagnostico")

Esame diagnostico (di laboratorio, di immagine, ecc.) può identificare condizioni cliniche prima che diventino sintomatiche e diano segni visibili all'osservazione clinica e all'esame obiettivo.

q Modello brain-to-brain-loop (ciclo dell'esame di laboratorio)

Il processo diagnostico di laboratorio

- § Selezione e richiesta dell'esame
- § Identificazione del paziente
- § Raccolta del campione
- § Trasporto del campione
- § Preparazione del campione
- § Analisi del campione
- § Refertazione
- § Interpretazione dei risultati
- § Azione clinica

Tradizionalmente raggruppati in fase pre-analitica, analitica e post-analitica.

Recentemente ridefinite e ampliate:

q Fase iniziale, pre-pre-analitica: ancor prima che un campione biologico arrivi al laboratorio clinico

q Fase intra-analitica interna al laboratorio: predisposizione per le analisi

q Fase post-post-analitica: dal momento in cui il clinico e/o operatore sanitario prende in mano l'informazione di laboratorio, al momento in cui la stessa viene interpretata e utilizzata nel processo diagnostico terapeutico.

Centralità del paziente

q Fasi iniziali eseguite al di fuori del laboratorio, ma cruciali per la qualità dell'intero ciclo (appropriatezza richiesta, identificazione paziente e dei campioni biologici, qualità del prelievo e gestione iniziale dei campioni)

q Sviluppi tecnologici, informatizzazione dei processi

q Errore analitico molto ridotto, ma elevata vulnerabilità delle fasi iniziali e finali del ciclo

Informazione di laboratorio è risultato dell'insieme coordinato e integrato delle varie fasi che compongono il ciclo, e non si identifica soltanto con il momento "analitico"

q Campioni biologici "buoni" sono la premessa necessaria per risultati affidabili.

q Essenziale garantire la qualità delle fasi iniziali del ciclo, anche se eseguite da personale sanitario gerarchicamente non riconducibile alla responsabilità delle unità di medicina di laboratorio.

q L'importanza della qualità pre-analitica è stata recepita soprattutto dai ricercatori coinvolti nella problematica delle biobanche e delle raccolte di campioni biologici finalizzati a validare e sviluppare nuovi biomarcatori, mentre rimane pericolosamente sottovalutata nelle attività routinarie.

Indicatori di qualità e di esito

q Tuttavia, la magnitudo dell'errore analitico è di gran lunga inferiore al rischio per il paziente degli errori pre-analitici più gravi, quali l'errata identificazione di paziente e campioni biologici o del mancato riconoscimento di problematiche che dovrebbero portare a rigettare il campione stesso.

q Garanzia che tutte le fasi del ciclo siano eseguite seguendo rigorosamente procedure operative.

e fasi di un test di laboratorio

q FASE ANALITICA: procedure eseguite in laboratorio

q FASE POST-ANALITICA: procedure finali consistenti nella verifica dei risultati dell'analisi (laboratorio) e nel ricevimento ed interpretazione dei dati di laboratorio per la gestione del paziente (extra-laboratorio)

Si ritiene comunemente che gli errori di laboratorio siano più frequenti nella fase analitica, la fase di maggior complessità tecnica. In realtà, gli sviluppi della tecnologia e l'attenzione dedicata nei decenni dagli specialisti a controllare questa fase ne hanno notevolmente ridotto le variabilità.

q Nella fase analitica inoltre sono stati definiti obiettivi di qualità che sono costantemente monitorati attraverso i controlli di qualità, intra- e inter- laboratorio, che prevedono continui e immediati interventi di correzione.

q Nella fase pre-analitica si collocano oltre il 60% di tutti gli errori di laboratorio.

La fase pre-analitica comprende l'insieme delle procedure per ottenere dal paziente un campione di materiale rappresentativo utilizzato per effettuare la successiva analisi.

q Preparazione del paziente (deve essere correttamente informato) q Preparazione della sede del prelievo

q Procedura di raccolta e prelievo (volume del campione, idonei contenitori ed additivi)

q Etichettatura e codifica

q Trasporto intramurale o extramurale (contenitori, imballaggi, modalità

di spedizione e conservazione durante il trasporto) q Condizioni di conservazione del campione prima dell'analisi

Informazione al paziente sul tipo di esame richiesto e sulla finalità (in alcuni casi è necessario l'ottenimento del consenso informato scritto).

q Quali precauzioni deve seguire il paziente prima di eseguire l'esame di laboratorio per evitare che il risultato sia falsato da una preparazione non adeguata? Es.: digiuno, sospensione di farmaci interferenti

e pre-analitica: richiesta degli esami di laboratorio e notizie relative al paziente

q nome, cognome, età, sesso, provenienza

q prelievo basale o, in alternativa, prova da carico, prova funzionale, prova circadiana

q condizioni basali, eventuali assunzioni di farmaci

q sospetto diagnostico ed altre notizie cliniche

q data e ora del prelievo, indicazione dell'ultima mestruazione, settimana di gravidanza, etc.

Per le differenti tipologie di campione biologico sono anche indicati i tipi di provette, in genere identificate da tappi di colore diverso, sulle quali deve essere applicato con correttezza il codice a barre che identifica univocamente il paziente al quale è stato eseguito il prelievo.

q In ogni presidio, ospedaliero o territoriale, viene organizzata nel laboratorio una struttura di accettazione del campione biologico su cui eseguire gli esami ed il sistema di accettazione è informatizzato, ossia organizzato mediante sistemi di lettura ottica di schede, che consentono di identificare immediatamente il paziente, tramite un codice a barre.

Il laboratorio biomedico (storicamente e convenzionalmente noto con il termine di "laboratorio di analisi") ha il compito di eseguire indagini con metodi chimici, fisici o biologici su materiali provenienti dal corpo umano e produrre risultati analitici corredati da giudizi diagnostici.

q L'organico di base di un laboratorio di analisi pubblico è ovviamente dipendente dalle dimensioni (volume di esami), dalla collocazione nell'ambito del SSN e dalle finalità.

q Un laboratorio di piccole-medie dimensioni esegue prestazioni in molteplici settori (chimica clinica, ematologia, emostasi e coagulazione, immunologia, farmacologia, biologia molecolare, microbiologia e virologia,

autoimmunità), che prevedono il supporto di diverse figure professionali con competenze distinte, ma complementari tra loro.

Figure professionali che vi operano comprendono:

q Un direttore

q Un'equipe di dirigenti sanitari (medici, biologi, chimici, farmacisti, ecc.) q TSLB

q Personale ausiliario e amministrativo

q Può essere presente anche personale infermieristico, deputato all'esecuzione dei prelievi di materiale biologico.

Solo per direttore, dirigente sanitario e TSLB esiste un profilo professionale ben definito per legge relativamente alle funzioni svolte in laboratorio.

TSLB (tecnico sanitario di laboratorio biomedico)

Figura professionale del settore sanitario in possesso del diploma universitario abilitante, con mansioni finalizzate ad analisi e ricerca relativa ad analisi biomediche e biotecnologiche. Le attività sono svolte in autonomia tecnico-professionale.

Il tecnico sanitario di laboratorio biomedico è un operatore sanitario che svolge attività di analisi e di ricerca in campo medico- biologico.

La caratteristica che differenzia il TSLB dagli altri professionisti sanitari è il fatto che non si rapporta con il paziente e/o l'utente, ma esegue le analisi necessarie per una corretta diagnosi e la successiva somministrazione della terapia: è una figura fondamentale per la medicina di laboratorio che rimane «dietro le quinte».

E' inoltre responsabile, nelle strutture di laboratorio, del corretto adempimento delle procedure analitiche e del loro operato, nell'ambito delle loro funzioni in applicazione dei protocolli di lavoro.

attori del laboratorio biomedico

Strettamente dipendente da dimensioni collocazione e finalità, la strutturazione di un laboratorio analisi comprende una serie di "aree diagnostiche" più o meno omogenee, differenziate sulla base della matrice biologica o quella caratteristica delle tecniche analitiche e/o strumenti.

Classificazione (semplificativa) sulla base della matrice biologica:

- - Area siero e/o plasma
- - Area ematologica
- - Area coagulazione
- - Area urine e altri materiali

Classificazione (semplificativa) sulla base della delle attività, tecniche analitiche e/o strumenti utilizzati:

- - Area accettazione campioni
- - Area chimica clinica
- - Area immunochimica
- - Area esame emocromocitometrico
- - Area esami di coagulazione
- - Area esami urine standard
- - Area proteine
- - Area di tossicologia
- - Area di microbiologia
- - Area di immunoematologia
- - Area di biologia molecolare e/o citogenetica
- - Altre aree specifiche (es. Radioimmunologia, allergologia, autoimmunità, test funzionali..)

ori normali e di riferimento

q Per valore normale si intende il valore più frequentemente riscontrato negli individui «sani».

q Il concetto di «soggetto sano» non è trasferibile in un contesto clinico, ma si può dire che sano è un “soggetto senza malattia”.

q Fattori di variabilità del concetto di normalità sono molteplici: età, sesso, etnia, contesto sociale, abitudini di vita, ecc.

q Da qui deriva il postulato di R. Gräsbeck, che ha sostituito il concetto di «valore normale» con quello di «valore di riferimento», calcolato su una popolazione ristretta in termini di caratteristiche genetiche ed ambientali, definibili molto “omogenee”, ossia confrontabili con quelle del soggetto a cui il risultato di laboratorio si riferis

valori di riferimento

q Affinché il risultato di un esame di laboratorio possa avere un significato clinico, è necessario confrontarlo con quello ottenuto da una popolazione di soggetti con caratteristiche simili (ad es. il sesso e la fascia d'età) a quelle del paziente esaminato.

q Dovranno essere stabiliti dei valori al di fuori dei quali si presume vi sia un'anormalità, con un limite di errore accettabile.

q A differenza del termine «normale», il termine «valore di riferimento» ha una valenza relativa alla popolazione da cui il soggetto di studio proviene.

q L'intervallo dei valori di riferimento per un determinato analita è quindi l'insieme dei valori ottenuti con un determinato metodo su una popolazione sana e omogenea, rispetto al fattore di variabilità legata al paziente, che può influenzare quel determinato parametro.

I valori di riferimento vanno calcolati da ciascun laboratorio in relazione alla propria utenza ed alla propria strumentazione, ma, spesso, sono adottati i valori derivati dalla letteratura, che possono esporre a risultati non adeguati.

q Per procedere al calcolo dei propri valori di riferimento, è necessario adottare opportuni criteri di stratificazione della popolazione di riferimento in gruppi omogenei ed applicare criteri di esclusione nei confronti di portatori di patologie o di chi è in gravidanza o in trattamento farmacologico.

ESEMPI CRITERI DI INCLUSIONE

q Età

neonati

popolazione prepubere

popolazione adulta (postpubere e premenopausa)

popolazione anziana (donne postmenopausa uomini dopo 6^a decade)

q Genere

q Fattori genetici (etnia, gruppo sanguigno) q Fattori fisiologici (ciclo mestruale, gravidanza) q Altri fattori ambientali

ri di esclusione per lo studio di valori di riferimento associati ad uno stato di salute

q Stato fisiologico: gravidanza, esercizio fisico (atleti)

q Presenza di malattie

q Fattori di rischio: obesità, ipertensione, fattori di rischio lavorativi, fattori di rischio genetici

q Farmaci, alcool, tabacco, droghe

st diagnostico

Principi di interpretazione dei dati di laboratorio

q Accuratezza - quanto il valore fornito dall'analisi è prossimo al valore reale del parametro analizzato

q Precisione - riproducibilità di un test, ovvero quanto vicini fra loro sono valori ottenuti in ripetute determinazioni

Principi di interpretazione dei dati di laboratorio

q Accuratezza - quanto il valore fornito dall'analisi è prossimo al valore reale del parametro analizzato

q Precisione - riproducibilità di un test, ovvero quanto vicini fra loro sono valori ottenuti in ripetute determinazioni

q Sensibilità - capacità di individuare i soggetti portatori della malattia senza definire ammalati individui sani

q Specificità - capacità di un test di individuare tutti i soggetti malati senza definire sani soggetti malati

Sensibilità diagnostica (o clinica):

q Probabilità del test di dare un risultato positivo se il soggetto è malato e risponde alla domanda "quanti soggetti malati sono risultati positivi al test?"

q Percentuale di individui affetti dalla patologia in esame che risultano positivi al test (veri positivi, VP) rispetto a tutti gli individui affetti da quella patologia, siano essi positivi (veri positivi, VP) o negativi (falsi negativi, FN) al test

q La sensibilità di un marcatore dipende dalla sua capacità di identificare correttamente gli individui malati

q Rapporto tra veri positivi e tutti i malati

q Proporzioni di soggetti malati che risultano positivi al test $q \text{ VP/malati} = \text{VP}/(\text{VP} + \text{FN})$

i predittivi di un test

q Il valore predittivo di un esame di laboratorio tiene conto della presenza della malattia (prevalenza) nella popolazione.

q In generale maggiore è la prevalenza della malattia nella popolazione maggiore è il valore predittivo di un risultato positivo del test.

100 individui in cui dobbiamo escludere diabete mellito dosando la glicemia

q 20 di loro presentano valori di glicemia superiore alla soglia al nostro test

DIAGNOSTICA DI LABORATORIO DEI DISTURBI MUSCOLARI

Malattie neuromuscolari Classificazione

Gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da segni e sintomi legati a disfunzione di uno o più costituenti dell'unità motoria:

- Muscolo
- Placca o giunzione neuromuscolare
- Secondo neurone di moto (o motoneurone)

Gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da segni e sintomi legati a disfunzione di uno o più costituenti dell'unità motoria:

- Muscolo
- Placca o giunzione neuromuscolare
- Secondo neurone di moto (o motoneurone)
- MIOPATIE
- PATOLOGIE DELLA GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE ATROFIE MUSCOLARI NEUROGENE

MIOPATIE

Gruppo di patologie caratterizzate da alterazione primaria a livello del tessuto muscolare

- Distrofie
- Infiammatorie
- Tossiche
- Metaboliche

- Disendocrine
- Malattie neuromuscolari

PATOLOGIE DELLA GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE (SINDROMI MIASTENIFORMI)

Gruppo di patologie caratterizzate da disfunzione della sinapsi neuromuscolare

- ▪ Genetiche
Causate da mutazioni in geni legati alla trasmissione neuromuscolare
- ▪ Acquisite Autoimmuni
Paraneoplastiche Infettive

ATROFIE MUSCOLARI NEUROGENE

- Sclerosi laterale amiotrofica (SLA) ▪ Amiotrofie spinali ereditarie (SMA)

Patologia muscolare Quadro clinico

- ▪ Debolezza muscolare
- ▪ Facile "faticabilità"
- ▪ Dolori muscolari (mialgie)
- ▪ Crampi
- ▪ Disturbi della vista
- ▪ Disturbi nel parlare e nel deglutire
- ▪ Disturbi respiratori
- ▪ Emissione di urine color rosso-mattone (mioglobinuria)
- ▪ Deficit di forza
- ▪ Ipo/atrofia/pseudipertrofia muscolare (legata a sostituzione fibro-adiposa del tessuto muscolare)
- ▪ Dolorabilità/ alterata consistenza alla palpazione delle masse muscolari
- ▪ Marcia «anserina»

indagini di laboratorio nelle patologie muscolari

- Indagini di laboratorio: dosaggio creatinfosfochinasi (CPK), lattico deidrogenasi (LDH), aldolasi, mioglobina, dosaggio dell'acido lattico (ischemico ed aerobico); funzionalità tiroidea (TSH, fT3, fT4), assetto fosfo- calcico ed elettroliti plasmatici (Ca, Mg, P, K, Na, PTH), glicemia e emoglobina glicata, funzionalità renale (creatininemia, azotemia), autoanticorpi, ..
- Indagini neurofisiologiche: elettromiografia (EMG), potenziali evocati
- RM muscolare/Spettroscopia RM muscolare
- Biopsia muscolare: indagine istologica, istochimica, immunoistochimica, ultrastrutturale (microscopia elettronica)
- Diagnosi molecolare (es: distrofie muscolari)

esami di laboratorio delle patologie muscolari: dosaggio enzimi muscolari

- Dosaggio ematico di marcatori di danno della fibra muscolare causato da: ▪ Necrosi cellulare
- Alterazione della permeabilità di membrana muscolare

ENZIMI MUSCOLARI:

- Creatinfosfochinasi (CPK),
- Lattico deidrogenasi (LDH),
- Aldolasi
- Aspartato Amino-Transferasi (AST o GOT) ▪ Alanina Amino-Transferasi (ALT o GPT)
- ALTRI MARCATORI DI DANNO MUSCOLARE: ▪ Mioglobina (sierica e urinaria)
- Acido lattico (ischemico ed aerobico)

- Indicatori aspecifici di danno muscolare
- L'entità dell'aumento correla con il grado di danno
- Non fornisce elementi sulla sede del danno muscolare

fase pre-analitica

- Il prelievo deve essere effettuato:
 - Dopo "periodo" di riposo
 - A digiuno da almeno 10-12 ore.
 - Dopo sospensione di farmaci interferenti.
- Il prelievo può essere effettuato (es. lattato, ammonio sierico):
 - In condizioni basali
 - Durante esercizio muscolare (cicloergometro)
 - Durante recupero muscolare

dosaggio enzimi muscolari

CREATIN-FOSFOCHINASI (CPK)

- Enzima citoplasmatico.

Dimero, costituito da due subunità (M e B).

- Tre forme isoenzimatiche:
 - MM(>94-96%) prevalentemente nel tessuto muscolare striato scheletrico
 - MB (<4-6%) prevalentemente cardiaca (↑ in infarto del miocardio)

- BB prevalentemente cerebrale

- Catalizza il trasferimento del fosfato da fosfocreatina ad ADP, con formazione di ATP e creatina (reazione reversibile).

La fosfocreatina è particolarmente importante nel tessuto muscolare, quale riserva energetica di pronto utilizzo.

Marcatore di danno muscolare più sensibile.

- Aumenta dopo sforzo muscolare, in misura dipendente dalla intensità e dal grado di allenamento dell'individuo.
- Variabilità biologica di incremento di CPK:
 - Maggiore massa muscolare
 - Sesso maschile vs. femminile
 - Razza afro-americana

LATTICO DEIDROGENASI (LDH)

- Enzima della glicolisi, che catalizza la trasformazione reversibile del piruvato, in presenza di NADH, in acido lattico.

- Presente nella maggior parte dei tessuti, tra cui:
 - Miocardio

- Eritrociti
- Rene
- Fegato
- Muscolo scheletrico

- CAUSE DI AUMENTO DEL LIVELLO PLASMATICO

- distrofie congenite
- miopatie infiammatorie
- miopatie metaboliche
- miopatie tossiche
- infarto del miocardio
- anemie emolitiche
- leucemia
- malattie epatiche

ALDOLASI

- Enzima glicolitico, catalizza la trasformazione del fruttosio-1-6-difosfato in due molecole di triosi (gliceraldeide-3-fosfato e diidrossiacetonefosfato).

- Presente nel muscolo scheletrico, cervello, fegato e muscolo cardiaco.
- Isoenzimi:
 - forma A: prevalente nel muscolo scheletrico
 - forma B: prevalente nel fegato
 - forma C: prevalente nel cervello

TRANSAMINASI

- Sono enzimi ubiquitari implicati nel metabolismo degli aminoacidi
- Si trovano concentrati prevalentemente nel fegato e nel muscolo scheletrico
- AspartatoAmino-Transferasi (AST o GOT)
- Alanina Amino-Transferasi (ALT o GPT)

MIOGLOBINA

- Proteina con funzione di trasporto dell'ossigeno nelle cellule muscolari.
- Dosata su siero/plasma, urine.
- MIOGLOBINURIA: condizione in cui la mioglobina si trova in eccesso nelle urine, determinando un caratteristico colore rosso-brunastro.

PRINCIPALI indagini strumentali nelle miopatie

- Elettromiografia
- Biopsia Muscolare
- TAC, Risonanza Magnetica muscolare

Elettromiografia

- Indagine in vivo, invasiva, effettuata senza anestesia
- Attraverso elettrodi di superficie o ago-elettrodi permette di studiare l'attività del nervo e del muscolo
- Registra:
 - la conduzione nervosa (motoria e sensitiva).
 - l'attività muscolare a riposo e durante una contrazione volontaria

Biopsia del muscolo scheletrico

- Metodica ex vivo, invasiva, eseguita in genere in anestesia locale
- Sede del prelievo: identificata sulla base della storia clinica, esame obiettivo (muscolo affetto, ma non gravemente, per evitare di osservare alterazioni di stadio avanzato di malattia).
- Indagini:
 - Istologiche
 - Istochimiche
 - Immunoistochimiche
 - Ultrastrutturali (microscopia elettronica)

DIAGNOSTICA MOLECOLARE IN VIVO

RM nella diagnosi delle malattie neurologiche

Si distinguono metodiche di RM

- CONVENZIONALI
- AVANZATE
- Spettroscopia di RM (MRS)
- RM funzionale (fMRI)
- Analisi di diffusione (DWI e DTI)

Le patologie per le quali nel mondo è richiesta più frequentemente un'indagine RM convenzionale sono:

- Patologia cerebro-vascolari
- Malattie demielinizzanti (sclerosi multipla, SM)
- Patologia neoplastica

Risonanza Magnetica (MRS)

- Metodologia avanzata di biochimica clinica in vivo non invasiva che permette la caratterizzazione biochimica e la valutazione del metabolismo di un tessuto/organo quantificando i metaboliti tessuto-specifici
- Si basa sui principi fisici della risonanza magnetica nucleare
- MRS viene eseguita utilizzando la stessa apparecchiatura della RM convenzionale aggiungendo alcuni passaggi nell'acquisizione e nell'analisi dei dati (procedura non percepita dal paziente)
- Non è richiesto alcun mezzo di contrasto
- Per essere eseguita lo scanner di RM deve avere una potenza di campo di almeno 1,5 T

Tessuti indagabili:

- Encefalo
- Muscolo scheletrico
- (Muscolo cardiaco: per ricerca clinica) Prostata

Preparazione del paziente all'esame RM

- Non è previsto mdc
- E' prevista una sedazione o anestesia generale nel caso di pazienti NON collaboranti, con supporto anestesiológico durante l'esecuzione dell'esame RM, per il controllo delle funzioni vitali.
- Il regime farmacológico non interferisce con l'esecuzione dell'esame RM convenzionale
- Cause di non collaborazione:
 - età (neonati, bambini)
 - claustrofobia
 - ritardo o deterioramento cognitivo: malattie neurodegenerative (demenza), encefalopatie
 - disordini del movimento

L'intervista deve essere precisa, puntuale, ripetuta

- Per stranieri eventuale richiesta di mediatori culturali.
- Anche chi entra nella sala RM come accompagnatore deve compilare il modulo RM, secondo la normativa internazionale per escludere controindicazioni anche in chi accompagna

RUOLO DEL PERSONALE INFERMIERISTICO IN UN CENTRO DI RM

- Accoglienza
- Identificazione
- Preparazione del paziente: comprende l'eliminazione degli oggetti personali e/o trucco non compatibili con RM, il corretto posizionamento del paziente e la fornitura di tappi per orecchie e di campanello (con cui il paziente può richiedere assistenza)

DIAGNOSTICA DI LABORATORIO DEL LIQUIDO CEFALORACHIDIANO

Il liquido cefalorachidiano (o liquor o CSF dall'acronimo inglese) è un fluido che permea il sistema nervoso centrale (SNC = encefalo e midollo spinale).

- A causa delle sue molteplici funzioni, ha un ruolo fondamentale nel mantenere la funzionalità fisiologica del SNC

Funzioni:

- Supporto e protezione meccanici del SNC (i 1500 gr del cervello, composti per 80% da acqua, quando sospesi nel liquor pesano solo 50 gr)
- Regolazione della pressione intracranica.
- Regolazione dello scambio di sostanze nutritive tra sangue e cervello.

Trasporto di sostanze metabolicamente attive (releasing factors ipotalamici). Rimozione dei prodotti del catabolismo cerebrale (CO₂, lattato, idrogenioni). Mantenimento dell'omeostasi fra compartimento encefalico e plasmatico.

Alterazioni di

- costituzione
- pressione
- flusso

possono causare disfunzione del SNC.

Considerata la sua prossimità al tessuto nervoso, lo studio del liquor è parte fondamentale dell'iter diagnostico di molte malattie neurologiche

La dinamica liquorale dipende quindi dal bilancio tra • produzione

- circolazione
- riassorbimento

Nell'adulto il volume di liquor normalmente varia dai 125 ai 150 mL Mediamente vengono prodotti 20-25mL/ora di liquor

barriera ematoencefalica (BEE)

Rappresenta l'unità anatomico-funzionale adibita al controllo dell'ingresso di sostanze all'interno del sistema nervoso centrale

E' costituita dall'endotelio dei vasi sanguigni contenuti all'interno del SNC che è caratterizzato dall'assenza di fenestrature e dalla presenza di giunzioni serrate tra cellula e cellula che impediscono il passaggio di molecole idrofobe e/o di grandi dimensioni

Isola gli spazi liquorali dalla circolazione sistemica

Regola gli scambi di molecole e ioni fra sangue e liquor impedendo la libera diffusione di soluti

In condizioni patologiche (ad es. infezioni, malattie infiammatorie) la BEE si «altera» diventando più permeabile e lasciando di conseguenza passare più molecole dal circolo ematico al SNC

Fattori che alterano la permeabilità della barriera emato-encefalica

- Infiammazione, traumi, ischemia → entrata nel SNC di macromolecole (albumina, penicillina ecc.).
- Neovascolarizzazione → tumor

puntura lombare

Metodica invasiva con duplice finalità:

Diagnostica ex-vivo: prelievo di liquor attraverso l'accesso nello spazio subaracnoideo del midollo spinale

Terapeutica:

- Estrazione di liquor in caso di idrocefalo (aumento di liquido cefalorachidiano nelle cavità cerebrali)
- Iniezione intratecale di farmaci antitumorali o antibiotici
- Anestesia spinale ed epidurale

tura lombare diagnostica Ruolo dell'infermiere

PRIMA

Prima della PL è importante assicurarsi di aver effettuato prelievo di sangue venoso

DOPO

Dopo la PL è importante lasciare il paziente sdraiato, senza cuscino, per alcune ore per evitare la cefalea post-rachicentesi

- Controllare la sede: che non esca liquor o sangue, mantenere medicazione compressiva per 24 ore. Il dolore sordo e costante presente nella sede può durare giorni
- Assicurarsi che il paziente non presenti segni neurologici (cefalea, vomito, dolore e formicolio alle gambe)

Necessario prima di eseguire la procedura

Il paziente deve essere informato in particolare su:

- Motivo dell'esecuzione
- Possibili disagi che possa avvertire durante l'esecuzione (ad es. dolore locale o irradiato alle radici lombosacrali durante inserimento dell'ago)
- Possibili complicanze dell'esame e comportamenti da adottare una volta conclusosi il prelievo

meningiti, meningoencefaliti, encefaliti, mieliti

- emorragia subaracnoidea
- tumori
- encefalomieliti demielinizzanti (sclerosi multipla)
- malattie infiammatorie/autoimmuni sistemiche o metaboliche, che colpiscono anche il sistema nervoso centrale
- blocco del flusso liquorale (ad es. da tumori)
- malattie neurodegenerative (malattie da prioni; m. di Alzheimer)
- URGENTE: in caso di sospette
 - Infezioni del SNC (meningite, encefalite,...)
 - Emorragie subaracnoidee con TC encefalo negativa
- NON URGENTE (IN ELEZIONE): per tutte le altre indicazioni

MATERIALE

- Campo sterile: telino, guanti, disinfettante, Anestetico locale per la sede di prelievo Manometro
- Ago di Quincke
 - Provette per raccolta del liquor
 - Contenitore rifiuti contaminati e taglienti

POSIZIONE PAZIENTE

In genere seduto con rachide iperflesso in avanti (si usa tipicamente un cuscino) in modo da allargare gli spazi tra le vertebre e facilitare entrata dell'ago

- In altri casi in decubito laterale
- L'infermiere spiega al paziente la procedura di posizionamento e lo aiuta nel mantenerla (in genere è richiesta la presenza di almeno 3 operatori se possibile)

PREPARAZIONE CUTE

In genere seduto con rachide iperflesso in avanti (si usa tipicamente un cuscino) in modo da allargare gli spazi tra le vertebre e facilitare entrata dell'ago

- In altri casi in decubito laterale
- L'infermiere spiega al paziente la procedura di posizionamento e lo aiuta nel mantenerla (in genere è richiesta la presenza di almeno 3 operatori se possibile)

SEDE DEL PRELIEVO

A livello lombare ☞ spazio L4-L5 (o L3-L4) poiché a questo livello non vi è più midollo spinale (che termina ad L1-L2), repere: creste iliache.

La dura madre e l'aracnoide continuano in basso fino alla seconda vertebra sacrale, formando il "sacco" durale, che contiene il liquor e le radici della cauda equina.

ESECUZIONE

Una volta seguite le procedure preparatorie, si esegue il prelievo inserendo l'ago con un'inclinazione ad angolo acuto verso il basso (circa 15°, come a voler raggiungere l'ombelico del paziente) a livello L4-L5. Si superano i legamenti e poi la dura madre seguita da una zona a bassa resistenza che è lo spazio subaracnoideo (si riconosce tutto a "tatto")

VALUTAZIONE PRESSIONE LIQUORALE

La raccolta del liquor avviene per caduta spontanea (non si aspira mai; mai mettere siringa)

- La misurazione della pressione in uscita del liquor viene effettuata attraverso manometro raccordato con tubo flessibile all'ago; si misura in generale con paziente in decubito laterale
- Deve essere effettuata prima di prelevare il liquor

RACCOLTA CAMOUINE

Il liquor viene in genere raccolto in 3 provette di polipropilene con circa 2-5 mL di liquor ciascuna

- Le provette devono essere sterili e vanno richiuse con tappo subito dopo la raccolta del campione
- Sono provette che non contengono alcuna sostanza all'interno (anticoagulante o procoagulante) e vengono anche dette «secche»
- Numerare subito le provette
- Inviare immediatamente al laboratorio
- Se le provette devono essere analizzate da un ospedale di un altro laboratorio per analisi specifiche, la prima deve essere analizzata di base, le altre due conservate ed inviate

Complicanze

- Cefalea post-puntoria
- Dolore nel punto di prelievo e dolore radicolare Meningite
- Emorragie (ematoma midollare)
- erniazione cerebrale

Analisi del liquor

- MACROSCOPICA: ➤ Aspetto
 - Colore
- MICROSCOPICA
 - Cellule
- BIOCHIMICA ➤ Glucosio
 - Proteine
 - Acido lattico
- MICROBIOLOGICA
 - Ricerca di agenti patogeni

Analisi macroscopica

ASPETTO:

- NORMALE: limpido a tipo "acqua di roccia"
- PATOLOGICO: aspetto torbido
 - aumento del numero di cellule
 - microrganismi (batteri, funghi) ▪ aumento di proteine
 - coaguli di fibrin

COLORE

- NORMALE: incolore EMATICO (rosa-rosso)
 - ▪ puntura accidentale di un vaso intratecale (si osserva un decremento progressivo del numero delle emazie, e quindi del colore rosso, nella seconda e terza provetta e dopo centrifugazione si ottiene un sopranatante limpido e incolore ed un sedimento ematico)
 - ▪ emorragia subaracnoidea (sanguinamento massivo, rispetto a quello da PL traumatica; si manifesta con colore ematico di intensità uniforme nelle tre provette, e, dopo centrifugazione, rimane ematico anche il sovranatante)

- XANTOCROMICO (giallo): aspetto giallo del soprannatante del liquor dopo centrifugazione, dovuto alla presenza di globuli rossi lisati, che causano la liberazione di emoglobina, che viene degradata a bilirubina
 - emorragia subaracnoidea non recente
 - presenza di melanina (melanoma metastatico) o carotenoidi
 - aumento proteine del liquor (>150 mg/dl)

Analisi microscopica

- È l'analisi delle cellule presenti nel liquor (eritrociti e leucociti) In condizioni normali le cellule nel liquor sono pochissime
 - Un incremento delle cellule nel liquor si dice «pleiocitosi»
- (valori di riferimento nell'adulto: Eritrociti < 10/mm³; Leucociti < 5/mm³) (valori di riferimento nel neonato: Eritrociti < 650/mm³; Leucociti < 30/mm³)

Analisi morfologica delle cellule per valutazione di eventuali alterazioni suggestive di neoplasia

- Linfoblasti o mieloblasti in corso di leucemia
- Cellule tumorali in caso di metastasi o tumori primitivi

Analisi biochimica

- Si utilizza principalmente per il dosaggio di:
 - GLUCOSIO
 - PROTEINE
- Nel liquor è presente il glucosio (vn >45 mg/100ml)
- Le determinazioni sono effettuate su campioni appaiati di siero e di liquor Rapporto tra glucosio liquorale e plasmatico: 0.6
- Una riduzione della concentrazione di glucosio nel liquor è dovuta a:
 - Meningite batterica, tubercolare, fungina, amebica
 - Meningo-encefaliti virali (modesto calo)
- Un aumento della concentrazione del glucosio nel liquor è dovuta a
 - Diabete mellito

Il liquor contiene una quantità di proteine di circa 1000-2000 volte inferiore al sangue

- Valore di riferimento: 15-50 mg/dL
- 80%: di origine plasmatica, per un processo di filtrazione passiva dal sangue (es albumina prodotta dal fegato)
- 20%: di sintesi all'interno del cervello (es. immunoglobuline, che sono delle proteine con funzione di anticorpo)

L'albumina è una proteina sintetizzata dal fegato e non nel cervello.

- È in generale la proteina maggiormente presente nel sangue e viene in piccola quantità normalmente filtrata nel liquor.
- Se aumenta significa che la BEE è alterata.

Nel liquor compaiono frazioni di IgG, assenti nel siero.

- Le bande oligoclonali sono indicative della presenza di un piccolo numero di cloni di linfociti B attivati, ritenuti autoreattivi all'interno del SNC → patologia infiammatoria SN
- L'assenza delle bande nel siero indica una esclusiva sintesi anticorpale nel SNC.

Proteina 14-3-3

- Proteina implicata nella proliferazione e differenziazione cellulare, stabilizzazione nonché nella sintesi di neurotrasmettitori
- Permette di porre diagnosi di probabilità di malattia di Jacob-Creutzfeldt sporadica (malattia da Prioni).
- Può essere elevata anche in altre patologie neurologiche (encefaliti, ictus, ESA, ipossia cerebrale, tumori)

☐ Sensibilità: 85%; specificità: 70-90%.

ALTRI MARCATORI PROTEICI

☐ Malattia di Alzheimer: dosaggio proteina tau fosforilata e b-amiloide ☐ Narcolessia: dosaggio proteine orexine o "ipocretine"

VARIABILITA' DI UN TEST DIAGNOSTICO

La validità di un test di laboratorio può essere alterata dalla VARIABILITA'. q Si distingue in:
variabilità biologica: legata al paziente;

variabilità pre-analitica: legata a trattamenti pre-analitici impropri;

variabilità analitica: legata all'operatore che esegue l'analisi ed al metodo di analisi.

q Una maggior variabilità corrisponde ad una maggior difficoltà interpretativa dei risultati.

q Non è possibile eliminare la variabilità, si può solamente tentare di ridurla.

ARIABILI LEGATE AL PAZIENTE Ø VARIABILITA' BIOLOGICA

v INTRAINDIVIDUALE v INTERINDIVIDUALE

Ø VARIABILITA' PRE-PRE-ANALITICA

q VARIABILI LEGATE AL CAMPIONE (PRE-ANALITICA) q VARIABILI ANALITICHE

variabilità biologica

q Vi è poi una variabilità intrinseca dell'organismo, non controllabile o ulteriormente riducibile, espressione di fluttuazioni casuali intorno ad un punto omeostatico. VARIABILITA' BIOLOGICA INTRAINDIVIDUALE

q L'entità di questa variabilità dipende dalle condizioni fisiologiche che sono alla base del controllo della concentrazione di un determinato analita nel fluido biologico di interesse

La differenza tra i punti omeostatici di individui diversi viene invece definita VARIABILITA' BIOLOGICA INTERINDIVIDUALE e tipicamente è maggiore della variabilità intraindividuale.

q Variabilità dovuta alle diverse caratteristiche degli individui.

Variabilità pre-pre-analitica

q Attività e comportamenti di tipo fisiologico o para-fisiologico possono alterare le concentrazioni dei costituenti dei liquidi biologici.

§ Dieta, digiuno prolungato, pasto recente § Caffè

§ Fumo

§ Alcol etilico

§ Esercizio fisico

§ Farmaci

§ Stress psicologico

§ Postura al momento del prelievo o nei minuti precedenti

ità legata al campione

q Errore di identificazione del paziente o dei campioni

Il più pericoloso tra gli errori pre-analitici.

Rapporto ECRI (fondazione no-profit di consulenza per il miglioramento delle cure negli USA): oltre il 72% di questi errori avviene nel momento in cui si incontra il paziente e ben il 37% è associato a procedure diagnostiche.

Errore di tipo contenitore

Campioni di siero, o anticoagulati con eparina.

Provette primarie/secondarie, campioni miscelati, trasferiti o aggiunti da un tipo di provetta primaria a un altro.
Formazione del personale addetto al prelievo dei campioni biologici e la diffusione della conoscenza del rischio potenziale derivante dal mescolamento di campione da una provetta all'altra.

q Campione insufficiente

Problema che affligge soprattutto prelievi pediatrici

Difficoltà tecniche di prelievo

Importante che la criticità legata al volume del campione sia nota a prelevatori e prescrittori, limitare gli esami richiesti e dare una priorità di esecuzione.

q Campione coagulato

Campione di sangue raccolto in provetta con anticoagulanti che presenta micro o macro coaguli visibili, problema insormontabile nei conteggi cellulari o nei test coagulativi.

q Campione emolizzato

Presenza di concentrazioni di emoglobina libera nel siero o nel plasma >0.30 g/l.

Causa: rottura globuli rossi.

Prima causa di non accettabilità del campione nei laboratori clinici.

Intravascolare (anemia emolitica, $<2\%$) e extravascolare (problemi durante e dopo il prelievo).

q Campione lipemico

Campione torbido, tra le cause più frequenti di campione non idoneo in laboratorio. Elevate concentrazioni di lipidi generano interferenze di tipo ottico in numerose analisi. Generalmente la causa è un tempo troppo corto tra l'ultimo pasto o l'infusione di lipidi per via parenterale e il prelievo.

q Campione itterico

Elevate concentrazioni di bilirubina. Può interferire chimicamente nelle reazioni

analitiche, causando ad esempio sottostime delle misure. q Contaminazione da via di infusione

Raccogliere campioni di sangue da cateteri venosi periferici può essere spesso causa di emolisi ed è per questo una pratica sconsigliata. Se la via di infusione è utilizzata per infondere soluzione fisiologica, glucosata o altri liquidi il prelievo può risultare diluito o contaminato. In certi casi inevitabile, tecnica prevedere procedure di lavaggio e scarto della prima parte del campione raccolto.

lità analitica

qLa variabilità analitica è legata al metodo di analisi, alla modalità con cui si esegue la misura.

qL'attendibilità di un metodo analitico dipende da: accuratezza
precisione

qQuesti concetti si esprimono meglio al negativo, per cui l'inaccuratezza di un metodo riflette l'errore sistematico e l'imprecisione quello casuale.

atori di qualità e di esito

Tuttavia, l'entità dell'errore analitico è di gran lunga inferiore al rischio per il paziente degli errori pre-analitici più gravi, quali l'errata identificazione di paziente e campioni biologici o del mancato riconoscimento di problematiche che dovrebbero portare a rigettare il campione stesso.

Garanzia che tutte le fasi del ciclo siano eseguite seguendo rigorosamente procedure operative.

ESAMI di laboratorio

q Indicazioni cliniche e finalità diagnostiche q Controindicazioni

q Rischi per il paziente

q Modalità di prelievo

q Tipologie di analisi

q Tipicamente gli esami di biochimica clinica vengono eseguiti su campioni biologici prelevati dal paziente (ex vivo).

q Possono essere oggetto degli esami di laboratorio di biochimica clinica tutti i campioni biologici (fluidi, liquidi, frammenti biotici) purché siano rappresentativi dei sistemi da investigare.

q La scelta del campione biologico dipende dalle indagini da eseguire.

azioni cliniche alla richiesta di un esame

q Screening: valutazione di alterazioni biochimiche in fase pre-clinica

q Diagnosi: inquadramento della malattia

q Stadiazione: classificazione dello stadio di malattia

q Follow-up: controllo dell'evoluzione di malattia e degli effetti della terapia

q Dosaggio farmacologico: ottimizzazione del trattamento terapeutico, range terapeutico plasmatico di farmaci antiepilettici, anticoagulanti

RICSHI Per il paziente

q Effetti collaterali

Indica genericamente qualsiasi effetto non previsto o non desiderato (non necessariamente nocivo) legato al sottoporsi all'esame diagnostico

q Complicanze

Aggravamento delle condizioni di salute che rende più difficile l'esito positivo di una malattia o di un intervento chirurgico

oni biologici ex vivo

FLUIDI / LIQUIDI BIOLOGICI: •plasma

•urina

•feci

•liquido cerebro-spinale •liquido sinoviale •liquido amniotico •liquido seminale •succo gastrico

•succo duodenale

•liquido ascitico

•liquido pleurico

•liquido peritoneale

•liquido di lavaggio bronchiale •liquido di lavaggio intestinale

SECREZIONI:

•latte •lacrime •sudore •saliva

RELIEVI BIOPTICI:

•midollo osseo

•cute

•osso

•muscolo scheletrico •tiroide

•fegato •villi coriali

e analisi

Il medico ha la possibilità di richiedere molti diversi tipi di analisi, di diversa complessità, di diverso costo e di diverso significato.

q Analisi singole (test mirati)

q Profili metabolici/biochimici generali

q Prove di funzionalità dinamica

q Profili ad ampio raggio (raggruppamenti)

analisi singole

q Scopo: fornire una risposta ad una domanda clinica specifica q Vantaggi:

∅ può fornire gli elementi necessari per confermare o escludere una determinata diagnosi o per modificare un trattamento in atto

∅ può essere effettuata su di un campione singolo, e questo è positivo per il paziente, il laboratorio e il medico. q Svantaggi:

∅ sensibilità e specificità diagnostiche spesso scarse.

tipologie di analisi

q Macroscopiche q Microscopiche q Biochimiche
q Microbiologiche

q Eseguite in laboratorio

q Eseguite al letto del paziente

esami di laboratorio

Priorità con cui gli esami devono essere eseguiti e refertati

q Routine: sono esami che richiedono una refertazione solitamente nell'arco di alcune ore o anche di giorni

q Urgenza: sono esami che richiedono una refertazione accelerata (1-3 ore solitamente) sulla base delle condizioni cliniche del paziente (solitamente gravi) o per motivi di natura organizzativa (il paziente è in regime di day-hospital)

q Emergenza: sono tipicamente esami che devono essere refertati nel più breve tempo possibile a causa delle (gravissime) condizioni del paziente.

di screening

q Sono esami che rientrano nel contesto della prevenzione di una malattia.

q Hanno lo scopo di permettere una diagnosi precoce di malattia (negli stati sub-clinici) al fine di ridurre la morbilità e la mortalità.

q Sono indagini richieste in assenza di un sospetto clinico definito in soggetti asintomatici a rischio di sviluppare una determinata malattia.

q Non sempre un test di screening coincide con un test diagnostico (screening e diagnosi sono due concetti distinti!).

Negli screening, è necessario identificare tutti i soggetti affetti, anche se questo può significare un aumento di falsi positivi.

q Quindi, si usa un valore soglia basso, che permetta un forte aumento della sensibilità diagnostica.