

# Patologia molecolare



PW iscrizione per e-learning: Patmol23

## Valutazione del test sull'esperienza di laboratorio e dote punti

18 domande a risposta multipla.

Le domande a risposta multipla possono avere anche più di una risposta esatta. Ogni domanda vale 2 punti; se le risposte esatte sono più d'una, ogni risposta esatta vale una frazione di 2. Ad esempio, se le risposte corrette sono due, ogni risposta corretta varrà 1 punto; se le risposte corrette sono tre, ogni risposta corretta varrà 0,66 punti.

Le risposte sbagliate riceveranno punteggio negativo, che sarà al massimo -1 per domanda. Se le risposte sbagliate sono più di una, ogni risposta sbagliata vale una frazione di 1. Ad esempio se la domanda prevede due risposte e si sbaglia una delle risposte, si avranno 0,5 punti: 1 punto risposta corretta - 0,5 punti risposta sbagliata = 0,5 punti. Se la domanda prevede 3 risposte e si sbaglia una risposta su 3, si avranno:  $(0,66 + 0,66) - 0,33 = 0,99$ .

## Altre considerazioni

- le domande lasciate in bianco valgono zero punti fino ad un massimo di 3 domande. Ciò significa che se una persona dovesse lasciare in bianco più di 3 domande, queste verranno considerate come sbagliate e quindi sottratte dal punteggio finale;
- se una domanda dovesse prevedere due risposte e una persona dovesse segnare solo una delle due risposte corrette, il punteggio totale sarà di 1 punto perché la risposta omessa non viene contata come sbagliata;

La discussione del WB e dell'ELISA concorrerà alla dote come 19esima domanda (punteggio possibile: da 0 a +2)

Il punteggio finale verrà espresso in 30esimi e convertito in «punti dote».

$<18 = -1$

$18-22 = 0 \text{ pt}$

$23-26 = 1 \text{ pt}$

$27-30 = 2 \text{ pt}$

Se all'esame la valutazione è 30, con i due punti di dote si prende 30 e lode

## **PROGRAMMA DEL CORSO**

**Le basi molecolari delle malattie e la loro  
identificazione attraverso marcatori molecolari  
ed alterazioni di parametri fisiologici**

# CONTENUTI del CORSO

1. Principi di interpretazione dei test di laboratorio
2. Biomarcatori: concetti generali ed approfondimento sui marcatori tumorali

## *APPROCCI DIAGNOSTICI RELATIVI A*

3. Ematologia: malattie dei globuli rossi e leucemie
4. Rischio cardiovascolare
5. Il fegato
6. Il rene
7. Celiachia e ipersensibilità al glutine
8. Allergie

ITALO ANTONOZZI ELIO GULLETTA

*Medicina di*  
**LABORATORIO**

LOGICA &  
PATOLOGIA CLINICA

Seconda edizione



PICCIN

La diagnostica di laboratorio rappresenta una delle aree di maggiore sviluppo della medicina moderna.

I clinici utilizzano le analisi di laboratorio dal momento in cui il bambino è ancora nell'utero per predire future malattie fino a determinare, post-mortem, le possibili cause del decesso.



## LA MEDICINA DI LABORATORIO COMPRENDE PIU' DISCIPLINE SPECIALISTICHE

- 1) l'**EMATOLOGIA** (esame degli elementi figurati del sangue)
- 2) la **BIOCHIMICA CLINICA** (valutazione quantitativa di oltre 200 diverse sostanze nel siero e nei liquidi organici)
- 3) la **MEDICINA TRASFUSIONALE** (screening dei donatori, preparazione componenti ematiche, prove di compatibilità)
- 4) la **MICROBIOLOGIA CLINICA** (diagnostica batteriologica, micologica, virologica, parassitologica)
- 5) la **MICROSCOPIA CLINICA** (esame urine e fluidi organici)
- 6) la **DIAGNOSTICA IMMUNOLOGICA** (serie di tecniche di laboratorio che si basano sull'utilizzo di anticorpi; es. SAGGI ELISA)
- 7) l'**IMMUNOLOGIA** (valutazioni qualitative e quantitative dell'immunità cellulare e umorale)

# Significato della medicina di laboratorio

I laboratori per l'analisi su materiali derivati dall'organismo umano hanno il proposito di **fornire informazioni** per la **diagnosi**, la **prevenzione** e la **terapia** delle malattie, o **la valutazione dello stato di salute** degli esseri umani.

I campioni che il laboratorista è chiamato ad analizzare sono:

**Sangue** (sangue intero, plasma, siero)

**Urina**

**Feci**

**Liquido cerebrospinale**

**Liquido amniotico**

**Liquido seminale**

**Escreato**

**Succhi gastrici e duodenali**

**Liquidi cavitari**

**Frammenti di tessuto**

Queste informazioni devono essere esenti da errori, tempestive, di facile interpretazione ed utilizzazione nel processo diagnostico-terapeutico.

A fronte di una spesa che non supera il 3% del budget di un'istituzione sanitaria, le informazioni di laboratorio sono essenziali nel 60-70% delle decisioni cliniche (ricovero, dimissioni, cure).



ELEVATO VALORE INFORMATIVO vs BASSO  
COSTO PER IL SISTEMA SANITARIO  
NAZIONALE

## Tabella 2.3

### Le diverse tipologie di Laboratorio di analisi cliniche

Dipartimenti di emergenza, sale operatorie, strutture di terapia intensiva.

Completa informatizzazione; sono **certificati** (es: ISO 9001) in termini di corrispondenza del prodotto agli obiettivi analitici prefissati e di corrispondenza del processo agli standard predefiniti.

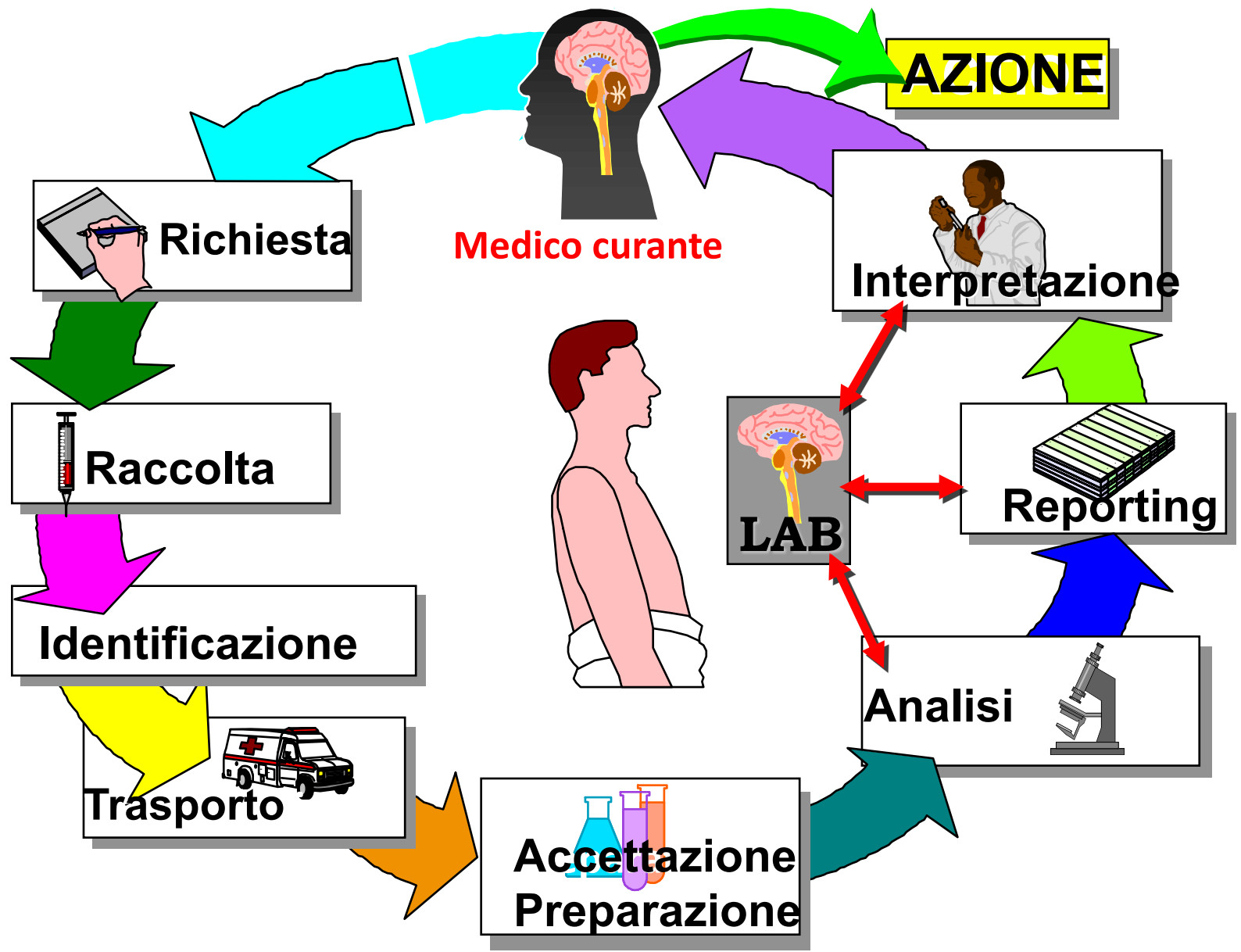
Forniscono prestazioni di alta specializzazione.

1. Laboratorio di reparto:	<i>Poche linee analitiche</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Test semiquantitativi manuali semplici</li><li>• Apparecchiature dedicate ad alta tecnologia</li><li>• Personale medico o infermieristico</li></ul>
2. Laboratorio generale:	<i>Numerose linee analitiche, automatizzate o manuali</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Test quantitativi</li><li>• <u>Apparecchiature automatizzate e pannelli analitici</u></li><li>• Personale biologo, medico, tecnico</li></ul>
3. Laboratorio specialistico:	<i>Linee analitiche dedicate (immunologia, endocrinologia etc.)</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Test quantitativi</li><li>• <u>Apparecchiature automatizzate</u></li><li>• Personale biologo, medico, tecnico</li></ul>

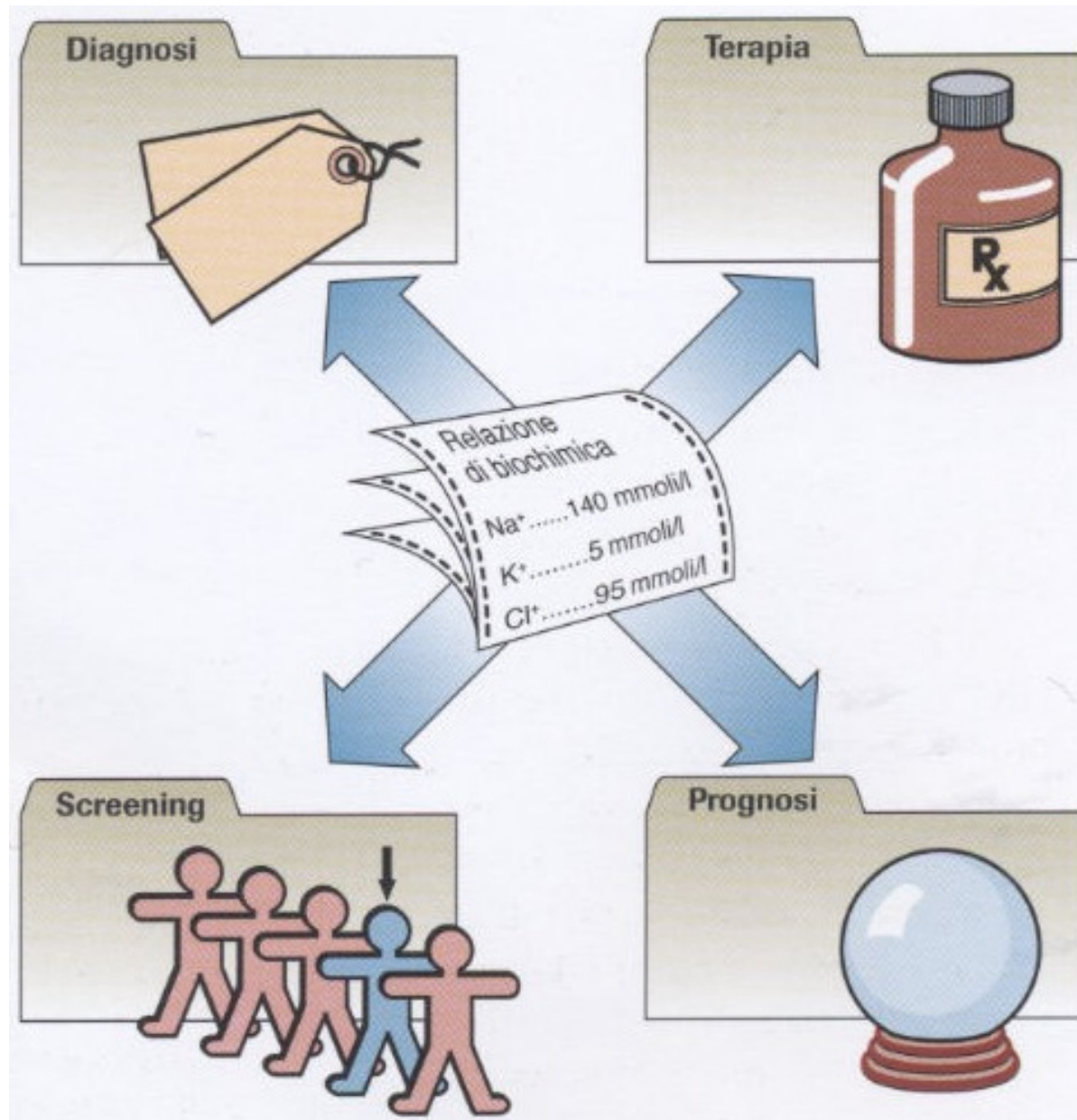
**2 e 3 sono i laboratori che maggiormente si avvalgono di tecnologie informatiche e dell'automazione**

**Più elevata è l'automazione minore è il contatto dell'operatore con il campione**

# PROCESSO TOTALE DELL'ANALISI DI LABORATORIO ("BRAIN-TO-BRAIN")



# Il dato di laboratorio: perchè?



# Motivazione delle richieste

- Valutazione dello stato di salute
- Screening
- **Diagnosi**: come conferma, esclusione o ricerca di uno stato fisiopatologico che comporti l'alterazione di uno o più analiti.
- Valutazione del **decorso** di una malattia e della **risposta** del paziente **alla terapia**, con conseguente **valutazione prognostica**.

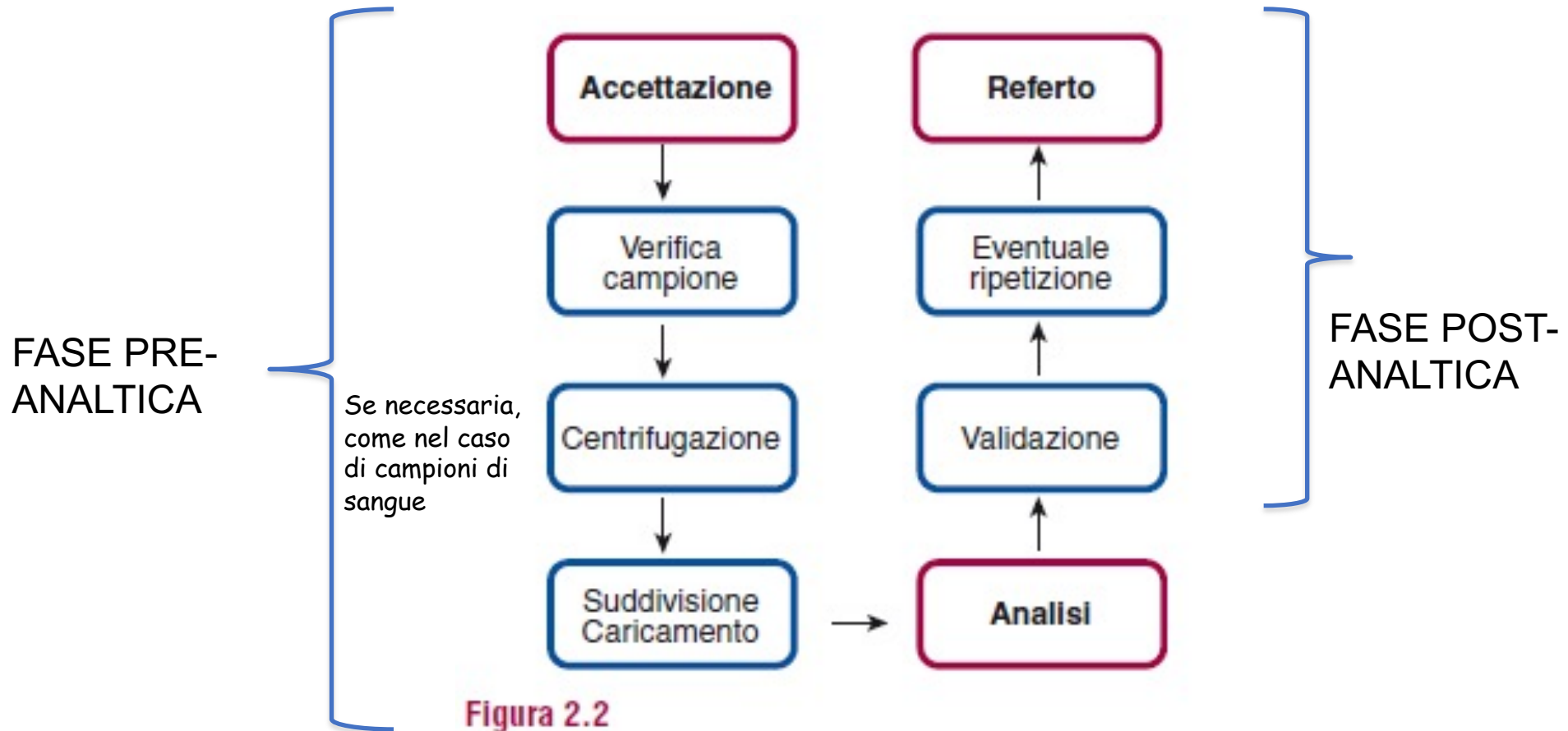
Spesso ci si imbatte in **richieste improprie** da parte del medico curante: 1) quelle fatte per **tranquillizzare il paziente** sul suo stato di salute; 2) quelle fatte **per non essere accusato** di non aver sottoposto un suo paziente ad un determinato esame che avrebbe potuto essere determinante per una corretta diagnosi.

**VANNO EVITATE**



Inutile pericolo (seppur minimo) per il paziente; costo inutile per l'individuo e per il sistema sanitario.





**Figura 2.2**

Il ciclo analitico. Sono indicate le diverse procedure che compongono il ciclo analitico: quelle "preanalitiche", ovvero la verifica del campione, la sua centrifugazione se necessaria, la sua suddivisione in aliquote e il caricamento sulla linea analitica. Dopo l'analisi sopravvengono le fasi della validazione del dato, della sua eventuale ripetizione e quindi la fase della refertazione. Il tempo che intercorre tra l'accettazione e la refertazione è il cosiddetto tempo di risposta (Turn Around Time, TAT).

Il TAT è la misura del livello di produttività temporale, rappresenta un benchmark della performance di un laboratorio

# IL REFERTO ANALITICO

## SI COMPONE DI 4 PARTI:

- 1. IDENTIFICAZIONE DEL CAMPIONE (indicazione del materiale di partenza su cui si esegue l'analisi)
- 2. ESAME ESEGUITO E RISULTATO (con indicazione anche della unità di misura)
- 3. VALORI DI RIFERIMENTO
- 4. RIFERIMENTI TECNICI E METODOLOGICI
- 5. Non sempre, ma può essere presente anche un COMMENTO INTERPRETATIVO o una CONCLUSIONE

Analisi	Risultati	U. M.	Valori di riferimento	
<b>ESAME EMOCROMOCITOMETRICO</b>				
Metodo: Citochimica				
Globuli bianchi (WBC)	5,69	10 <sup>3</sup> /μL	4,00 - 10,80	
Globuli rossi (RBC)	4,59	10 <sup>6</sup> /μL	4,00 - 5,20	
Emoglobina (Hgb)	135,0	g/L	120,0 - 160,0	
Ematocrito (Hct)	41,1	%	37,0 - 47,0	
Volume corpuscolare medio (MCV)	89,5	fL	82,0 - 99,0	
Emoglobina corpuscolare media Hgb (MCH)	29,4	pg	27,0 - 36,0	
Concentrazione media emoglobinica (MCHC)	328,6	g/L	320,0 - 370,0	
RDW (indice di anisocitosi)	13,0	%	12,0 - 17,0	
Piastrine (PLT)	228	10 <sup>3</sup> /μL	130 - 400	
<b>FORMULA LEUCOCITARIA</b>				
Granulociti Neutrofilii	30,1	%	40,0 - 74,0	*
Granulociti Eosinofili	2,3	%	0,0 - 8,0	
Granulociti Basofili	0,6	%	0,0 - 1,5	
Linfociti	62,2	%	20,0 - 45,0	*
Monociti	4,8	%	3,4 - 11,0	
Granulociti Neutrofilii	1,71	10 <sup>3</sup> μ/L	1,50 - 8,00	
Granulociti Eosinofili	0,13	10 <sup>3</sup> μ/L	0,00 - 0,80	
Granulociti Basofili	0,03	10 <sup>3</sup> μ/L	0,00 - 0,20	
Linfociti	3,54	10 <sup>3</sup> μ/L	0,90 - 4,00	
Monociti	0,27	10 <sup>3</sup> μ/L	0,20 - 1,00	
COMMENTO	Linfocitosi relativa composta da elementi di normale morfologia e dimensione			
<b>GLICEMIA</b>	81	mg/dl	60 - 100	
Metodo: ENZIMATICO COLORIMETRICO				
valori di riferimento:				
da 60 a 100 normale				
da 101 a 125 alterata glicemia a digiuno				
≥ 126 compatibile con diabete, da confermare.				
<b>CREATININA</b>	0,72	mg/dl	0,51 - 0,95	
Metodo: CINETICO COLORIMETRICO				
<b>VELOCITA' DI FILTRAZIONE GLOMERULARE</b>	99,52		>60 ml/min/1,73m2	
Metodo: Calcolo derivato				
Formula MDRD - Linee Guida NKDEP (National Kidney Disease Education Program)				
Osservazioni: l' e-GFR non è applicabile nelle donne in gravidanza, nei soggetti defedati e/o affetti da patologie multiple. Devono anche essere esclusi dal calcolo soggetti di età <18 anni e >85 anni. In questi casi, è necessario determinare la "clearance" della creatinina.				
<b>GOT (AST)</b>	19	U/l	< 35	
Metodo: IFCC 37° C				
<b>GPT (ALT)</b>	13	U/l	< 35	
Metodo: IFCC 37° C				
<b>GAMMA-GT</b>	10	U/l	< 38	
Metodo: IFCC 37° C				

Costituente

Risultato

Unita'

Int. di Riferimento

Ris. Prec.

## PROFILO PROTEICO E PROTEINE SPECIFICHE

### ELETTROFORESI DELLE PROTEINE PLASMATICHE

S-PROTEINE TOTALI	<b>73,5</b>	g/L	60,0 - 80,0
Rapporto ALBUMINA/GLOBULINE	<b>* 1,87</b>		1,24 - 1,85
ZONA ALBUMINICA	<b>* 65,10</b>	%	55,00 - 65,00
" ALFA 1	<b>3,90</b>	%	2,90 - 4,90
" ALFA 2	<b>9,20</b>	%	6,50 - 11,00
" BETA 1	<b>5,60</b>	%	4,70 - 7,20
" BETA 2	<b>4,90</b>	%	3,20 - 6,50
" GAMMA	<b>11,30</b>	%	11,00 - 18,60

Commento: *Tracciato elettroforetico nei limiti di norma; assenza di anomalie qualitative.*

P-FERRO errore totale $\leq 11,6\%$	<b>16,3</b>	umol/L	11,6 - 31,3
S-TRANSFERRINA	<b>2,61</b>	g/L	1,75 - 3,75
SATURAZIONE TRANSFERRINA	<b>24,88</b>	%	16,00 - 49,00

## PROFILO LIPIDICO

P-COLESTEROLO TOTALE	<b>5,79</b>	mmol/L	desiderabile: < 5,18
	<b>224</b>	mg/dL	borderline: 5,18 - 6,19
			elevato: > 6,19
P-HDL COLESTEROLO	<b>1,54</b>	mmol/L	desiderabile: > 1,04
	<b>59</b>	mg/dL	protettivo: > 1,55
P-TRIGLICERIDI	<b>0,82</b>	mmol/L	desiderabile: < 1,69
	<b>73</b>	mg/dL	



REGIONE DEL VENETO  
AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITÀ di PADOVA  
SERVIZIO MEDICINA DI LABORATORIO  
Direttore: Prof. Mario Plebani

Accreditato dal C.P.A. 41K  
SGQ ISO 9001:2000  
Certificato da CERTIQUALITY

Costituente	Risultato	Unita'	Int. di Riferimento
-------------	-----------	--------	---------------------

**DIAGNOSTICA IMMUNOLOGICA**

**GASTROPANEL**

S-GASTRINA 1-17	* 16,0	pmol/L	2,5 - 15,0
S-PEPSINOGENO A (I)	* 32,0	ug/L	50,0 - 150,0
ATTENZIONE: nuovi intervalli di riferimento dal 22/09/2004			
S-PEPSINOGENO C (II)	* 12,0	ug/L	2,0 - 10,0
ATTENZIONE: nuovi intervalli di riferimento dal 22/09/2004			

AB ANTI HELICOBACTER PYLORI  
-S-IgG

\* 127,0 U fino a 20

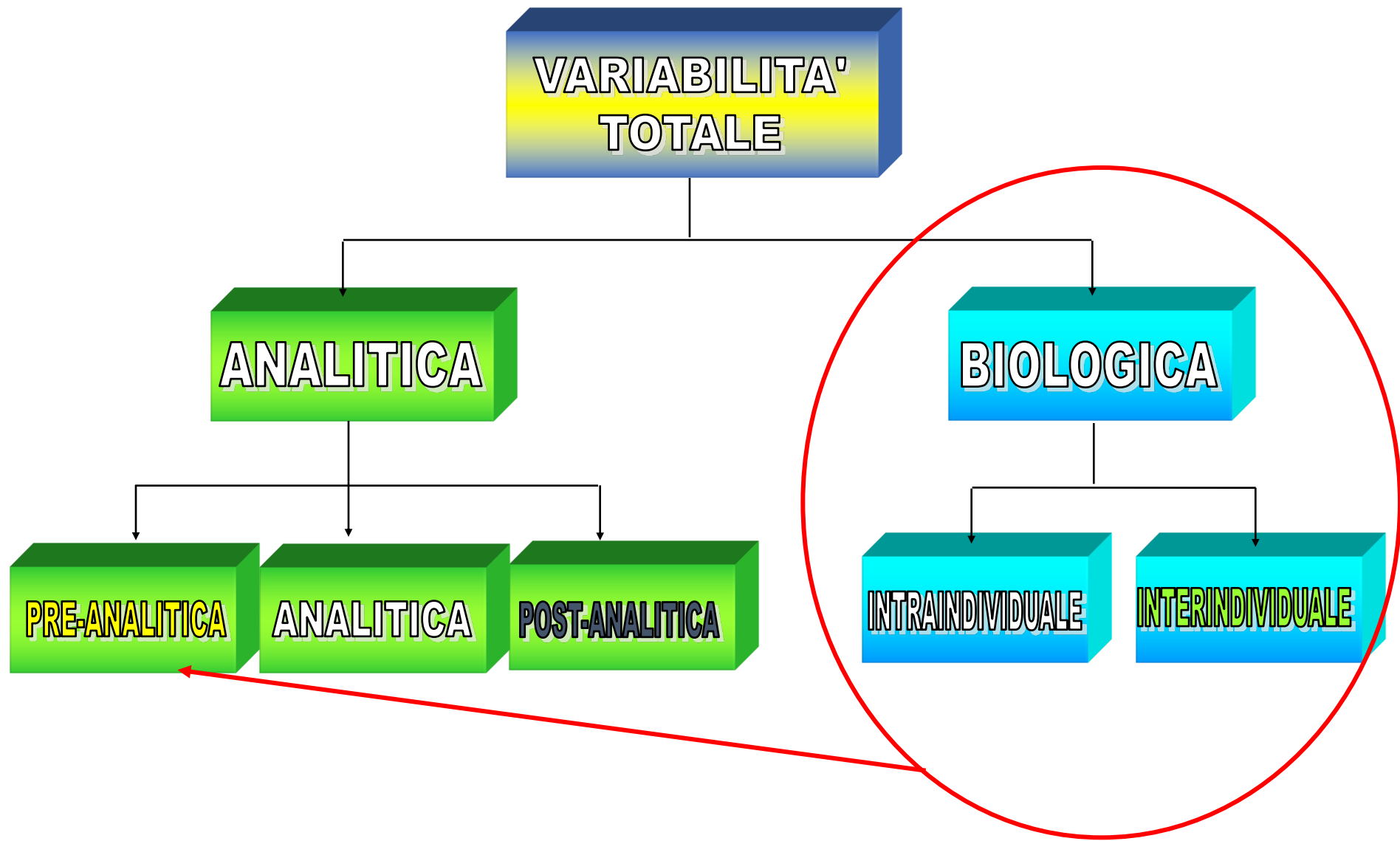
Interpretazione clinica

Probabile gastrite associata ad infezione da H. pylori. I bassi valori di pepsinogeno A sono compatibili con possibile lieve atrofia della mucosa gastrica. Si consiglia EGDS che il paziente puo' prenotare telefonando dal lunedì al venerdì dalle 8 alle 9 al numero 0498215610.



## LA VARIABILITA' DEGLI ESAMI DI LABORATORIO

LA VARIABILITA' E' UNO DEI PROBLEMI  
CENTRALI NELL'UTILIZZO DEI DATI DI  
LABORATORIO DA PARTE DEL CLINICO



## VARIABILITA' ANALITICA

E' legata alla precisione ed accuratezza delle analisi, quindi **dipende unicamente dalle prestazioni del laboratorio**: queste devono essere tali per cui se vengono eseguite **determinazioni multiple sullo stesso campione biologico**, le differenze che si riscontrano devono essere minime.

## VARIABILITA' POST-ANALITICA

E' legata ai processi che avvengono una volta ottenuti i **risultati analitici** e che consistono nella validazione, stesura del referto, firma dello stesso e sua trasmissione in tempi brevi. Questo tipo di variabilità si **è molto ridotta** grazie all'evoluzione dei sistemi informativi.

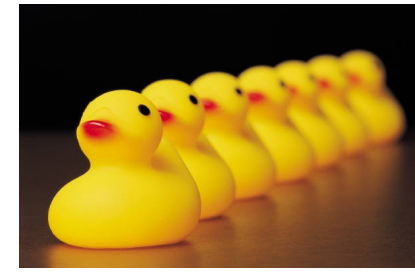


# VARIABILITA' PRE-ANALITICA: VARIABILITA' BIOLOGICA

Se si esegue una determinazione di un componente su **prelievi fatti in giorni diversi da uno stesso individuo**, si osserverà una **variabilità** di risultati maggiore rispetto a quella ottenuta da ripetute determinazioni dello stesso prelievo (imprecisione analitica). **Analogamente se lo stesso componente viene misurato in individui diversi.**

Questo è il risultato della variabilità biologica.

# Variabilità biologica



- La variabilità biologica è il risultato di diverse componenti:

individuali, etniche, ambientali, fisiologiche e patologiche.

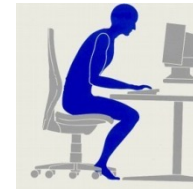
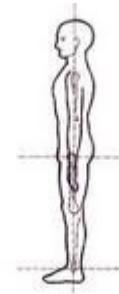
- La variabilità individuale dei parametri biochimici si suddivide in variabilità

-intra-individuale intesa come variazione nel tempo dei parametri nello stesso soggetto

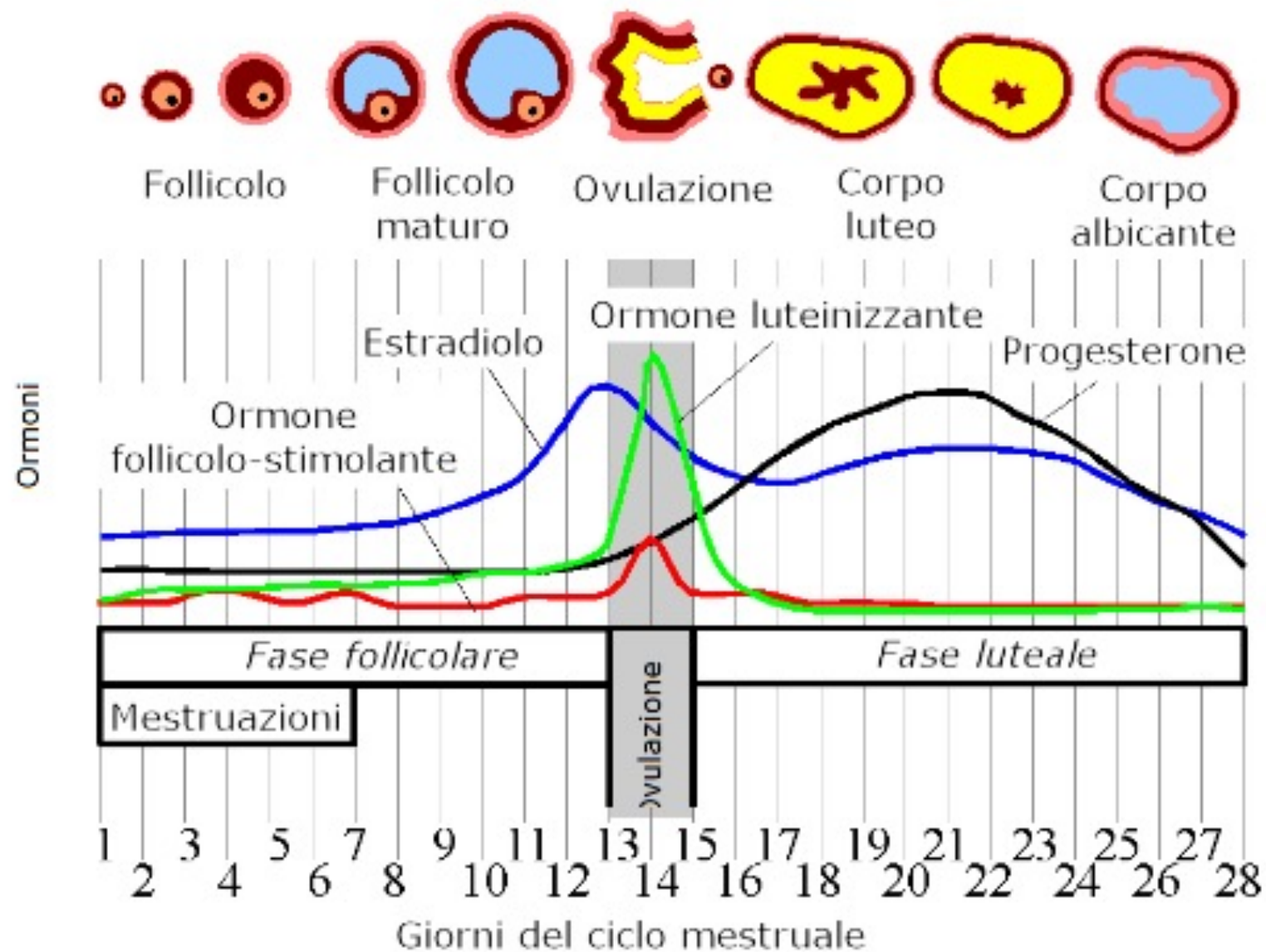
-inter-individuale, ovvero variazione dei parametri tra soggetti diversi.

# Le più importanti cause della variabilità biologica sono:

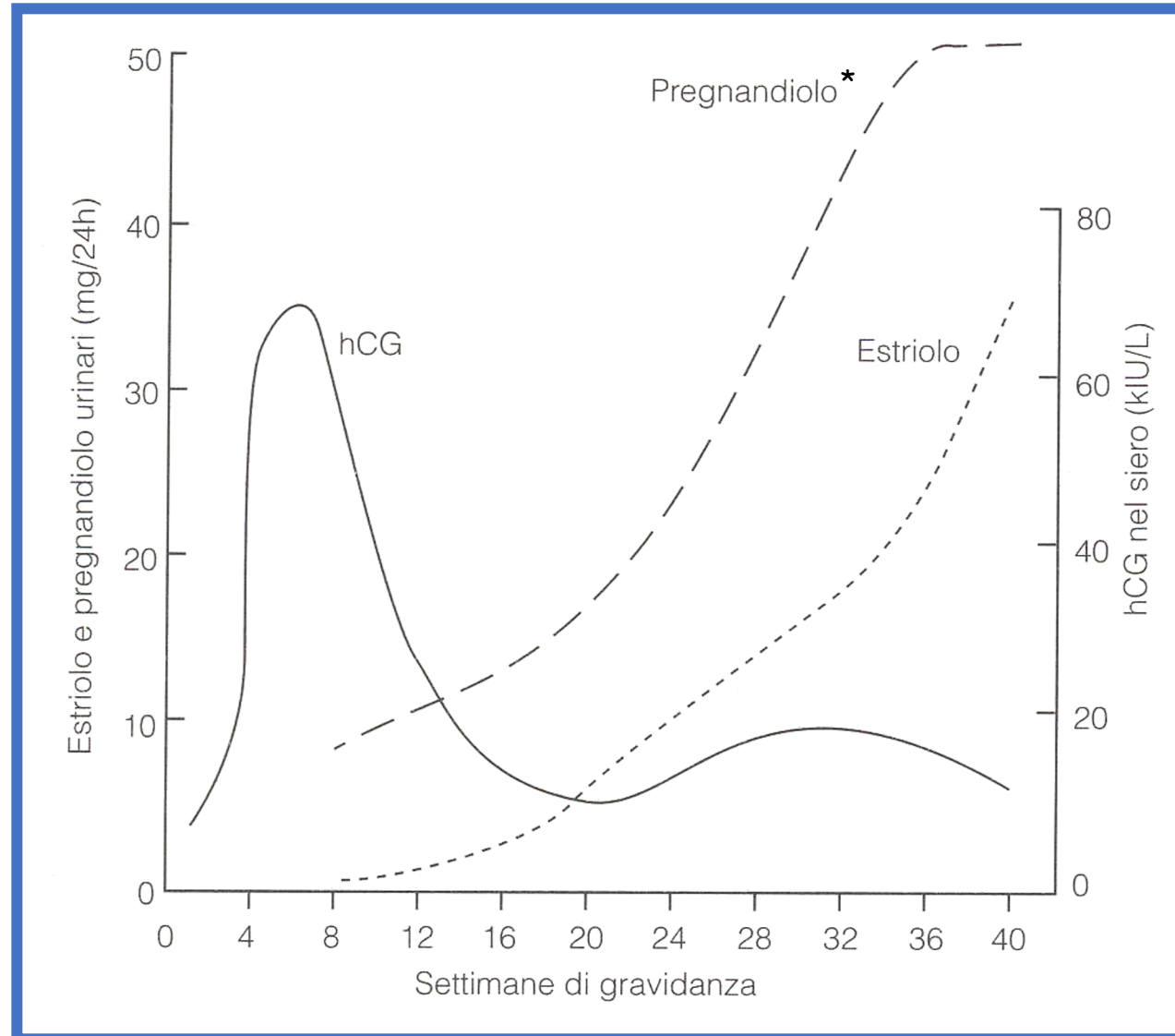
- Ritmi circadiani
- Ciclo mestruale
- Variazioni stagionali
- Età
- Dieta
- Gravidanza
- Sesso
- Gruppo etnico
- Massa corporea
- Tipo di attività lavorativa e classe sociale
- Localizzazione geografica
- Fumo di tabacco
- Ingestione recente di cibo
- Postura
- Disturbi del sonno, stati di ansia,
- Affaticamento fisico
- Immobilizzazione forzata



## VARIABILITA' BIOLOGICA IN UN CICLO MESTRUALE

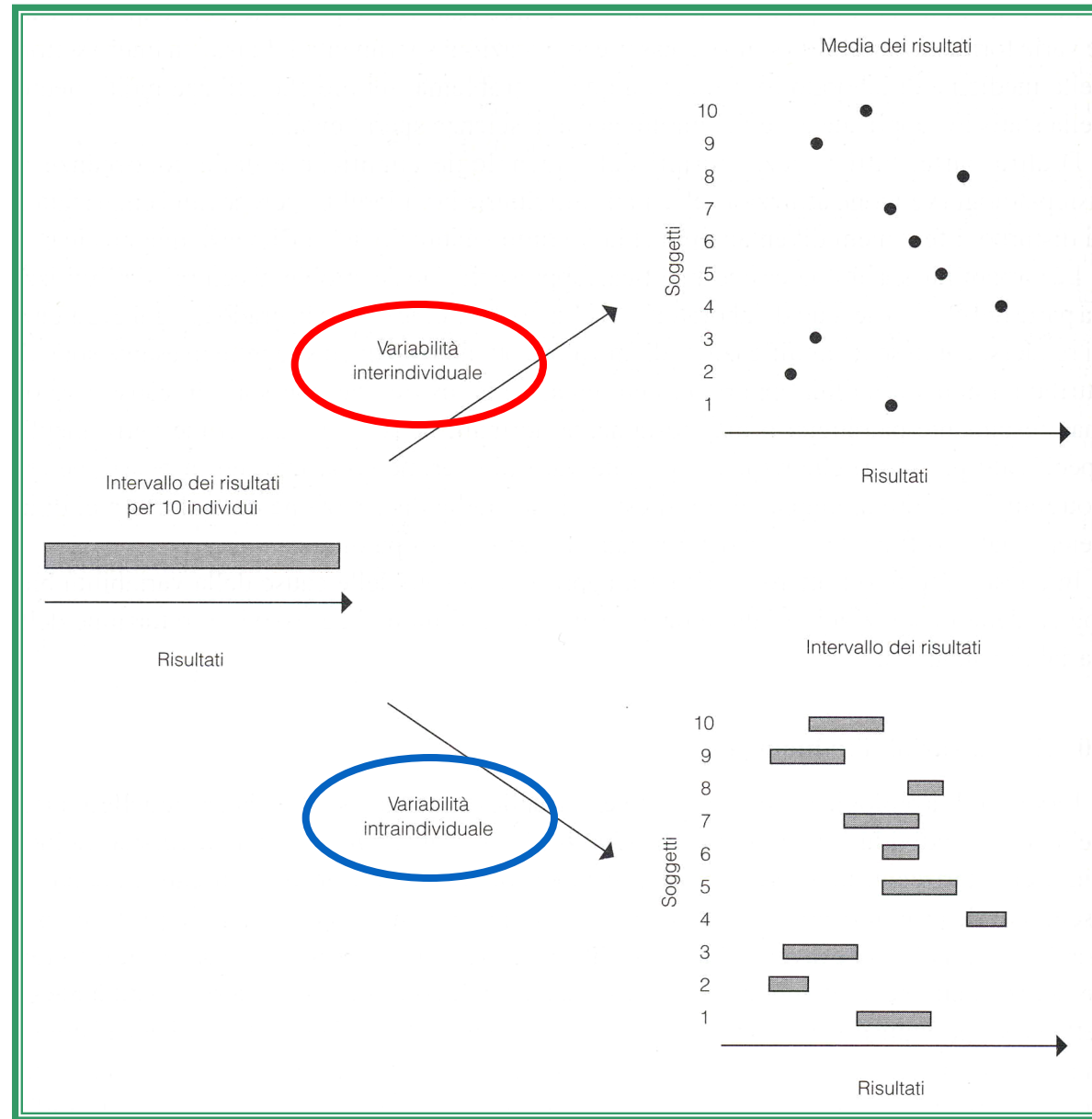


# VARIABILITA' BIOLOGICA IN GRAVIDANZA



\* prodotto finale del metabolismo del progesterone

# VARIABILITA' BIOLOGICA INTER- E INTRA-INDIVIDUALE



## VARIABILITA' BIOLOGICA INTRA-INDIVIDUALE

Fluttuazione di un costituente dell'organismo, misurato in tempi diversi nello stesso individuo, intorno al suo **punto omeostatico**

La concentrazione di qualsiasi componente dell'organismo non è un parametro statico, ma è il risultato di un equilibrio fra "entrate" ed "uscite"

**Definisce l'individualità del soggetto**

# PUNTO OMEOSTATICO

## definizione

Valore di concentrazione all'equilibrio  
dinamico tra entrate ed uscite

La regolazione che il sistema opera, fisiologicamente, per mantenere il punto omeostatico, per quanto stretta, determina una fluttuazione attorno al valore di equilibrio

**Introduzione con la dieta/  
Rilascio (catabolismo)\***

\* Rilascio del costituente nel sangue

Entrate

Uscite



**Immagazzinamento/  
Escrezione**



## PRINCIPALI FONTI DELLA VARIABILITA' INTRA-INDIVIDUALE

- Ritmi circadiani
- Variazioni stagionali
- Dieta
- Periodo mestruale
- Gravidanza

## VARIABILITA' BIOLOGICA INTER-INDIVIDUALE

I diversi valori ottenuti in soggetti diversi\* per lo stesso parametro rappresentano la differenza dei punti omeostatici dei soggetti analizzati



Necessità di confronto fra i risultati del singolo con i valori di confronto di una popolazione di soggetti «sani». A volte la variabilità inter-individuale è tale da imporre valori di confronto (intervalli di riferimento) differenziati per classi di età, sesso, etc.

\*ma sottoposti tutti a prelievo nelle stesse condizioni

La variabilità biologica non può essere  
annullata né ridotta

Può solo essere conosciuta per migliorare la  
comprensione del dato di laboratorio!