

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.

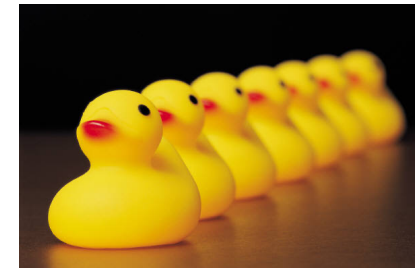
VARIABILITA' PRE-ANALITICA:

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.

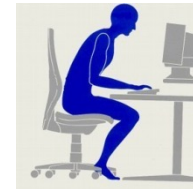
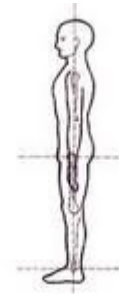
- La variabilità individuale dei parametri biochimici si suddivide in variabilità

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

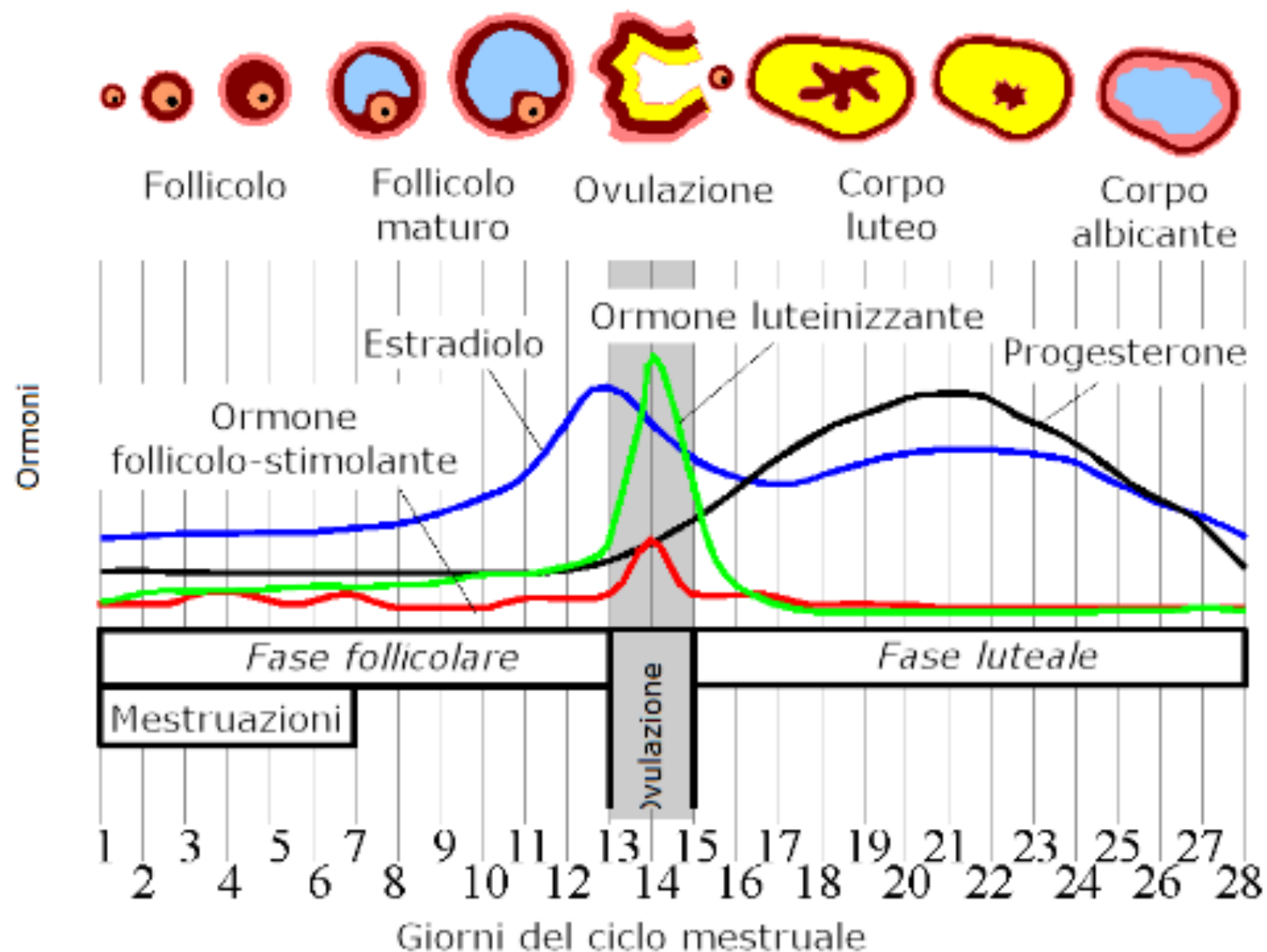
-inter-individuale, ovvero variazione dei parametri tra soggetti diversi.

Le più importanti cause della variabilità biologica sono:

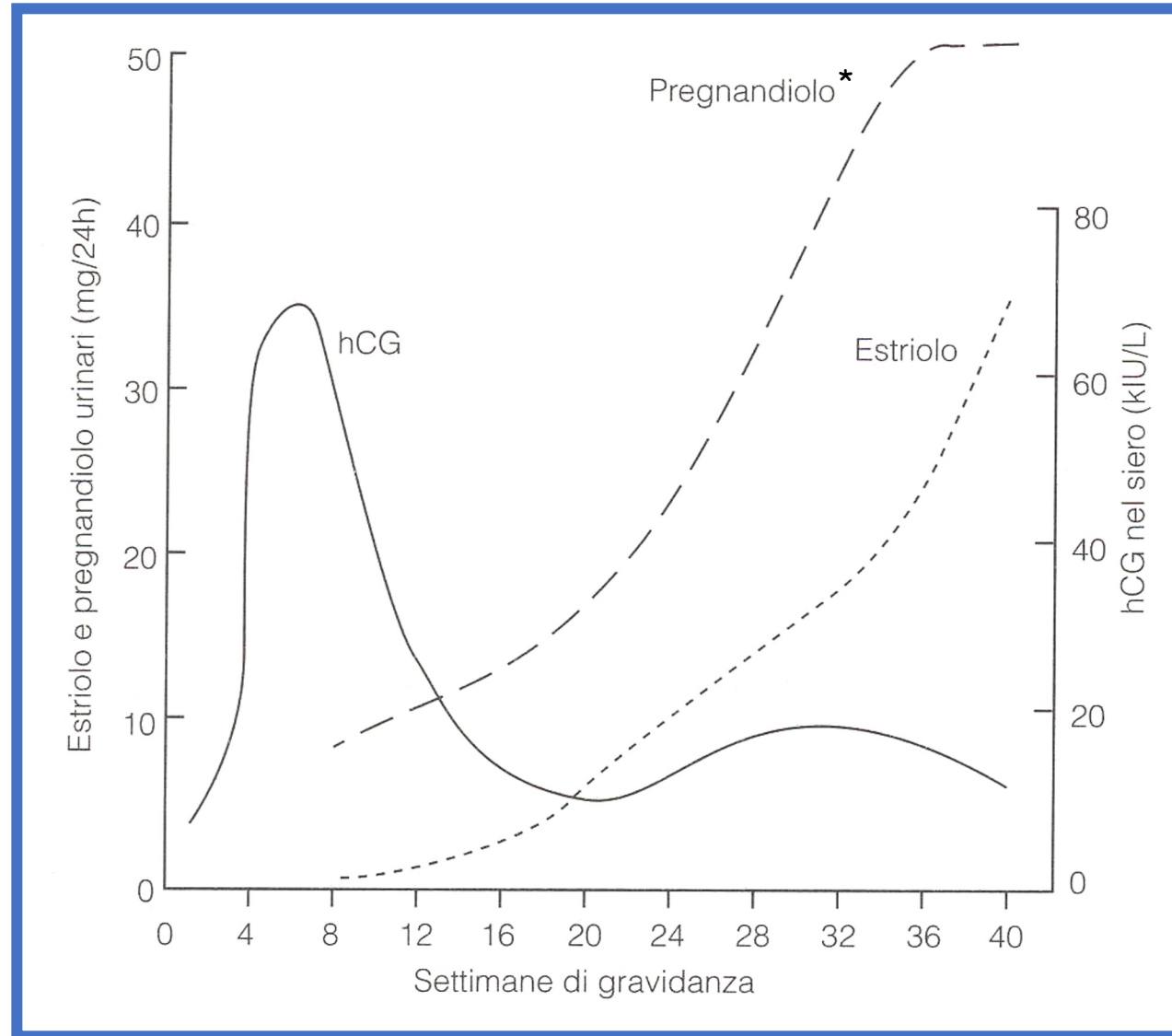
- Ritmi circadiani
- Ciclo mestruale
- Variazioni stagionali
- Età
- Dieta
- Gravidanza
- Sesso
- Gruppo etnico
- Massa corporea
- Tipo di attività lavorativa e classe sociale
- Localizzazione geografica
- Fumo di tabacco
- Ingestione recente di cibo
- Disturbi del sonno, stati di ansia,
- Assunzione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



VARIABILITA' BIOLOGICA IN UN CICLO MESTRUALE

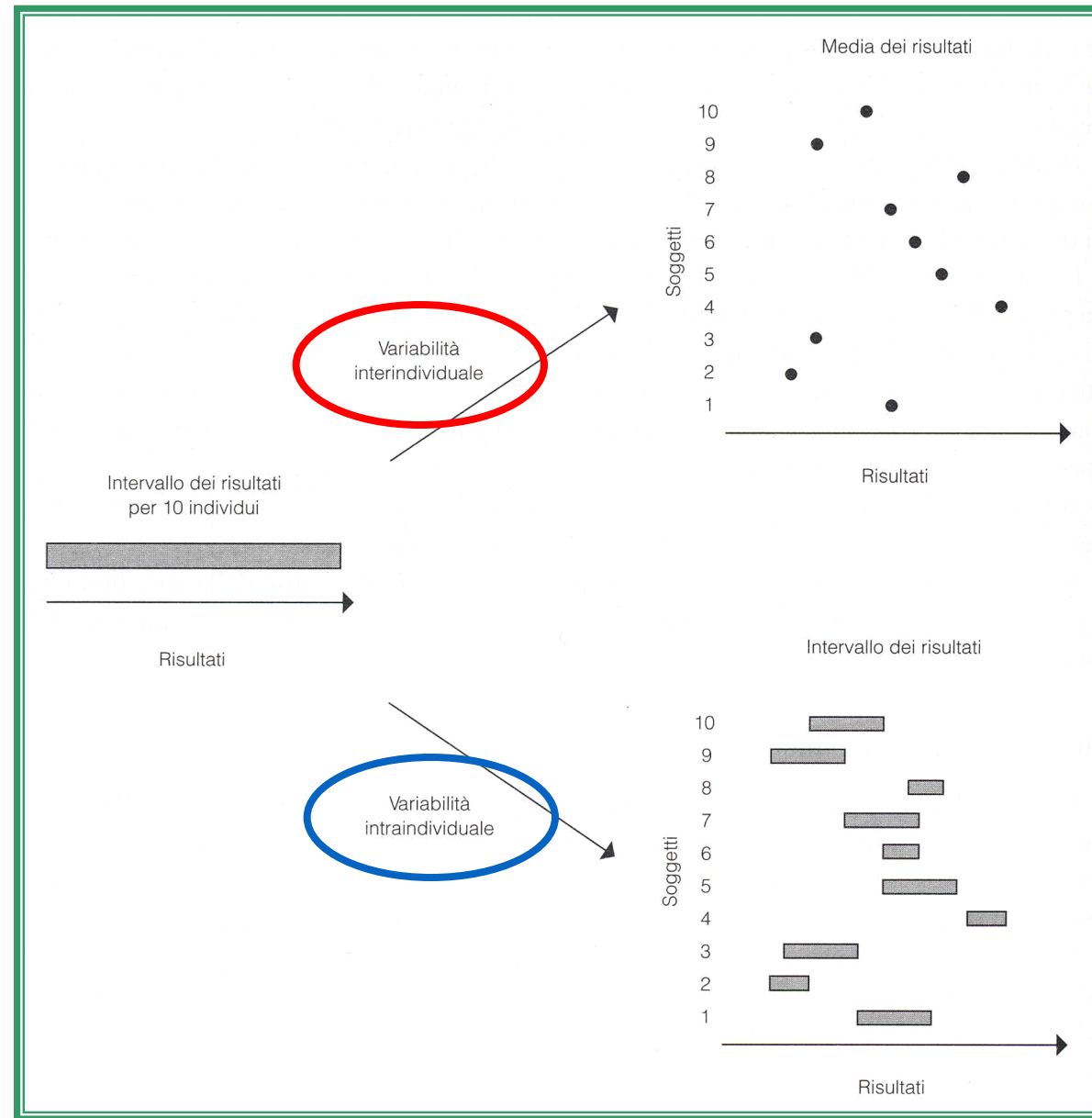


VARIABILITA' BIOLOGICA IN GRAVIDANZA



* 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

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 in circolo (catabolismo)**

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!

COME INTERPRETARE I RISULTATI DEGLI ESAMI DI LABORATORIO

RISULTATI DEGLI ESAMI DI UN MASCHIO DI 53 ANNI

<i>Analita risultato</i>	<i>Primo</i>	<i>Unità riferimento</i>	<i>Intervallo di risultato</i>	<i>Secondo</i>
• Sodio	139	mmol/L	135-147	139
• Potassio	4.3	mmol/L	3.5-5.0	4.1
• Urea	4.0	mmol/L	3.0-6.6	4.4
• Creatinina	88	μmol/L	64-120	97
• ALT	40	U/L	12-40	28
• Bilirubina	19	μmol/L	0-17	21
• Fosfatasi alcal.	49	U/L	30-105	46
• GGT	57	U/L	11-82	49
• Calcio	2.39	mmol/L	2.10-2.55	2.33
• Albumina	44	g/L	35-50	48
• Colesterolo	4.60	mmol/L	ideale <5.00	4.82
• Trigliceridi	0.48	mmol/ L	minore di 2.30	0.52
• TSH	2.03	mU/L	0.4-4.0	2.19
• PSA	1.5	μg/L	minore di 4.0	2.5

Creatinina: è un prodotto della reazione di degradazione della creatina che avviene nei muscoli. È principalmente filtrata dai reni ed il suo livello nel sangue è usato come indicazione dell'attività renale.

Qui è mostrato un aumento del 10%, ma il secondo valore è ancora all'interno del range di riferimento. COME SI INTERPRETA QUESTO RISULTATO?

- confronto dei risultati ottenuti con gli intervalli di riferimento
- confronto dei risultati con livelli clinicamente significativi (es: livelli di cut-off per alcuni fattori di rischio come il colesterolo)
- confronto dei risultati attuali con i risultati precedenti dello stesso paziente
- scelta ed applicazione dei “limiti decisionali”
- allestimento di referti integrati, ossia di referti corredati da commenti interpretativi

VALORI DI RIFERIMENTO

Il confronto dei risultati con gli **intervalli di riferimento** è il criterio più comunemente utilizzato nella pratica clinica

La definizione VALORI di RIFERIMENTO corrisponde a quella di VALORI NORMALI, ma intesi in senso statistico.

Normalità da un punto di vista statistico significa che la **variabile biologica** considerata **si distribuisce** all'interno della popolazione **in modo "gaussiano"**.

Soggetti selezionati utilizzando particolari criteri, rappresentano gli **individui di riferimento** che nel loro insieme costituiscono la **popolazione di riferimento**.

I risultati del test di laboratorio effettuato sulla popolazione di riferimento costituiscono **i valori di riferimento**.

La distribuzione di frequenza di questi valori rappresenta la **distribuzione di riferimento** ed è l'elemento essenziale per definire i **limiti di riferimento**, ossia i due valori, uno superiore ed uno inferiore, che identificano **l'intervallo di riferimento**.

Consentono il confronto con il
Valore osservato nell'individuo

INDIVIDUI DI RIFERIMENTO

Costituiscono una

POPOLAZIONE DI RIFERIMENTO

Dalla quale è estratto un

GRUPPO DI CAMPIONI DI RIFERIMENTO

Sui quali vengono determinati i

VALORI DI RIFERIMENTO

Che si distribuiscono in una

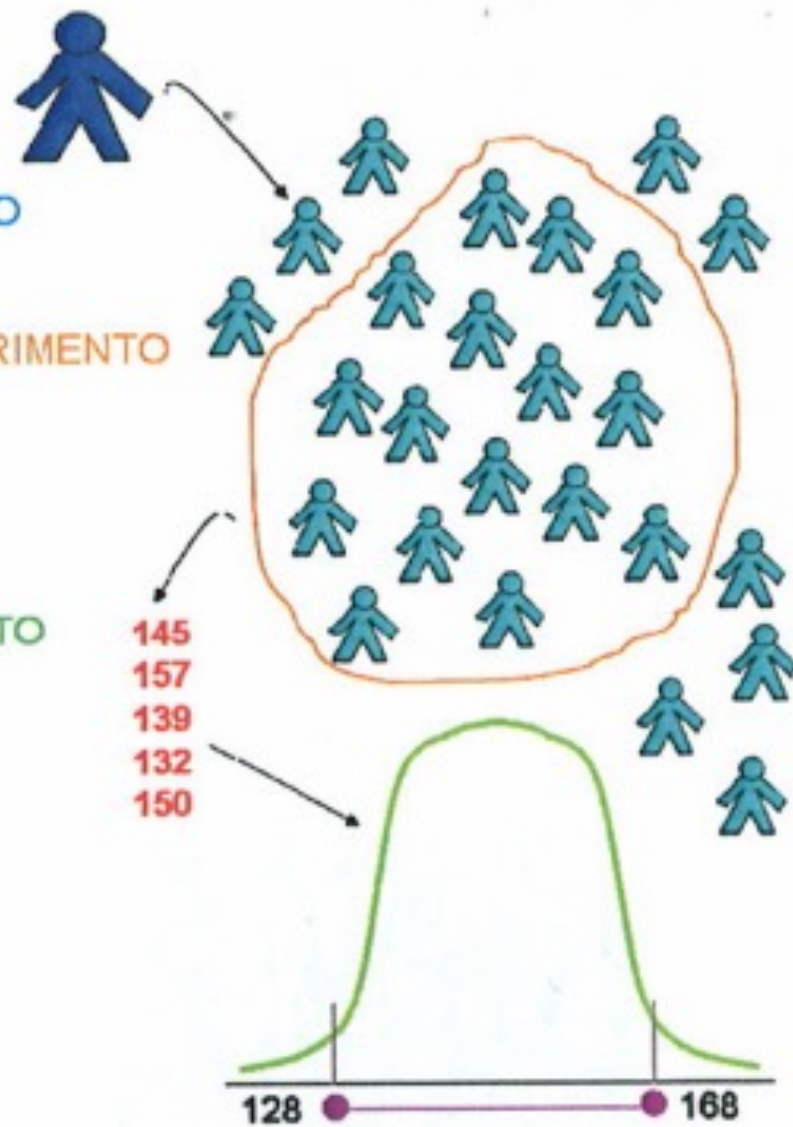
DISTRIBUZIONE DI RIFERIMENTO

Dalla quale vengono calcolati i

LIMITI DI RIFERIMENTO

Che definiscono l'

INTERVALLO DI RIFERIMENTO



CHI SONO GLI INDIVIDUI
DI RIFERIMENTO?

La selezione degli individui di riferimento

Se si tratta di un componente nuovo, su cui si hanno poche informazioni, l'approccio "a posteriori" è quasi obbligatorio

Se le caratteristiche biologiche dell'analita in questione sono ben conosciute, l'approccio "a priori" è nettamente più economico

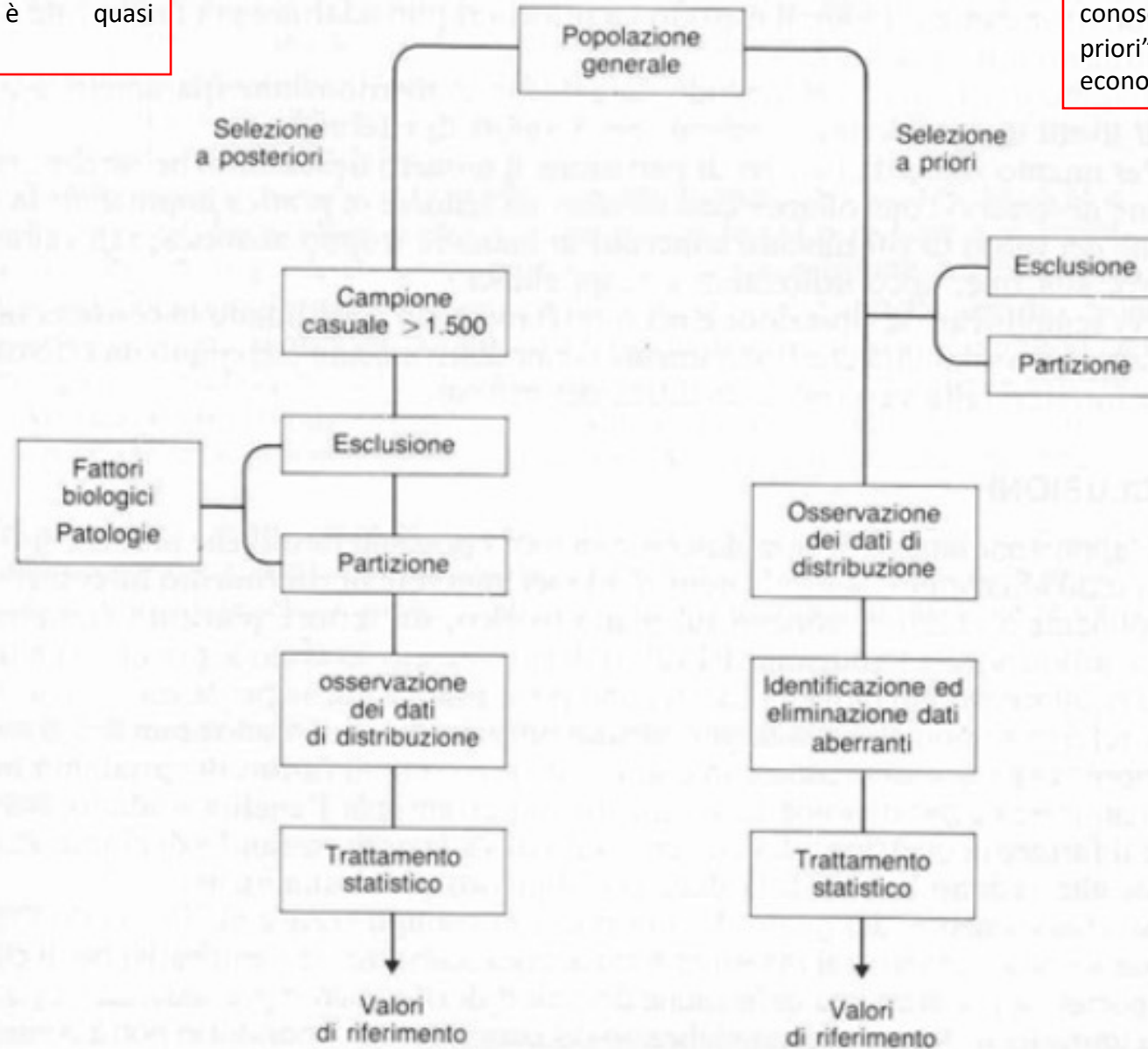


Tabella 5.1. Principali criteri di partizione

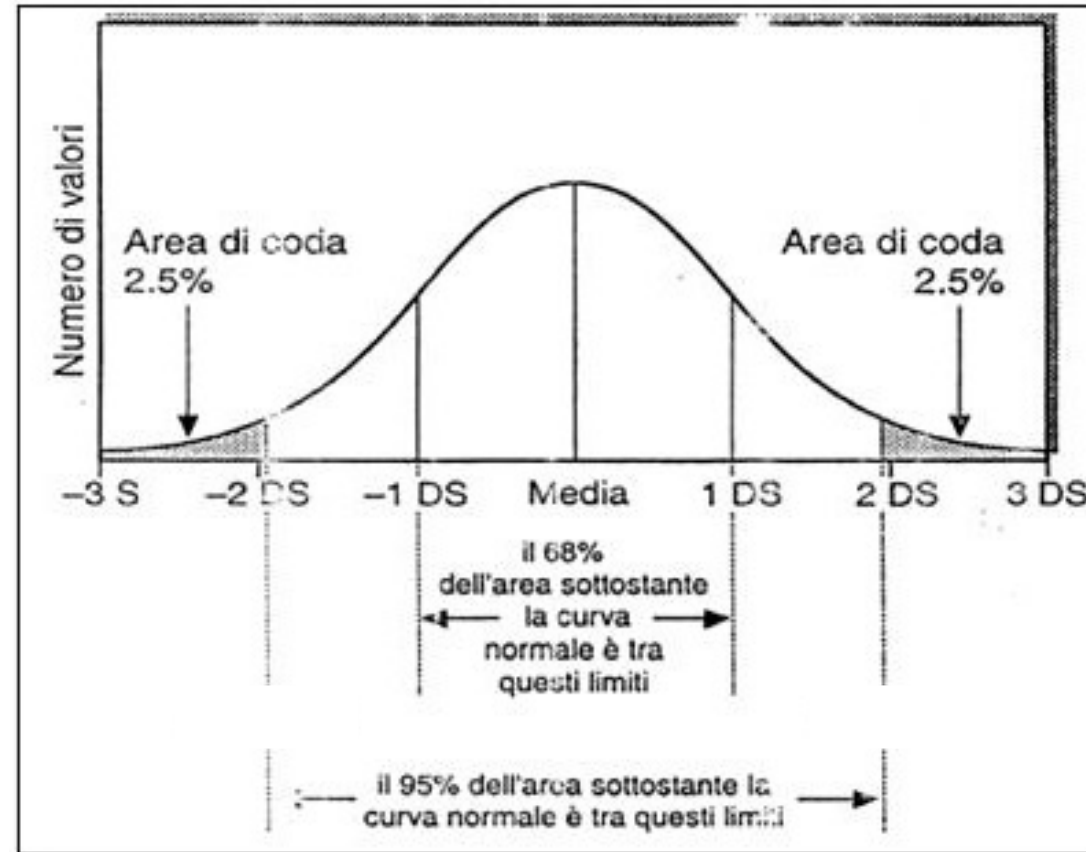
-
- Età
 1. Neonati
 2. Popolazione prepubere
 3. Popolazione adulta (postpubere e premenopausa)
 4. Popolazione anziana (postmenopausa, maschi dopo la 6^a decade)
 - Sesso
 - Fattori genetici (razza, gruppo sanguigno)
 - Fattori fisiologici (ciclo mestruale, gravidanza)
 - Altri fattori (socio-economici, ambientali)
-

Tabella 5.2. Criteri di esclusione per lo studio di valori di riferimento associati ad uno stato di salute

-
- Stato fisiologico
 - gravidanza
 - stress
 - esercizio fisico (atleti)
 - Presenza di malattie
 - Fattori di rischio
 - obesità
 - ipertensione
 - fattori di rischio lavorativi
 - fattori di rischio genetici
 - Farmaci, alcool, tabacco, droghe
-

COME SI CALCOLANO GLI
INTERVALLI DI RIFERIMENTO?

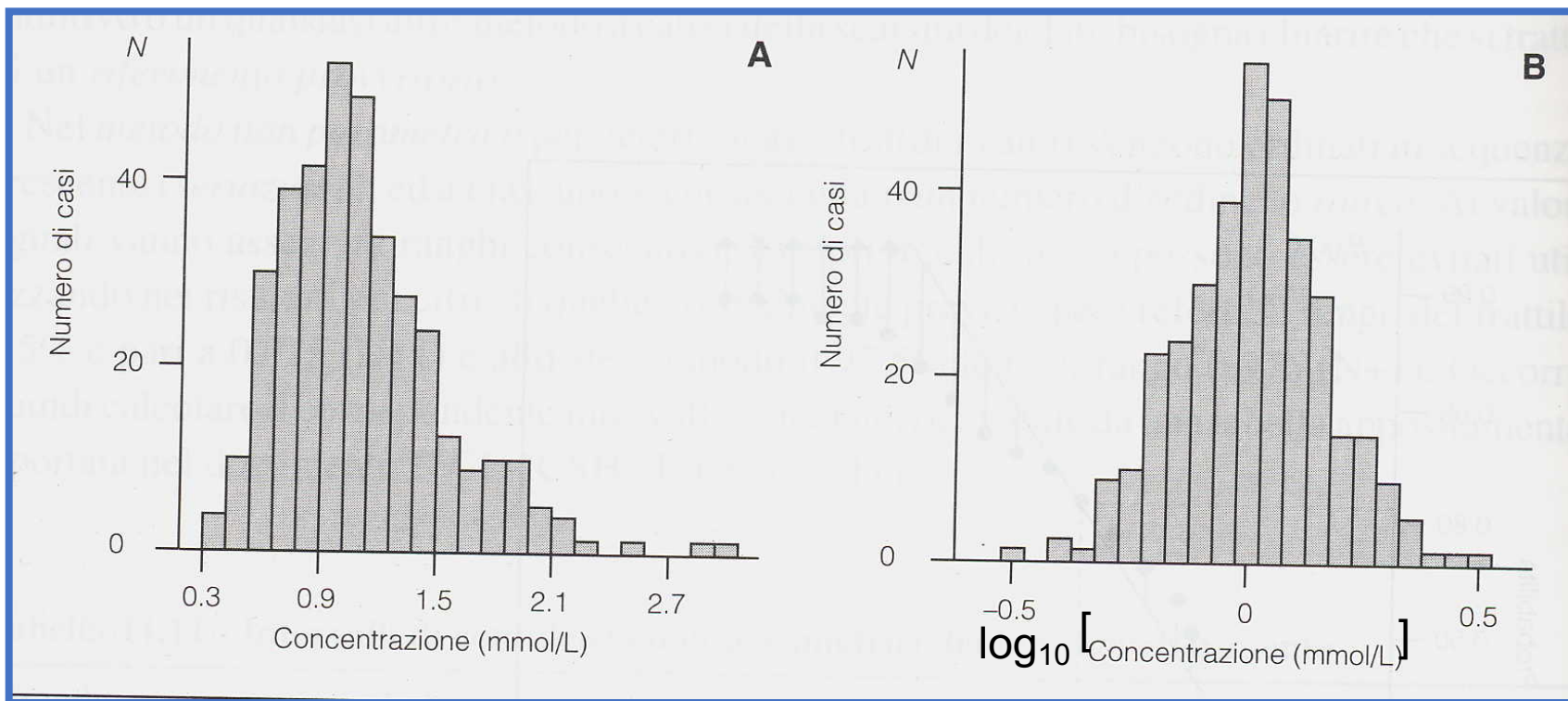
L'INTERVALLO DI RIFERIMENTO E' L'AMPIEZZA DELL'INTERVALLO NEL QUALE SONO COMPRESI IL **95%** DEI VALORI DEL PARAMETRO, OSSERVATI NEL GRUPPO CAMPIONE DI RIFERIMENTO



Distribuzione
Gaussiana

N.B: Il 2.5% dei valori ottenuti da soggetti di riferimento in ciascuna delle due code (valori superiori ed inferiori) viene escluso dall'intervallo di riferimento.

Distribuzione a campana ma asimmetrica



L' istogramma (A) mostra la distribuzione dei valori di concentrazione dei s-trigliceridi in 365 soggetti. Media = 1.09 mmol/L e deviazione Standard DS = 0.403 mmol/L.

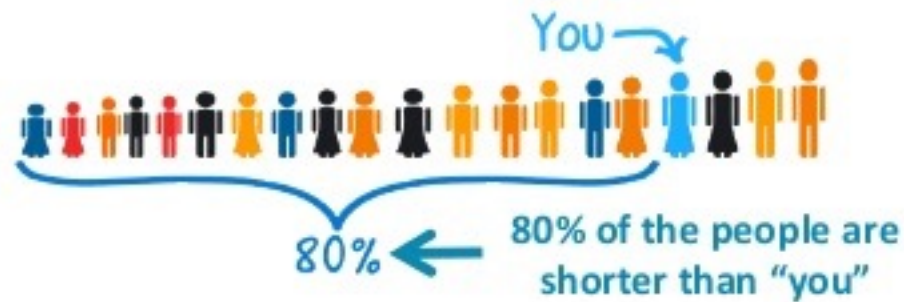
L' istogramma (B) mostra la distribuzione dei valori di concentrazione s-trigliceridi trasformati logaritmicamente. Media = 0.008, e deviazione standard DS= 0.1552.

Se la distribuzione è irregolare bisogna ricorrere al metodo dei **PERCENTILI** → la popolazione viene separata in parti percentuali stabilite e consente di identificare **l'intervallo di riferimento compreso fra il percentile 2.5% ed il percentile 97.5%**

Il percentile è il valore al di sotto del quale cade una data percentuale di osservazioni in un gruppo di osservazioni.

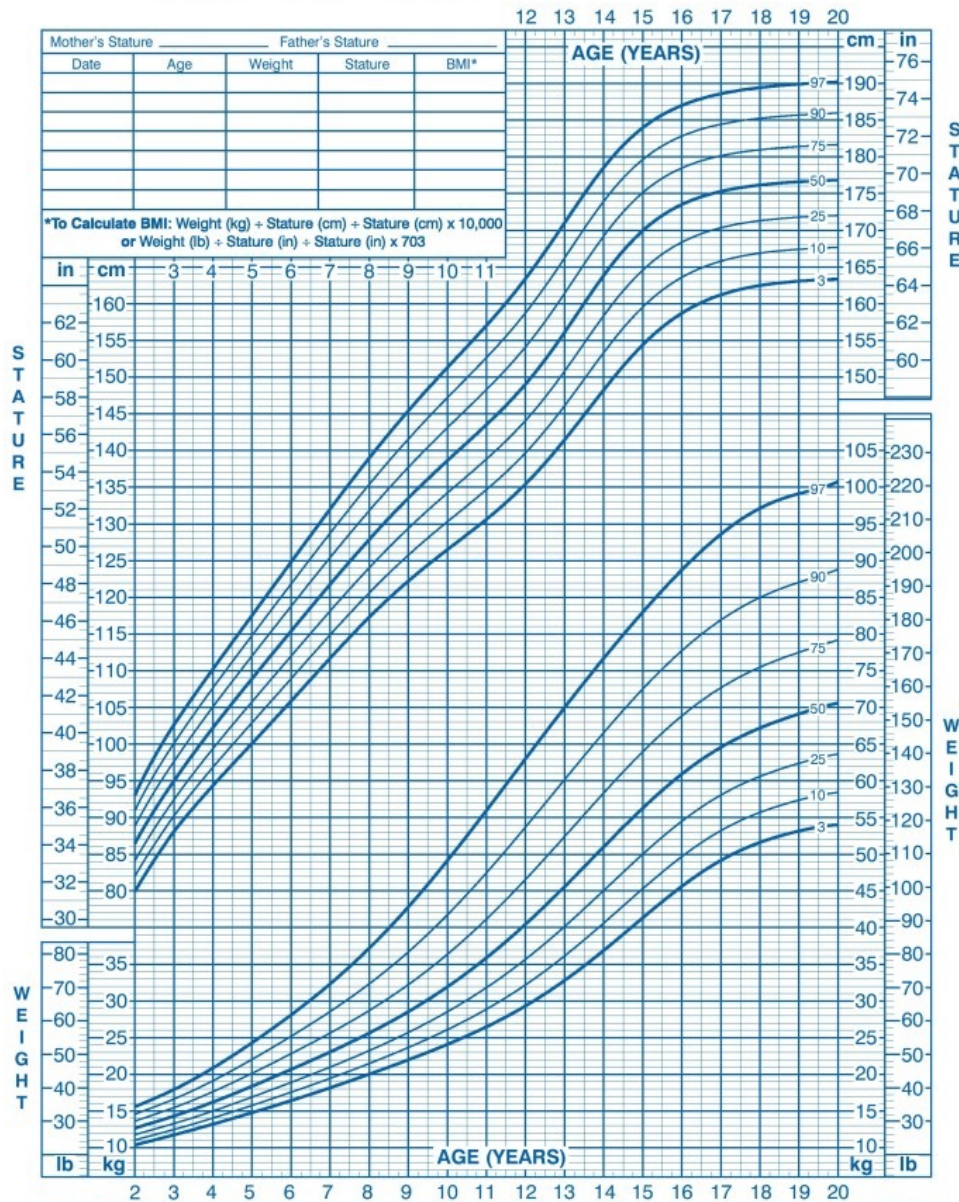
Es: tu hai un'altezza che si colloca all'80° percentile = 80 individui su 100 (80% della popolazione) sono più bassi di te.

Percentiles (denoted P_x) divide a set of data into 100 equal parts.



2 to 20 years: Boys
Stature-for-age and Weight-for-age percentiles

NAME _____
RECORD # _____



**L' INTERVALLO DI RIFERIMENTO E'
L' INTERVALLO DI VALORI* CHE COMPRENDE IL 95%
DEI VALORI OSSERVATI NEL GRUPPO
CAMPIONE DI RIFERIMENTO, a prescindere dalla modalità di
distribuzione di frequenza dei valori nel gruppo.**

***l'intervallo fra la media e due volte (2x) le DS a destra o a sinistra
della media**

CONSEGUENZE

Il 2.5% della popolazione di riferimento avrà valori superiori al limite superiore, il 2.5% li avrà inferiori al limite più basso.

La probabilità per un soggetto sano di essere classificato come “patologico” è del 5% → non sono soggetti “malati”, semplicemente hanno valori per il dato analita diversi da quelli della maggior parte della popolazione di riferimento. → Fondamentale una interpretazione critica dell'esame di laboratorio

Per alcuni parametri particolarmente importanti si utilizza come limite superiore dell'intervallo di riferimento il 99° percentile (es. troponina cardiaca T, 0.014 µg/l), limitando così il numero di soggetti di riferimento (sani) che non rientrano nel *range* di riferimento*.

Immagina di avere i risultati di un test per la troponina eseguiti su 1000 soggetti sani, ordinati in modo crescente:

97.5° percentile:

Il cut-off è il valore del 975° soggetto (il 2.5% più alto è escluso-2.5 soggetti sani su 100). Se il valore del 975° soggetto è 0.030 µg/L, questo diventa il cut-off (2.5 soggetti sani su 100 hanno la troponina > 0.030 µg/L)

99° percentile:

Il cut-off è il valore del 990° soggetto (solo l'1% più alto è escluso-1 soggetto sano su 100). Se il valore del 990° soggetto è 0.014 µg/L, questo diventa il nuovo cut-off (1 soggetto sano su 100 ha la troponina > 0.014 µg/L)

Perché il Cut-off Scende?

Aumentando il percentile (da 97.5° a 99°), stai includendo una percentuale maggiore di soggetti sani nel range di riferimento. Di conseguenza, il valore di cut-off diminuisce perché stai stringendo il limite superiore per escludere solo l'1% dei soggetti sani (invece del 2.5%).

99° percentile → riduce falsi negativi, aumenta falsi positivi.

La scelta è guidata dal principio di sicurezza clinica: in patologie ad alto rischio (come l'infarto), è preferibile **massimizzare la sensibilità** anche a costo di sacrificare un po' di specificità.

Meno falsi negativi: Un cut-off più basso (99° percentile) aiuta a identificare anche piccoli aumenti di troponina, riducendo il rischio di non diagnosticare un infarto (falsi negativi).

Più falsi positivi: Tuttavia, questo può aumentare il numero di soggetti sani che superano il cut-off (falsi positivi), ma il beneficio di non perdere diagnosi di infarto è considerato più importante.

Conclusione

A parità di test, passare dal 97.5° al 99° percentile abbassa il cut-off perché stai includendo una percentuale maggiore di soggetti sani nel range di riferimento. Questo viene fatto per migliorare la sensibilità del test e ridurre i falsi negativi.