



**CENTRO DIAGNOSTICO
"G.B. MORGAGNI"
s.r.l.**

Via Avellino, 49
82100 BENEVENTO
Tel. 0824/311137 - 0824/43814 - Fax 0824/50492
www.centromorgagni.com - info@centromorgagni.com



Edizione n. 7 - Data di emissione: 11 febbraio 2011

RESPONSABILE REDAZIONE: Dott. Pedicini Giovanni (Rappresentante della Direzione e Direttore Tecnico)

Firma: Giovanni Pedicini

RESPONSABILE VERIFICA: Dott. ssa De Marco Angela (Responsabile Gestione Qualità)

Firma: Angela De Marco

RESPONSABILE APPROVAZIONE: Sig.ra Battaglini Mariannina Nunzia (Ammin. Unico)

Firma: Mariannina Nunzia Battaglini



INDICE

SEZ. I DESCRIZIONE DELL'AZIENDA E PRINCIPI FONDAMENTALI	7
PRINCIPI FONDAMENTALI	7
IL CENTRO DIAGNOSTICO "G. B. MORGAGNI" SRL	8
SEZ. II STRUTTURA E SERVIZI FORNITI	10
2.1 ORGANIGRAMMA DELLA STRUTTURA	10
2.2 PRESTAZIONI EROGATE.....	11
2.3 ACCESSO AL SERVIZIO	12
<i>Segreteria/Accettazione/Direzione/Amministrazione</i>	<i>12</i>
<i>Orario prelievi e accettazione campioni</i>	<i>12</i>
<i>Tempi di attesa per i prelievi</i>	<i>12</i>
<i>Documenti necessari</i>	<i>12</i>
<i>Raccomandazioni di carattere generale</i>	<i>12</i>
<i>Modalità di pagamento</i>	<i>13</i>
<i>Esenzioni</i>	<i>13</i>
2.4 RITIRO REFERTI.....	14
<i>Orari di ritiro referti</i>	<i>14</i>
<i>Modalità di ritiro</i>	<i>14</i>
<i>Tempi di consegna dei referti.....</i>	<i>14</i>
SEZ. III STANDARD DI QUALITA', IMPEGNI E PROGRAMMI FUTURI.....	14
3.1 POLITICA DELLA QUALITA' DEL CENTRO DIAGNOSTICO "G. B. MORGAGNI SRL.....	16
3.2 MECCANISMI DI TUTELA E VERIFICA.....	22
3.3 VERIFICA DELLA SODDISFAZIONE DEI CLIENTI, SEGNALAZIONE DI SUGGERIMENTI E RECLAMI.....	24
MODALITÀ DI RACCOLTA PRELIEVO, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI MATERIALI BIOLOGICI	26
ELENCO DEGLI ESAMI ESEGUIBILI.....	47
CONSULENZA DI INTERPRETAZIONE DI RISULTATI	47
INFORMAZIONI DETTAGLIATE SU PARTICOLARI TIPOLOGIE DI ESAMI	47
17-ALFA IDROSSI-PROGESTERONE	47
ACA (ANTIC. ANTI CARDIOLIPINA)	47
SINONIMI E RIMANDI: AAC ANTIC. ANTICENTROMERO	47
ACE (ENZIMA CONVERTITORE DELL'ANGIOTENSINA)	48
ACIDO 5-IDROSSINDOLACETICO (URINARIO)	48
SINONIMI E RIMANDI (5-HIAA).....	48
ACIDO FOLICO	48
SINONIMI E RIMANDI: FOLATI.....	48
ACIDO VANILMANDELICO.....	49
SINONIMI E RIMANDI: (VMA-AVM).....	49
ACIDO URICO	49
ACIDO VALPROICO	49
ACTH (ORMONE ADRENOCORTICOTROPO).....	50
AGGREGAZIONE PIASTRINICA	51



ALBUMINEMIA	51
ALBUMINURIA	52
ALCOOLEMIA.....	52
ALDOLASI	53
ALDOSTERONE	53
ALFA-1 ANTITRIPSINA.....	54
ALFA FETOPROTEINA	54
ALFA-1 GLICOPROTEINA ACIDA (AAG O OROSOMUCOIDE).....	54
AMILASI	55
AMMONIEMIA	56
3-ALFA ANDROSTENEDILO	56
ANCA (ANTICORPI CONTRO IL CITOPLASMA DEI NEUTROFILI).....	57
ANTIBIOGRAMMA	57
CONCENTRAZIONE MINIMA INIBENTE.....	58
ANTICORPI ANTI GLIADINA (IGG ED IGA)	58
ANTICORPI ANTI GLIADINA (AGA IGG)	59
ANTICORPI ANTI GLIADINA (AGA IGA).....	59
ANTICORPI ANTI MICROSOMIALI.....	59
ANTICORPI ANTI PEROSSIDASI TIROIDEA	60
ANTICORPI ANTI RECETTORE DEL TSH (TRAB).....	60
ANTICORPI ANTI TIREOGLOBULINA.....	61
ANTICORPI ANTI CARDIOLIPINA (IGA-IGG-IGM).....	62
ANTICORPI ANTI CLAMIDIA TRACHOMATIS.....	62
ANTICORPI ANTI CHLAMYDIA (IGG).....	62
ANTICORPI ANTI CHLAMYDIA (IGM).....	63
ANTICORPI ANTI-DNA	63
ANTICORPI ANTI ENDOMISIO	64
ANTICORPI ANTI MITOCONDRIO (AMA).....	64
ANTICORPI ANTI MUSCOLO LISCIO (ASMA)	64
ANTICORPI ANTI MUSCOLO STRIATO (ASMAS).....	65
ANTICORPI ANTI NUCLEO (ANA).....	65
ANTICORPI ANTI NUCLEO ESTRAIBILI (ENA).....	66
ANTITROMBINA III.....	67
APO (LIPOPROTEINE)	68
APTOGLOBINA	69
AZOTEMIA (UREA)	69
BENCE-JONES (PROTEINURIA).....	70
B-HCG	71
BETA 2 MICROGLOBULINA.....	71
BILIRUBINA FRAZIONATA.....	73
C1-INIBITORE.....	74
CA 125-ANTIGENE (CA OVARICO)	75
SINONIMI E RIMANDI:.....	75
CA 15-3.....	75
SINONIMI E RIMANDI: ANTIGENE CA MAMMELLA	75
CA 19-9	76
SINONIMI E RIMANDI: ANTIGENE CA GASTROINTESTINALE (GICA)	76



CA 72-4	77
SINONIMI E RIMANDI: TAG 72 (GLICOPROTEINA ASSOCIATA)	77
CALCIO	77
CALCITONINA	77
CALCOLI URINARI	78
CARBAMAZEPINA	78
SINONIMI E RIMANDI: TEGRETOL	78
CEA	78
SINONIMI E RIMANDI: ANTIGENE CARCINO EMBRIONALE	78
CICLOSPORINA	79
SINONIMI E RIMANDI: CICLOSPORINA A	79
CLEARANCE DELLA CREATININA	80
SINONIMI E RIMANDI	80
CLEARANCE UREA	81
CORO	81
SINONIMI E RIMANDI: CL EMATICO E URINARIO	81
COLESTEROLO	82
SINONIMI E RIMANDI:	82
COLINESTERASI	82
SINONIMI E RIMANDI: PCHE-ACHE	82
COMPLEMENTO	83
CONTA DI ADDIS	83
CORTISOLO (EMATICO E URINARIO)	83
CREATINCHINASI	84
SINONIMI E RIMANDI: CPK O CK NAC	84
CK-MB	84
SINONIMI E RIMANDI: CK 2	84
CREATININEMIA	85
SINONIMI E RIMANDI:	85
CRIOGLOBULINE	85
CUPREMIA	86
CURVA DA CARICO ORALE DI GLUCOSIO	87
CYTOMEGALOVIRUS	88
D - DIMERI	92
DELTA 4-ANDROSTENEDIONE (PLASMATICO)	93
DHEA	93
SINONIMI E RIMANDI: DEIDRO-EPIANDROSTERONE PLASMATICO	93
DHEA - S	93
SINONIMI E RIMANDI: DEIDROPIANDROSTERONE SOLFATO	93
DHT	94
SINONIMI E RIMANDI: DIIDROTESTOSTERONE	94
DIGOSSINA	94
17-BETA-ESTRADIOLO	94
ELETTROFORESI DELL'EMOGLOBINE	95
SINONIMI E RIMANDI: (FORESI DELL'HB-EMOGLOBINE PATOLOGICHE)	95
ELETTROFORESI PROTEICA	95
EMOCOLTURA	97



EMOCROMO CON FORMULA	98
EMOGLOBINA GLICOSILATA.....	99
ERITROPOIETINA	99
ESAME CITOLOGICO DELLE URINE	100
ESAME DELL'ESPETTORATO.....	100
ESAME COLTURALE.....	103
ESAME FECI COMPLETO	106
ESAME DELLE URINE.....	111
ESTRIOLO LIBERO O FREE-ESTRIOL.....	117
ESTRIOLO PLASMATICO.....	117
ESTRONE	117
FATTORI DELLA COAGULAZIONE.....	117
FENOBARBITALE.....	118
FERRITINA	118
FIBRINOGENO (TEMPO DI TROMBINA)	120
FOSFATASI ACIDA	121
FOSFATASI ALCALINA	121
FOSFATASI ALCALINA (TERMOSTABILE)	122
FOSFORO	122
FSH	123
FT3.....	123
FT4.....	124
HAV (EPATITE VIRALE A)	124
HBV (EPATITE VIRALE B).....	125
HCG (GONADOTROPINA CORIONICA UMANA)	128
HCV	129
HCV RNA (QUAL. E QUANTITATIVO).....	131
HDL	133
HELICOBACTER PILORI	134
HERPES VIRUS I E II (ANTICORPI)	134
HERPES VIRUS I E II (RICERCA DIRETTA).....	135
HGV (VIRUS DELL'EPATITE G).....	135
HIV.....	136
HPL (ORMONE LATTOGENO PLACENTARE).....	143
IMMUNOGLOBULINE (IGA, IGG, IGM)	143
IMMUNOFISSAZIONE.....	144
IMMUNOCOMPLESSI CIRCOLANTI	144
INSULINA	145
L.A.C. (LUPUS ANTICOAGULANTE).....	145
LDH (LATTATO DEIDROGENASI).....	147
LDL-COLESTEROLO.....	148
LEISHMANIA	149
LH	150
LIPASI.....	151
LIQUIDO SEMINALE.....	152
LIQUIDO SINOVIALE.....	155
LIQUOR (CSF)	157



LITIO	159
MAGNESIO EMATICO	160
MAGNESIO URINARIO	160
MCA (ANTIGENE ASSOCIATO CAR. MAMMARIO).....	160
MICROALBUMINA (URINARIA).....	161
MIOGLOBINA EMATICA.....	161
MONOTEST (REAZIONE DI PAUL-BUNNEL).....	163
MYCOPLASMA UREALYTICUM	164
NSE (ENOLASI NEURONE-SPECIFICA).....	165
NUMERO DI DIBUCAINA	165
OMOCISTEINA	166
OSTEOCALCINA.....	166
PAP (FOSFATASI ACIDA PROSTATICA).....	167
PAP-TEST.....	167
PARATORMONE (PTH).....	168
PCR (PROTEINA C REATTIVA).....	168
PEPTIDE C	170
PIASTRINE.....	171
POTASSIO SIERICO ED URINARIO	172
PRIST	172
PROGESTERONE	173
PROLATTINA.....	173
PROTEINA C ANTICOAGULANTE.....	175
PROTEINA S	176
PROTEINE TOTALI	177
PROTIDOGRAMMA ELETTROFORETICO (QPE o EFSP).....	178
PSA - ANTIGENE PROST. SPECIFICO - PSA FREE.....	179
RAST - (IgE SPECIFICHE)	180
RENINA CLINO-ORTO.....	180
RESISTENZA ALLA PROTEINA C ATTIVATA (APC-R).....	181
RETICOLOCITI.....	187
RUBEOTEST (IgG-IgM)	188
SANGUE OCCULTO.....	192
SCOTCH TEST	192
SHBG (SEX HORM. BINDING GLOB.).....	192
SIDEREMIA.....	193
SODIO.....	194
SOSTANZA D'ABUSO	194
COCAINA URINARIA QUALITATIVA	195
OPPIACEI URINARI (TEST QUAL.).....	195
CANNABINOIDI-THC (QUAL.).....	196
STREPTO M TEST	197
STREPTOZYME	197
T3 - TRIODOTIRONINA.....	197
T4 - TIROXINA	199
TAS (TITOLO ANTISTREPTOLISINA).....	200
TEMPO DI PROTROMBINA (PT).....	201



TEMPO DI TROMBOPLASTINA PARZIALE ATTIVATA (APTT).....	201
TEST DI COOMBS DIRETTO.....	203
TEST DI COOMBS INDIRETTO.....	203
TESTOSTERONE PLASMATICO.....	203
TESTOSTERONE LIBERO PLASMATICO.....	203
TIBC (TOTAL IRON BINDING CAPACITY).....	204
TINE TEST.....	205
TIPIZZAZIONE HLA.....	205
TIPIZZAZIONE LINFOCITARIA.....	206
TIREOGLOBULINA.....	207
TOXOPLASMOI (IGM E IGG QUANT.).....	208
TOXOPLASMOI P.C.R.	208
TPA.....	213
TPHA.....	213
AST E ALT.....	214
TRANSFERRINA.....	214
TRIGLICERIDI.....	215
TRITEST.....	216
TROPONINA I.....	217
TSH.....	219
URICEMIA.....	220
URINOCOLTURA CON ABG.....	220
VDRL.....	220
VES (VELOCITÀ DI ERITROSEDIMENTAZIONE).....	223
VITAMINA B12.....	225
WAALER-ROSE.....	225
ZINCO (SIERICO ED URINARIO).....	226
<u>ALTRI TEST SPECIALISTICI DI LABORATORIO</u>	226
BITEST.....	226
ANALISI CITOGENETICA SU SANGUE PERIFERICO.....	226
ANALISI CITOGENETICA SU LIQUIDO AMNIOTICO.....	227
ANALISI CITOGENETICA SU MATERIALE ABORTIVO.....	227
UBICAZIONE SEDE:	228



SEZ. I DESCRIZIONE DELL'AZIENDA E PRINCIPI FONDAMENTALI

La Carta dei Servizi:

- E' un documento che stabilisce le linee di indirizzo, i fattori, gli indicatori e gli standard di Qualità del servizio;
- È un documento che va interpretato in chiave dinamica, soggetto, quindi, a continui momenti di verifica, miglioramenti ed integrazioni;
- È uno strumento posto a tutela del Diritto alla Salute, poiché attribuisce all'Utente la possibilità di controllare effettivamente qualità e quantità dei servizi erogati.

Questa CARTA DEI SERVIZI è diretta a fornire notizie sulle attività svolte presso il Centro Diagnostico "G. B. Morgagni" srl.

L'obiettivo è stato quello di realizzare uno strumento pratico ed utile, per permettere agli utenti un facile accesso alla struttura e consentire loro una puntuale conoscenza dell'organizzazione e delle attività del Centro (esami eseguibili, prezzo, tempo di refertazione, giorni di esecuzione, metodo analitico, tipo e quantità di campione necessario).

La Carta dei Servizi, viene distribuita gratuitamente a tutti i clienti che ne fanno richiesta.

Questa Carta dei Servizi viene aggiornata annualmente, o in caso di cambiamenti organizzativi di una certa entità.

PRINCIPI FONDAMENTALI

La Nostra Carta dei Servizi è stata redatta sulla base dei principi previsti dal D.P.C.M. del 19.05.1995, tra i quali di seguito sono riportati quelli fondamentali:

- Eguaglianza
- Imparzialità
- Diritto di scelta
- Partecipazione
- Continuità
- Piena informazione degli utenti



- Impegno nell'offrire qualità delle prestazioni
- Efficienza ed efficacia
- Tutela dei diritti degli utenti

IL CENTRO DIAGNOSTICO "G. B. MORGAGNI" SRL

Il Centro Diagnostico "G. B. Morgagni" srl è un moderno Laboratorio di analisi certificato (Laboratorio Generale di base con Settori Specializzati) che opera sin dal 1973 in maniera continuativa a Benevento, dapprima nella sede di Corso Vittorio Emanuele III e successivamente, dall'anno 2010, nella sede di Via Avellino, 49. Il Laboratorio (situato alla periferia della città in una posizione facilmente raggiungibile e ben collegata con il centro) si estende al piano terra, all'interno di una Struttura più complessa, e si articola in: Sala Accettazione, Sala Prelievi, Laboratorio, Servizi Igienici, Sala Amministrazione.

Punto di riferimento in città e in provincia relativamente alla fornitura di prestazioni diagnostiche in ambito specialistico, il Centro ha acquisito col passare degli anni una posizione di rilievo nel panorama dei Laboratori di analisi cliniche, attestandosi tra i primi per numero di utenti e per prestazioni effettuate. Operante inizialmente nelle tradizionali branche di Medicina di Laboratorio (Chimica Clinica, Tossicologia, Citoistopatologia, Microbiologia, Virologia, Immunometria, Ematologia, Radioimmunologia e Citofluorimetria) con prestazioni rese oltre che a privati anche a Case di Cura, Cliniche, PP. OO. dislocati in città e nei comuni del distretto urbano (attraverso il servizio di Lab. Service), il Centro mostra oggi un pannello di determinazioni analitiche molto esteso e correlato alle esigenze dell'utenza clinica.

Da diversi anni ha ampliato la sua offerta agli esami di Genetica Medica, Citogenetica e Biologia Molecolare, superando le 160.000 prestazioni/anno, con una media di oltre 50 richieste giornaliere provenienti da pazienti residenti (90%) e da pazienti non residenti o fuori Distretto (10%). Per il funzionamento complessivo del Centro sono attualmente impiegati 22 operatori tra Medici, Biologi, Tecnici, Amministrativi e personale ausiliario, che si avvicendano nell'arco delle 24 ore in due turni lavorativi. Il numero, i ruoli, le specializzazioni delle varie figure professionali presenti in Laboratorio correlano con i carichi di lavoro, la complessità delle tipologie d'attività e le funzioni insite nella medicina di Laboratorio e nei servizi erogati.



Dall'anno 2000, il Centro è stato affiancato da un Poliambulatorio privato che, raggruppando tutte le principali branche della medicina (Ortopedia, Gastroenterologia, Cardiologia, Ginecologia/Ostetricia, Chirurgia Generale e Medicina del lavoro, solo per citarne alcuni), ha permesso di ampliare ulteriormente il raggio d'azione in tema di fornitura di servizi socio-assistenziali alla comunità. È in corso l'ampliamento delle branche specialistiche del Poliambulatorio.

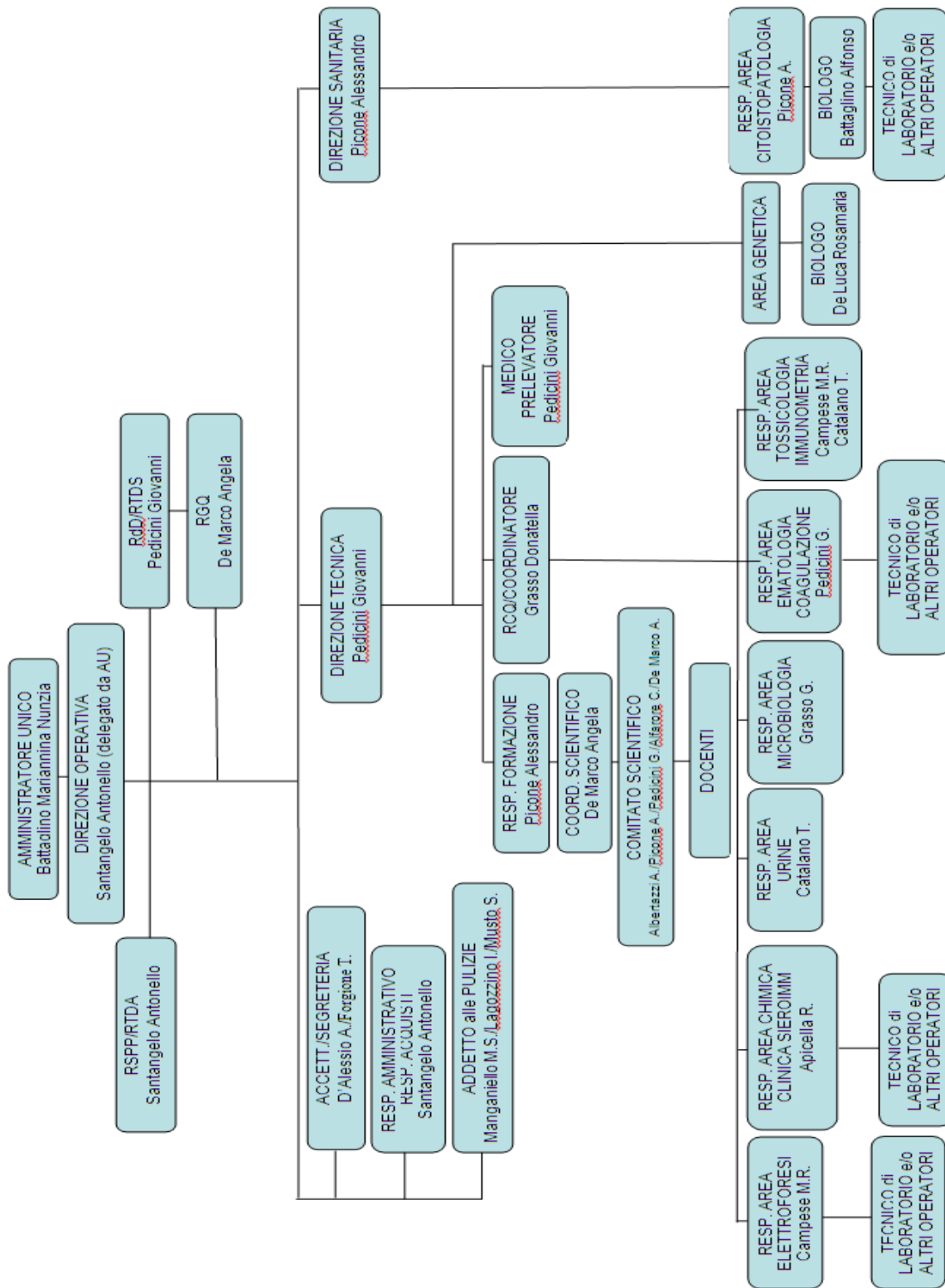
Dapprima convenzionato con il SSN, il Centro ha successivamente ottenuto l'accreditamento provvisorio.

A partire dal 2002, il Centro si è dotato di un proprio portale web (WWW.CENTROMORGAGNI.COM) con l'obiettivo di realizzare un'efficace interfaccia comunicativa con l'utenza, fornendo in tempo reale non solo un servizio di prenotazione esami e visite ambulatoriali, ma anche notizie ed aggiornamenti riguardanti i settori operativi, lo staff, l'orario e i tempi di refertazione, i corsi di aggiornamento in programma, le procedure di Lab. Service e la Guida ai servizi con le istruzioni utili per eseguire determinate analisi.



SEZ. II STRUTTURA E SERVIZI FORNITI

2.1 ORGANIGRAMMA DELLA STRUTTURA





REFERENTI

Operatori referenti del CDM sono:

DT, o **RSA** in sua assenza (interpretazione risultati, commento al referto), durante l'orario di apertura al pubblico;

RGQ o **RDD** (eventi avversi, reclami, Qualità), dalle ore 9:00 alle 14:00;

RGQ (U.R.P. - Ufficio Relazioni con il Pubblico), dalle ore 9:00 alle 14:00;

RTDA ed **RTDS** (trattamento dati), dalle ore 10:00 alle 13:00;

ACQ (pratiche amministrative), durante l'orario di apertura al pubblico.

SEG (tempi refertazione, costi, informazioni sugli esami), durante l'orario di apertura al pubblico.

2.2 PRESTAZIONI EROGATE

▪ *Area Medica*

- Esami eseguiti con metodi chimici, fisici o biologici su tessuti e liquidi di origine umana o su materiali connessi alla patologia umana, sia di routine che in urgenza (vedi *Elenco degli Esami Eseguibili*, Allegato 1 alla Carta dei Servizi).

In particolare, per i pazienti in trattamento con anticoagulanti orali, fornisce l'effettuazione del Tempo di Protrombina con metodica standardizzata e refertazione in INR;

- Consulenza su quesiti clinici, percorsi diagnostici ed interpretazione dei dati;
- Prelievi di sangue venoso,
- Esecuzione di tamponi (escluso quelli uretrali e vaginali),
- Esecuzione di agoaspirati (tiroide e mammella),
- Accettazione di campioni biologici prelevati altrove, purché correttamente trasportati in contenitori adatti, campionati e identificati.

▪ *Area Formazione*

Il Centro Diagnostico "G. B. Morgagni" srl:

- Svolge attività didattica per tecnici e tirocinanti;
- Organizza Corsi di aggiornamento professionale in qualità di Provider Nazionale ECM (Educazione Continua in Medicina), certificato presso il Ministero della Salute. È in corso di valutazione la procedura inoltrata per l'accreditamento.



2.3 ACCESSO AL SERVIZIO

Il servizio viene erogato a pazienti che si presentano direttamente al Centro Diagnostico "G. B. Morgagni", ubicato in Via Avellino, 49. L'accesso può essere diretto o su prenotazione.

Segreteria/Accettazione/Direzione/Amministrazione

Tel. 0824.311137/0824.43814 - Fax 0824.50492

Indirizzo WEB: www.centromorgagni.com

E-mail: info@centromorgagni.com

Orario prelievi e accettazione campioni

Giorni Feriali: 7.30 – 14.30

Sabato: 7:30 – 13:00

Tempi di attesa per i prelievi

Il tempo medio per l'esecuzione di un prelievo è di ca. 7 min.

Il tempo max di attesa in sala per l'esecuzione dei prelievi è di ca. 15 min

Documenti necessari

- Richiesta del Medico curante e/o impegnativa ASL;
- Tessera Sanitaria;
- Eventuale Attestato di Esenzione;
- Campione di liquido biologico (urine, etc.) da esaminare.

Raccomandazioni di carattere generale

- Nei giorni che precedono il prelievo non deve essere effettuata intensa attività fisica;
- Anche se non strettamente necessario per tutte le determinazioni ematochimiche, è prescritto il digiuno di almeno 8 ore mentre è consentita l'assunzione di una modica quantità di acqua;
- Durante il digiuno va evitato il fumo e deve essere sospesa l'assunzione di farmaci non indispensabili, a meno che il Medico curante non dia indicazioni diverse;
- La composizione del pasto che precede il digiuno deve essere quella abituale (cioè senza eccessi, ma anche senza restrizioni);



- Il tragitto per giungere al Laboratorio non deve comportare sforzo fisico né sudorazione;
- Nella sala attesa il paziente deve rimanere seduto, non deve interrompere il digiuno, né fumare; qualora fosse avvertita una sensazione di malessere deve avvisare il personale (non assumere caramelle o analoghi).

Modalità di pagamento

Il pagamento delle prestazioni può essere effettuato con le seguenti modalità:

- Contanti;
- Carta di credito o Bancomat;
- Assegno;
- Bonifico bancario.

Esenzioni

Si riporta la tabella riassuntiva relativa alle esenzioni, valida fino al 31/12/2011, nel rispetto del **Decreto Commissariale n°53 del 27/09/2010** e successive modifiche ed integrazioni:

CATEGORIA	TICKET	QUOTA RICETTA – 10,00€	QUOTA RICETTA RIDOTTA – 5,00€
Non esente	√	√	X
E01 esente per età	X	X	√
E02-E03-E04 esente per reddito	X	X	X
E05 esente per reddito	√	X	X
Da 001 a (patologie e patologie rare) esente per motivi sanitari	X	X	√
E01+E05 esente per età e per reddito E05	X	X	X
Da 001 a (patologie e patologie rare)+E05 esente per motivi sanitari e per reddito E05	X	X	X

dove: √ = paga

X = non paga



2.4 RITIRO REFERTI

Orari di ritiro referti

Giorni feriali: dalle 10.30 alle 20.00;

Sabato: dalle 10.30 alle 20.00

Modalità di ritiro

I referti vengono consegnati soltanto al paziente o ad un suo delegato autorizzato, muniti della scheda ritiro referti.

Tempi di consegna dei referti

Esami di *routine* da 1 a 2 gg. lavorativi,

Esami *specialistici* da 3 a 10 gg. lavorativi;

Esami con carattere di *urgenza*: consegna in giornata, previo accordo, anche telefonico, con la Segreteria.

SEZ. III STANDARD DI QUALITA', IMPEGNI E PROGRAMMI FUTURI

L'obiettivo che da sempre contraddistingue l'attività del Centro è quello di fornire un servizio che soddisfi appieno le esigenze dei propri clienti offrendo la massima garanzia circa la qualità delle prestazioni erogate e il loro costante miglioramento nel tempo. Per consolidare e dare visibilità al proprio impegno per la qualità, il Centro, recependo i contenuti e gli aspetti tecnico-organizzativi della più attuale legislazione in materia, si è dotato già dall'anno 2000 di un Sistema di Gestione per la Qualità conforme ai requisiti della norma internazionale UNI EN ISO 9002-1994.

Nella primavera del 2004 ha attuato il passaggio alla norma UNI EN ISO 9001:2000, in ottemperanza alla quale è stata rimodulata la struttura organizzativa attraverso l'elaborazione di un approccio gestionale improntato ai processi ed alle loro interazioni con gli obiettivi della qualità. Attualmente il Centro fa riferimento alla norma UNI EN ISO 9001:2008 (aggiornamento della 9001:00). Il Centro si è sottoposto con successo alla valutazione indipendente di Organismi di Certificazione Internazionali Accreditati quali la BVQI Italia Spa e l'IMQ-Divisione CSQ.

La qualità dei risultati forniti dal Centro (che offre anche un punto di accesso allo stabile dedicato ai disabili), è oggi verificata e monitorata da procedure quotidiane di



controllo interno (audit) e dalla partecipazione a qualificati programmi nazionali di verifica esterna della qualità (VEQ).



3.1 POLITICA DELLA QUALITA' DEL CENTRO DIAGNOSTICO "G. B. MORGAGNI SRL

- Si riporta la Politica per la Qualità del centro al 31/01/2011 -

La Direzione in riferimento alle precise responsabilità assunte nel momento in cui ha stabilito di intraprendere il percorso di implementazione del SGQ, ha definito i contenuti della propria "Politica per la Qualità", coerentemente con gli obiettivi più generali del centro Diagnostico "G.B. Morgagni" e con le aspettative dei propri clienti.

La *mission* del Centro Diagnostico "Giovanni Battista Morgagni" (CDM) risulta essere l'erogazione di:

- prestazioni di analisi chimico cliniche, ematologiche e microbiologiche (laboratorio di analisi di terzo livello), con Settori specializzati di: radioimmunologia in vitro, genetica medica, citoistopatologia (A. S. n°6 del 24/04/07);
- corsi di formazione accreditati ECM.

Inoltre, il Centro si prefigge di garantire un servizio che soddisfi appieno le esigenze dei Clienti e che offra adeguata garanzia circa la qualità delle prestazioni erogate e la ricerca del miglioramento continuo, organizzando in regime di gestione della qualità documentata, i servizi svolti.

Implicita nella mission è la *vision* ossia l'impegno preso dalla Direzione affinché tutte le parti coinvolte nella realtà aziendale (utenti/clienti, fornitori, dipendenti, ecc.) siano pienamente soddisfatte relativamente alla gestione ed erogazione del servizio e percepiscano l'impegno per il raggiungimento degli obiettivi di Qualità definiti.

Per poter proseguire su questa strada, la Direzione del Centro Diagnostico "G.B. Morgagni" ritiene strategico il coinvolgimento di tutto il personale per il raggiungimento degli impegni definiti nella politica per la qualità e degli obiettivi prefissati.

I *metodi* da adottare per il raggiungimento della mission sono:

1. la disponibilità di appropriati mezzi per il personale, al fine di svolgere al meglio le proprie funzioni;
2. l'analisi delle esigenze degli utenti e il monitoraggio del loro grado di soddisfazione relativo ai servizi ricevuti;



3. la promozione della motivazione, soddisfazione e formazione continua delle risorse umane e del loro sviluppo professionale, basato sulla cultura della qualità del servizio, diretto a soddisfare non solo il Cliente/Utente, ma anche i medici curanti ed i medici specialisti;
4. la promozione dell'innovazione e della ricerca nelle metodiche diagnostico-terapeutiche, nel rispetto delle norme di buona pratica clinica e della tutela del diritto del paziente all'informazione ed alla privacy.

All'interno del Piano delle Attività, sono stati fissati i seguenti obiettivi, generali e specifici, finalizzati al miglioramento della qualità del servizio erogato.

PIANO DELLE ATTIVITÀ

OBIETTIVI GENERALI

OBIETTIVO	TEMPISTICA	RESPONSABILITÀ	STRUMENTI DI MISURA (INDICATORE)
Incremento del 10% del Volume di prestazione, nel rispetto della C.O.M.	II anno III anno IV anno	Direzione / RSA	N° prestazioni erogate anno <u>N° prestazioni erogate anno precedente</u>
Implementazione di settori: Chimica clinica e Tossicologia; Virologia e microbiologia; Ematologia e coagulazione	II anno	Direzione	Ottenimento della Convenzione con il SSN
Implementazione di settori specialistici: Genetica, Citoistopatologia	II anno	Direzione	Ottenimento della Convenzione con il SSN
Accreditamento Istituzionale con il percorso avviato dalla Regione Campania	IV anno	Direzione/Intero Organico	Rilascio dell'Accreditamento
Mantenimento della Certificazione UNI EN ISO 9001/08 Miglioramento dei punti evidenziati durante le V.I.E.	II anno III anno	Direzione/Intero Organico	Esito positivo della Verifica Ispettiva da parte di Ente Terzo



OBIETTIVO	TEMPISTICA	RESPONSABILITA'	STRUMENTI DI MISURA (INDICATORE)
Completo interfacciamento apparecchiature Area amministrativa	II anno	Direzione / ACQ.	Acquisto sistema di gestione integrato per Accettazione, Contabilità, Prenotazioni
Completo interfacciamento apparecchiature Area clinica	II anno	Direzione / ACQ.	Acquisto sistema di gestione integrato per Settore Chimica Clinica
Completo interfacciamento apparecchiature Area clinica	III anno	Direzione / ACQ.	Acquisto sistema di gestione integrato per Settore Immunoenzimatica
Completo interfacciamento apparecchiature Area clinica	II anno	Direzione / ACQ.	Acquisto sistema di gestione integrato per i restanti settori specialistici
Revisione Carta dei Servizi	II anno III anno IV anno	Direzione	Disponibilità della Carta dei Servizi presso l'Accettazione
Raccolta ed analisi delle Schede di rilevazione dell'Evento Avverso	II anno	RGQ	Elaborazione statistiche frequenza rilevazione Evento Avverso
Raccolta ed analisi delle Schede di rilevazione dell'Evento Avverso	III anno IV anno	RGQ/Intero Organico	Ottimizzazione dei metodi di rilevazione Evento Avverso
Organizzazione ed erogazione corsi E.C.M.	III anno	RF/RGQ	Ottenimento Accreditemento come Provider presso Age.Na.S

OBIETTIVI SPECIFICI

OBIETTIVO	TEMPISTICA	RESPONSABILITA'	STRUMENTI DI MISURA (INDICATORE)
Migliorare efficacia del SGQ	II anno III anno IV anno	RF	N° ore formazione sulla Qualità (per dipendente)=5
Attenzione al cliente nella soddisfazione	II anno	RGQ/Intero Organico	IS>84,5% N° reclami <4
Attenzione al cliente nella soddisfazione	III anno IV anno	RGQ/Intero Organico	IS>86% N° reclami <3



OBIETTIVO	TEMPISTICA	RESPONSABILITA'	STRUMENTI DI MISURA (INDICATORE)
Controllo del SGQ	II anno III anno IV anno	RGQ	% Audit programmati/effettuati=100%
Progettazione ed erogazione corsi ECM	II anno III anno IV anno	RF	Almeno n° 2 corsi accreditati ECM
Miglioramento del processo analitico a partire da NC rilevate	II anno	RSA/TEC	N° NC riscontrate/ N° prestazioni erogate
Attenzione ai discenti dei corsi nella soddisfazione	III anno IV anno	RF	IS>70% N° reclami <4
Riduzione del 10% n°NC in fase di approvvigionamento	III anno IV anno	ACQ	$\frac{\text{N°NC anno/tot. approvvig.}}{\text{N°NC anno preced./tot. approvvig.}}$
Riduzione del 10% dei tempi di attesa per il prelievo	III anno IV anno	Accettazione	Analisi statistica
Riduzione del 50% n°NC in ambito formativo	III anno IV anno	ACQ	$\frac{\text{N°NC anno/tot.corsi}}{\text{N°NC anno preced./tot.corsi}}$
Erogazione corsi pianificati=100%	III anno IV anno	Direzione	$\frac{\text{Corsi erogati}}{\text{Corsi pianificati}}$
Miglioramento Precisione Analitica	III anno IV anno	Intero Organico	% scostamento CV% dei CQI rispetto al CV% delle VEQ (per singolo parametro)

Il piano delle attività è stato elaborato coinvolgendo tutta l'Organizzazione **del Centro Diagnostico "G.B. Morgagni" SRL** tenendo conto delle indicazioni nonché dei suggerimenti provenienti dai cittadini – utenti, raccolti con appositi questionari ed interviste.



Tali obiettivi sono stati comunicati in sede di un incontro formativo organizzato esclusivamente a tal fine. Le responsabilità relative agli obiettivi sono state assegnate secondo le istruzioni che seguono:

1. Le responsabilità sono assegnate dalla Direzione nel corso di un incontro formativo;
2. Le responsabilità sono assegnate sulla base del ruolo funzionale della risorsa, della tipologia di obiettivo e del campo di interesse dello stesso;
3. Le firme apposte al verbale di riunione costituiscono accettazione della responsabilità;
4. Le responsabilità assegnate possono essere revisionate mediante un ulteriore incontro formativo.

La valutazione degli obiettivi è resa possibile grazie all'utilizzo di indicatori. La valutazione complessiva è effettuata annualmente. Analisi a cadenza intermedia sono eseguite secondo le modalità indicate in procedure e protocolli in essere. Al raggiungimento di ciascun obiettivo, ne saranno stabiliti al più presto dei nuovi.

Per il raggiungimento degli obiettivi prefissati, l'intera Organizzazione si impegna al rispetto delle procedure e protocolli, alla puntuale compilazione dei documenti di registrazione ed all'aggiornamento professionale.

Come si evince dal piano, gli obiettivi sono stati articolati in quattro anni, periodo di concessione dell'attestato di accreditamento. Essi, in sintonia con la Certificazione secondo la Norma UNI EN ISO 9001/08, sono finalizzati al miglioramento continuo dell'assistenza erogata.

La programmazione del piano di attività è stata stabilita alla luce delle risorse economiche, umane, strutturali e tecnologiche disponibili e sostenibili per il **Centro Diagnostico "G.B. Morgagni" SRL**.

L'individuazione degli obiettivi è stata determinata da diversi fattori, sociali (quali il bisogno di salute) ed economici (programmazione aziendale, regionale e nazionale). Il tutto deve avvenire utilizzando ogni criterio di efficienza, efficacia, miglioramento della qualità dell'assistenza sanitaria ed appropriatezza economica.

La Direzione si riserva la possibilità di poter revisionare/modificare il Piano delle Attività, secondo le modalità che seguono:



1. La Direzione, insieme al personale, esegue un'analisi di adeguatezza del piano (es. raggiungimento di obiettivi, incongruenza di obiettivo);
2. Riunione di tutta l'Organizzazione per l'effettuazione delle modifiche;
3. Riunione di condivisione con il personale;
4. Riemissione.

Dall'Organigramma del **Centro Diagnostico "G.B. Morgagni" SRL** si evincono i diversi livelli di responsabilità cui sono assegnati gli obiettivi previsti nel Piano Attività.



3.2 MECCANISMI DI TUTELA E VERIFICA

Diritti...

Art. 1 – Presso il Centro Diagnostico G. B. Morgagni srl, ai sensi dell'art. 14 comma 5 del D.L. 502/92 modificato dal D.L. 517/93, è attivato il servizio reclami che permette di:

- a.** Ricevere osservazioni, opposizioni o reclami in via amministrativa, presentate dagli utenti;
- b.** Provvedere a dare tempestiva risposta al reclamante da parte della Direzione;
- c.** Fornire al reclamante tutte le informazioni e quant'altro necessario per garantire la tutela dei diritti riconosciuti dalla normativa vigente in materia;

Art. 2 – Sono soggetti legittimati agli atti di cui al comma a) del precedente art. 1 tutti gli utenti, parenti o affini nonché i responsabili degli Organismi di Volontariato e Tutela, accreditati presso la Regione Campania.

Art. 3 – I soggetti individuati all'art. 2 possono esercitare il proprio diritto, presentando osservazioni, opposizioni o reclami, entro 15 gg, dal momento in cui l'interessato abbia avuto conoscenza dell'atto o comportamento contro cui voglia opporsi, in uno dei seguenti modi:

- Lettere in carta semplice, indirizzata e inviata alla Direzione Amministrativa e consegnata alla Direzione Sanitaria.
- Colloquio con il Direttore Sanitario o suo delegato.

Art. 4 – Il Rappresentante della Direzione provvede a comunicare per vie brevi, ai Responsabili dei Settori chiamati in causa, i contenuti dei reclami affinché essi adottino le misure necessarie per rimuovere i disservizi verificatisi. In caso positivo dà la diretta risposta agli interessati.

Art. 5 – Nel caso in cui l'intervento opposto ad osservazioni o reclami non sia stato risolutivo, il ricorso provvisto di documentazione a supporto delle azioni attuate, viene comunicato al reclamante. Qualora il reclamante non si considerasse soddisfatto della decisione, potrà entro 10 gg. produrre una nuova istanza.

Art. 6 – Il Rappresentante della Direzione dovrà curare:

- L'invio della risposta firmata dalla Direzione Amministrativa all'Utente e contestualmente ai Responsabili dei Settori interessati dal ricorso; L'invio alla Direzione Amministrativa dell'opposizione alla decisione sul ricorso affinché



essa venga riesaminata adottando, entro 10 giorni dal ricevimento, il provvedimento definitivo, sentito il Direttore Sanitario.

...e doveri degli utenti

L'Utente che chiede di essere assistito dal personale della struttura deve:

1. Adeguarsi alle regole ed alle disposizioni vigenti nella struttura al fine di rendere più efficace l'attività del personale addetto alla sua cura e rendere più confortevole la sua permanenza insieme a tutti coloro che condividono la sua esperienza di Utente;
2. Rispettare il divieto di fumare, disciplinato da apposita legge e condiviso da tutti gli operatori del Centro;
3. Attenersi alle istruzioni o raccomandazioni fornite dal Laboratorio per la preparazione agli esami;
4. Osservare gli orari previsti dalla struttura in ogni circostanza.

Il trattamento dei dati personali è effettuato in conformità e ai sensi del D. Lgs. 196/2003 e specificato nel Documento Programmatico sulla Sicurezza (DPS) tenuto dal Centro e aggiornato annualmente.



3.3 VERIFICA DELLA SODDISFAZIONE DEI CLIENTI, SEGNALAZIONE DI SUGGERIMENTI E RECLAMI

Il grado di soddisfazione dei clienti rispetto ai servizi ricevuti è verificato con mediante l'analisi dei *QUESTIONARI DI SODDISFAZIONE DEL CLIENTE* distribuiti dalla Segretaria. Il questionario è sempre a disposizione presso l'accettazione per tutti i clienti che desiderino manifestare il proprio livello di soddisfazione sui servizi ricevuti dal Centro: in tal caso, essi sono invitati a compilare il questionario in modo anonimo e a inserirlo nell'apposita urna di raccolta situata in prossimità dell'uscita.

Viene valutata anche la percezione del servizio atteso dall'Utenza mediante l'analisi dei *QUESTIONARI SERVIZIO ATTESO* distribuiti semestralmente a cura del Responsabile Gestione Qualità.

I clienti sono inoltre invitati a manifestare le segnalazioni di suggerimenti o di eventuale reclamo utilizzando l'apposita *SCHEDA SEGNALAZIONE* compilandola in tutte le sue parti e consegnandola alla Segreteria del Centro. Sia i suggerimenti che gli eventuali reclami sono considerati dalla Direzione e dal personale del Centro una preziosa occasione di miglioramento. Ogni suggerimento sarà oggetto di grande attenzione per l'attuazione di piani di miglioramento.

--

A titolo esemplificativo, si riportano i risultati dell'elaborazione dei *QUESTIONARI DI SODDISFAZIONE* relativamente all'anno 2010:

- AREA I – *Primo Contatto*: indice di soddisfazione per area pari a: **87,17%**. Il valore indica una buona distribuzione delle risposte tra i valori più alti della scala proposta (valori da 1 a 5);
- AREA II – *Struttura*: indice di soddisfazione per area pari a: **90,17%**. Il valore indica una buona distribuzione delle risposte tra i valori più alti della scala proposta (valori da 1 a 5);



- AREA III – *Erogazione del Servizio*: indice di soddisfazione per area pari a: **88,29%**. Il valore indica una buona distribuzione delle risposte tra i valori più alti della scala proposta (valori da 1 a 5);
- AREA IV – *Consegna del Referto*: indice di soddisfazione per area pari a: 82,83%. Il valore indica una buona distribuzione delle risposte tra i valori più alti della scala proposta (valori da 1 a 5);

L'Indice di Soddisfazione complessivo (IS) è pari a **87,30%**. L'IS risulta essere superiore del 4,19% rispetto a quello dell'anno precedente (Anno 2009 – IS = 83,11%).

A titolo esemplificativo, si riportano i risultati dell'elaborazione dei **QUESTIONARI SERVIZIO ATTESO** relativamente all'anno 2010: dall'analisi se evince che, per la maggior parte delle risposte, c'è un lieve scostamento tra Servizio atteso/Servizio percepito, indice di un buon livello di soddisfazione. Eccezioni di un evidente scostamento sono:

- QUESITO 3: Q-R indica una performance di servizio migliore delle aspettative;
- QUESITO 8: Q-R indica una performance di servizio migliore delle aspettative.

Lo scostamento dei quesiti 2-7-9-10, dell'anno 2009, è stato superato con il trasferimento nella nuova sede e con la formazione/sensibilizzazione del personale.



**MODALITÀ DI RACCOLTA PRELIEVO, CONSERVAZIONE E
TRASPORTO DEI MATERIALI BIOLOGICI**

ACIDO LATTICO

Materiale per il prelievo

Provetta con tappo grigio (contenente Li fluoruro).

Modalità di prelievo

Il prelievo va eseguito dopo 30 minuti di riposo a letto.

Il campione deve essere consegnato nel più breve tempo possibile per la determinazione oppure essere centrifugato a 3000 rpm per 10 min. e conservato a 4°C.

AMMONIO

Preparazione del paziente

Il paziente deve essere a digiuno dalla sera precedente e non deve aver fumato nelle 8 ore precedenti l'esame.

Materiale per il prelievo

Provetta da emocromo con tappo viola (contenente EDTA).

Modalità di prelievo

Eeguire il prelievo e consegnarlo il più presto possibile per la determinazione.

Metterlo immediatamente in ghiaccio e consegnarlo entro 10 min. per la separazione del plasma.

ACIDO VANILMANDELICO

Preparazione del paziente

A partire dalle 24 ore 'precedenti l'inizio e per tutto il tempo della raccolta (24 ore) è necessario osservare una dieta priva dei seguenti alimenti:

1. banane.
2. vaniglia.
3. cioccolato.
4. caffè.
5. tè.
6. agrumi.

Durante questo periodo si consiglia, previa consultazione del Medico curante, di evitare l'assunzione di farmaci.



In caso contrario è opportuno comunicare il nome dei farmaci assunti al momento della consegna delle urine.

Materiale per la raccolta delle urine delle 24 ore

- Contenitore ben lavato in cui il paziente metterà le urine raccolte in 24 ore.
- Provetta da 10 ml di acido cloridrico 6M da versare nel contenitore all'inizio della raccolta (da ritirare presso il Laboratorio).

Modalità di raccolta delle urine delle 24 ore

Al risveglio del mattino precedente la consegna delle urine in Laboratorio il paziente svuota la vescica e getta le urine.

Da questo momento e per le 24 ore successive il paziente raccoglie nel contenitore tutte le urine emesse comprese quelle del mattino successivo all'inizio della raccolta (dopo aver versato l'acido contenuto nella provetta).

Durante il periodo della raccolta le urine devono essere preferibilmente conservate in frigorifero.

ALDOSTERONE

Preparazione del paziente

Il paziente deve seguire una dieta normosodica per 5 giorni che precedono l'esecuzione del test.

Materiale per la raccolta delle urine:

- Contenitore ben lavato in cui il paziente raccoglierà le urine delle 24 ore.
- Acido borico (10 g.) fornito dal laboratorio.

Modalità di raccolta delle urine

All'inizio della raccolta versare nel contenitore l'acido borico.

Alle ore 8 del mattino precedente la consegna delle urine in laboratorio, il paziente vuota completamente la vescica e getta le urine.

Da questo momento e per le 24 ore successive, il paziente raccoglie nel contenitore tutte le urine emesse, comprese quelle delle ore 8 del mattino successivo all'inizio della raccolta.

Durante il periodo della raccolta, le urine devono essere conservate ad una temperatura compresa tra i 5-8°C.



Modalità del prelievo

Si esegue il primo prelievo al paziente in ortostatismo da almeno 10 minuti (Ortostatismo).

Dopo aver tenuto il paziente a riposo a letto per due ore, si esegue il secondo prelievo (Clinostatismo).

Modalità di prelievo

Si esegue il primo prelievo al paziente, in ortostatismo da almeno 10 minuti (Ortostatismo).

Dopo aver tenuto il paziente a riposo, preferibilmente sul lettino, per due ore, si esegue il secondo prelievo (Clinostatismo).

CLEARANCE DELLA CREATININA

Materiale per la raccolta

Contenitore ben lavato per le urine delle 24h.

Modalità di prelievo e di raccolta

Al risveglio del mattino precedente la consegna delle urine in Laboratorio il paziente vuota completamente la vescica e getta le urine.

Da questo momento e per le 24 ore successive, il paziente raccoglie nel contenitore tutte le urine emesse, comprese quelle, del mattino successivo all'inizio della raccolta.

Durante il periodo della raccolta le urine devono essere preferibilmente conservate in frigorifero.

Eseguire il prelievo di sangue nella mattinata in cui termina la raccolta delle urine delle 24 ore.

Consegnare la provetta con il sangue e l'urina raccolta.

CORTICOTROPINA (ACTH)

Materiale per il prelievo

Provetta Vacutainer con tappo viola (contenente EDTA).

Le provette vanno tenute in frigorifero fino al momento del prelievo.

Modalità di prelievo

Il prelievo va eseguito sul paziente a riposo da almeno 30 minuti.

Mettere immediatamente in ghiaccio la provetta e consegnarla entro 10 minuti.

Per la separazione del plasma.



CORTISOLO (Sangue)

Modalità di prelievo

- *PRELIEVO SINGOLO:*

Va eseguito sul paziente a riposo a letto almeno da trenta minuti evitando qualsiasi stress.

- *PRELIEVO MULTIPLIO:*

1. evidenzia l'andamento circadiano del cortisolo.
2. si eseguono, normalmente, due prelievi: alle ore 8 e alle ore 15.

CORTISOLO (Urina)

Il dosaggio del cortisolo si effettua sulle urine delle 24 ore.

Il campione di urina deve essere raccolto in un recipiente pulito.

Al risveglio del mattino precedente la consegna delle urine in Laboratorio, il paziente vuota completamente la vescica e getta le urine.

Da questo momento e per le 24 ore successive, il paziente raccoglie nel contenitore tutte le urine emesse, comprese quelle del mattino successivo all'inizio della raccolta.

E' possibile aggiungere come conservante 10 grammi di acido borico per litro di urina.

Durante il periodo della raccolta le urine devono essere preferibilmente conservate in frigorifero.

CRIOGLOBULINE

Modalità di prelievo

Scrivere sulla provetta l'ora del prelievo.

Conservare il campione a 37 °C nel termostato per 2 ore prima di separare il siero.

CURVA DA CARICO DI GLUCOSIO PER OS

Preparazione del paziente

Nei tre giorni che precedono il test, il paziente non deve sottostare ad alcuna restrizione dietetica.

I pazienti esterni vanno informati sul tempo necessario per l'esecuzione dei prelievi.



Materiale per il prelievo

Provette con tappo grigio (contenenti Litoeparina e litioiodoacetato per inibire la glicolisi).

Flaconi di "Soluzione di Glucosio" (equivalenti a 75 g. di glucosio).

Modalità di prelievo

Eseguire prelievo basale e contemporaneamente i prelievi eventualmente richiesti per altri esami.

Far bere al paziente la "soluzione di glucosio".

Controllare che assuma tutta la soluzione in 5 minuti.

Agli adulti vanno somministrati 75 g. di glucosio.

Ai bambini vanno somministrati 1.75 g. di glucosio per Kg di peso corporeo, fino ad un massimo di 75 g. di glucosio.

Alle donne in gravidanze vanno somministrati 100 g. di glucosio.

Il paziente deve restare a riposo per tutta la durata del test.

Effettuare i prelievi ogni 30 minuti utilizzando le provette etichettate.

MINICURVA DI 1 ORA

Modalità di prelievo

Effettuare il primo prelievo (esame di base).

Far bere al paziente 50 g. di glucosio.

La soluzione glucosata deve essere bevuta entro 5 minuti.

Dopo 1 ora dalla somministrazione eseguire il secondo prelievo.

Durante l'esecuzione del test, il paziente non può fumare o passeggiare.

EMOGASANALISI

Materiale per il prelievo

Siringa sterile monouso contenente eparina.

Modalità di prelievo

Eseguire un prelievo arterioso dopo avere eliminato tutta l'eparina dalla siringa. Inviare subito il campione, possibilmente in ghiaccio, per la determinazione.

FARMACI

- **ACIDO VALPROICO** (*Depakin*)

Prelievo: digiuno prima di una dose (valle).

- **CARBAMAZEPINA** (*Tegretol*)



Prelievo: digiuno prima di una dose (valle).

- **FENITOINA** (*Dintoina, Dintoinale*)

Prelievo: preferibilmente 2-4 ore dopo l'assunzione del farmaco.

- **FENOBARBITALE** (*Luminale, Luminalet, Gardenale*)

Prelievo: preferibilmente 6-8 ore dopo l'assunzione del farmaco.

- **DIGOSSINA** (*Digomal, Eudigox, Lanicor, Lanoxin*)

Prelievo: preferibilmente 8-24 ore dopo l'assunzione del farmaco (migliore correlazione tra le concentrazioni nel siero e nel muscolo cardiaco).

- **CICLOSPORINA** (*Sandimmun*)

Prelievo in condizioni di steady-state subito prima della dose successiva (valle).

GLICOSURIA FRAZIONATA

Materiale per la raccolta

Tre contenitori sterili in cui il paziente raccoglierà le urine.

Modalità di raccolta delle urine

Alle ore 8 del mattino il paziente deve vuotare la vescica completamente e gettare le urine.

Da questo momento e per le 24 ore successive deve raccogliere le urine in tre contenitori separati osservando tre fasce orarie: (8-14; 14-20; 20-8).

Conservare i contenitori, prima della consegna in laboratorio, a temperatura 4-8°C.

GnRH-TEST (Esame su appuntamento)

Preparazione del paziente

Non sono stati osservati significati effetti collaterali durante il trattamento diagnostico con GnRH (*Gonadorelina*).

La somministrazione per endovena deve essere eseguita molto lentamente.

Per questo test è necessario richiedere al paziente il consenso informato scritto.

Materiale per il test (Curva standard)

GnRH (Gonadorelina acetato) da 100 mcg. Soluzione fisiologica.

Modalità di prelievo

Il paziente deve stare a riposo per tutta la durata della prova.

Effettuare il primo prelievo 20' prima (prelievo – 20') ed il secondo poco prima di infondere la soluzione fisiologica (prelievo basale).



Iniettare molto lentamente (circa 1 minuto) in vena 100 mcg di GnRH (tempo 0).

Raccordare il gocciolatore al butterfly e far scendere la flebo a goccia lenta (solo per il mantenimento della vena).

Eseguire i prelievi successivi dopo 15', 30', 45', 60', 90', 120', 150', 180' dalla somministrazione del GnRH, seguendo queste modalità:

- ad ogni prelievo staccare il raccordo dal gocciolatore e inserire la "campana".
- riempire completamente una provetta e gettarla via (contiene sangue diluito con fisiologica).
- riempire, quindi, le provette destinate al prelievo secondo i tempi prestabiliti.

La temporizzazione dei prelievi è modificabile secondo il parere del clinico.

IDROSSIPROLINA (Urina 24 ore)

Preparazione del paziente

A partire dalle 48 ore precedenti l'inizio (e per tutto il tempo della raccolta dell'urina delle 24 ore) è necessario osservare una dieta priva o povera di collagene.

E' necessario eliminare i seguenti alimenti:

carne, derivati della carne, brodo ed estratti di carne, sugo di carne, pesce, cacciagione, dolci, uova, prodotti contenenti gelatina.

Durante questo periodo si consiglia, previa consultazione del medico, di evitare l'assunzione dei farmaci.

Materiale per la raccolta delle urine

Contenitore sterile in cui il paziente metterà le urine delle 24 ore.

Modalità di raccolta

Al risveglio del mattino precedente la consegna delle urine in laboratorio, il paziente vuota completamente la vescica e getta le urine.

Da questo momento e per le 24 ore successive, il paziente raccoglie nel contenitore tutte le urine emesse, comprese quelle del mattino successivo all'inizio della raccolta.

Durante il periodo della raccolta, le urine devono essere preferibilmente conservate in frigorifero.



LIQUIDO SEMINALE (*raccolta*)

Preparazione del paziente

Il paziente deve astenersi da rapporti sessuali per un periodo minimo di 3 giorni ad un massimo di 5 giorni.

Materiale per il prelievo

Recipiente a bocca larga e tappo a vite.

Modalità di prelievo

La raccolta deve essere eseguita al mattino.

Raccogliere lo sperma nel recipiente e chiudere con il tappo a vite.

Note: L'esame può essere eseguito anche domiciliariamente, su richiesta del paziente, purchè il campione venga consegnato in laboratorio entro 30 minuti e venga trasportato al riparo della luce e degli sbalzi di temperatura. In caso venga richiesto l'esame colturale dello sperma, il paziente deve urinare prima della raccolta.

MICROALBUMINURIA

Modalità di raccolta

Urine della mattina (non 24h) sterili (per evitare false positività).

NORDIN TEST

Idrossiprolina/Creatinina (urina)-Calcio/Creatinina (urina)

Preparazione del paziente

Il paziente deve essere a digiuno dalle ore 23 del giorno prima dell'esecuzione del test.

Non è necessaria alcuna dieta particolare.

I pazienti devono essere informati sul tempo necessario per l'esecuzione del test (due ore).

Materiali per la raccolta delle urine

Un contenitore per urina.

Flacone di acqua distillata.

Modalità di raccolta delle urine

Al mattino il paziente vuota completamente la vescica e getta le urine.

Far bere al paziente 250 ml di acqua distillata. Il paziente non deve mangiare, né bere, né fumare.



Dopo 2 ore dall'assunzione dell'acqua distillata, il paziente raccoglie nel contenitore l'urina emessa.

TRH-Test (esame su appuntamento)

Preparazione del paziente

Il paziente deve essere informato della possibile comparsa di effetti collaterali della durata di 1-3 minuti: vampate di calore al volto, vertigini, moderata cefalea, impulso ad urinare e a defecare, malessere generale, nausea, raramente vomito, senso di oppressione toracica, sensazione di gusto amaro in bocca, aumento della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca.

Il test al TRH, pertanto, deve essere eseguito con cautela nei casi di aritmia cardiaca, insufficienza coronarica, ipertensione mal controllata, grandi tumori ipofisari, epilessia ed asma bronchiale.

La somministrazione per endovena deve essere eseguita molto lentamente.

Per questo test è necessario richiedere al paziente il consenso informato scritto.

Materiale per il test (Curva standard)

Provette tappo rosso, TRH da 200 mcg (una fiala da 1 ml), Soluzione fisiologica.

Modalità di prelievo

Il paziente deve stare a riposo per tutta la durata della prova.

Effettuare il primo prelievo prima di infondere la soluzione fisiologica (prelievo basale).

Raccordare il gocciolatore al butterfly e far scendere la flebo a goccia lenta (solo per il mantenimento della vena).

Iniettare molto lentamente (circa 1 minuto) nella vena controlaterale a quella di infusione 200 mcg di TRH (tempo 0).

Eeguire i prelievi successivi dopo 10', 20', 30', 45', 60', 90' dalla somministrazione del TRH, seguendo queste modalità:

- ad ogni prelievo staccare il raccordo dal gocciolatore e inserire la "campana".
- riempire completamente una provetta e gettarla via (contiene sangue diluito con fisiologica).
- riempire, quindi, le provette destinate al prelievo secondo i tempi prestabiliti.



La temporizzazione dei prelievi è modificabile secondo il parere del clinico.

URINE DELLE 24 H (raccolta)

Al risveglio del mattino precedente la consegna delle urine in Laboratorio, il paziente vuota completamente la vescica e getta le urine.

Da questo momento, e per le 24 ore successive, il paziente raccoglie nel contenitore tutte le urine comprese quelle emesse al risveglio del mattino successivo all'inizio della raccolta.

Durante il periodo della raccolta le urine devono essere conservate preferibilmente in frigorifero.

ANAEROBI

I materiali da utilizzare nella batteriologia anaerobica devono essere prelevati nella zona attiva di infezione avendo cura di evitare la contaminazione del campione e di ridurre al minimo il contatto con l'aria.

Per tale motivo i materiali clinici accettabili per colture anaerobiche sono i seguenti:

- aspirato transtracheale.
- aspirato da puntura polmonare diretta.
- sangue.
- liquido ascitico.
- liquido sinoviale.
- liquido seminale, prostatico.
- liquido pleurico.
- liquido cefalorachidiano.
- trasudati.
- midollo osseo.
- pus aspirato da ferite profonde o da ascessi.
- aspirato per culdocentesi, placenta, materiali settici abortivi.
- aspirato di urina vescicale per puntura sovrapubica.

I materiali probabilmente contaminati da flora normalmente presente sulle superfici muco-cutanee si considerano non accettabili per colture anaerobiche:

- escreato, bronco-aspirato.
- tamponi nasali, faringeo, tonsillare, auricolare.



- pus da ferite superficiali.
- secreto vaginale, cervicale, uretrale.
- urine emesse spontaneamente o dopo cateterismo.
- feci.

I materiali ottenuti per aspirazione possono essere trasportati nella stessa siringa usata per il prelievo dopo aver eliminato l'aria ed aver inserito un tappo di gomma nell'ago. La permanenza del materiale nella siringa non deve superare i trenta minuti poiché l'ossigeno diffonde gradualmente attraverso la parete di plastica; in alternativa i materiali aspirati devono essere trasportati in provette o flaconi non contenenti ossigeno.

Questi contenitori sono provvisti di chiusura ermetica in gomma, attraverso la quale il materiale viene iniettato direttamente dalla siringa e contengono un terreno di trasporto con agenti riducenti, che si combinano con l'ossigeno libero eventualmente introdotto, e un indicatore della presenza di ossigeno. I tamponi possono essere usati eccezionalmente per la raccolta dei materiali scarsi ed inseriti in provette contenenti terreno preridotto ed indicatore di ossigeno.

I dispositivi devono pervenire in laboratorio non oltre 48 ore dal prelievo, mantenuti durante il trasporto a temperatura ambiente.

EMOCOLTURA

Materiale per il prelievo

Adattatore Vacutainer per emocolture.

Ago a farfalla.

Flaconi sottovuoto contenenti brodo di coltura arricchiti specifici per aerobi e anaerobi.

Modalità di prelievo

Il prelievo di sangue deve essere molto accurato per evitare che si verifichi una contaminazione extravenosa.

Sgrassare la cute con alcol etilico 70% (o etere).

Disinfettare la cute con Clorexidina in soluzione alcolica per 2-4 minuti.

Rimuovere l'eccesso di disinfettante con alcol.

Preparare i flaconi per emocoltura rimuovendo il cappuccio e disinfettare con alcol.

Effettuare il prelievo senza toccare con le dita la zona disinfettata.



Per i neonati la quantità può essere ridotta a 1 ml.

Conservazione e trasporto

Inviare subito in laboratorio o conservare a 37°C.

Non conservare a basse temperature.

Note: L'emocoltura deve essere eseguita prima dell'inizio della terapia antibiotica. E' consigliabile effettuare tre prelievi consecutivi a distanza di 30 minuti dall'inizio del rialzo termico. I campioni devono essere incubati per un periodo minimo di 7 giorni; per germi particolari (es. brucella), il periodo deve essere esteso fino a 21 giorni.

ESPETTORATO

Materiale di raccolta

Recipiente sterile trasparente a bocca larga, con tappo a vite.

Modalità di raccolta

Eseguire il prelievo al mattino con il paziente a digiuno. Effettuare una pulizia del cavo orale e gargarismi con acqua distillata sterile.

Nei casi in cui l'escreato sia scarso, utilizzare una soluzione fisiologica sterile nebulizzata.

Raccogliere l'espettorato dopo un colpo di tosse nel contenitore.

L'espettorato deve provenire dalle basse vie respiratorie.

La quantità di espettorato da raccogliere deve essere almeno di 2 mL.

Conservazione e trasporto

I campioni di espettorato devono essere analizzati nel più breve tempo possibile; ove ciò non fosse possibile conservare a 4°C per non più di 2 ore dalla emissione.

Per la ricerca dei micobatteri, il campione può essere conservato a 4°C per 72 ore.

Note: L'espettorato non è idoneo per la ricerca dei batteri anaerobi. Nel sospetto diagnostico di infezione tubercolare o micotica sono necessari tre campioni raccolti in giorni successivi.

RICERCA EOSINOFILI FECALI

Materiale per la raccolta

Contenitore in plastica trasparente per coprocoltura.

Modalità di raccolta

Emettere le feci su una superficie asciutta e ben pulita.



Raccogliere il muco fecale (non feci) con il cucchiaino dell'apposito contenitore.
Note: L'assenza del muco rende impossibile l'esecuzione del test.

RICERCA EOSINOFILI NASALI

Materiale per il prelievo

Tamponi sterili/Vetrini.

Modalità di prelievo

Far soffiare il naso vigorosamente al paziente in modo da liberare la cavità nasali da eventuali secrezioni.

Inserire delicatamente un tampone per narice fino a portare l'estremità del tampone sul pavimento nasale.

Strisciare il muco presente sul tampone su 2 o più vetrini e lasciare asciugare il muco.

FECI (Esame colturale)

Vi sono due possibili modalità di prelievo:

1) RACCOLTA DELLE FECI

Materiale per la raccolta

Contenitore sterile.

Modalità di raccolta

- Emettere le feci su una superficie asciutta e ben pulita.
- Raccoglierne una parte con il cucchiaino dell'apposito contenitore e versarla nello stesso.
- Inviare il campione entro 2 ore dalla raccolta oppure inviare in terreni di trasporto (terreno di Stuart). In questo caso, dopo il prelievo del campione, porre il tampone nel contenitore contenente il terreno di Stuart e trasportare al laboratorio il più presto possibile. Il campione di feci, raccolto in tampone di trasporto, si conserva a temperatura ambiente per 48 ore.
- E' raccomandabile proteggere il campione dalla luce.
- Per la ricerca di Cl. Difficile, la semina deve avvenire entro 3-4 ore o conservare il campione a 2-4°C fino a 24 ore.

2) RACCOLTA CON TAMPONE DI TRASPORTO



Materiale per la raccolta

Pulire la zona anale con acqua calda, senza usare soluzioni disinfettanti.

Inserire il tampone nel canale rettale per circa 2 cm.

Lasciare inserito il tampone per 30 secondi ruotandolo contro le pareti mucose.

Rimuovere il tampone e inserirlo nel contenitore con terreno di trasporto.

Inviare il campione.

Il campione di feci, così raccolto, si conserva a temperatura ambiente per 48 ore.

Note: La raccolta delle feci è da preferirsi all'uso di tamponi rettali. La raccolta con tampone non è utilizzabile per la ricerca di Micobatteri, Adenovirus, Rotavirus, Yersinia, Criptosporidium.

FECI (Esame chimico-fisico e Microscopico)

Materiale per la raccolta

Contenitore trasparente a bocca larga con tappo a vite.

Modalità di raccolta

Prelevare campioni di feci appena emesse e non liquide (campione non idoneo) da almeno cinque punti della massa fecale e deporli nel contenitore.

Conservare il campione in frigorifero fino al momento della consegna in laboratorio.

FECI (Esame parassitologico)

Preparazione del paziente

Preferibilmente il paziente non dovrebbe assumere farmaci e non sottoporsi a clisteri prima di raccogliere il campione fecale.

Materiale di raccolta

Flacone per la raccolta delle feci (contenente formalina 10%).

Modalità di raccolta

Le feci devono essere emesse su una superficie asciutta e pulita.

Il paziente deve raccogliere, con il cucchiaino annesso al flacone, una parte delle feci dalla zona dove queste presentano muco o sangue.

Se le feci sono formate, raccoglierne una parte alla periferia e al centro.

Immettere le feci nel flacone, avvitare il tappo e agitare vigorosamente finché il materiale non risulti omogeneamente disperso.

Inviare il campione.



MICOBATTERI NELLE URINE (Ricerca diretta e colturale)

Materiale per la raccolta

Contenitore sterile per urina.

Modalità di raccolta

Raccogliere le urine emesse al mattino e conservare l'intera quantità in un contenitore sterile a temperatura di 4-8° C.

SCOTCH TEST

Materiale per il prelievo

Scotch trasparente, Vetrini

Modalità di prelievo

Effettuare l'esame al mattino, prima di lavarsi.

Utilizzare una striscia di scotch trasparente della lunghezza del vetrino, con la parte adesiva rivolta verso l'esterno.

Applicare lo scotch sulla zona circostante l'orifizio anale.

Trasferire lo scotch sul vetrino, facendo aderire il lato che è servito per eseguire l'esame.

Ripetere il procedimento per allestire un altro vetrino.

Inviare il campione.

Note: E' consigliabile valutare il test su tre campioni raccolti a giorni alterni.

SECRETO AURICOLARE

1) OTITE MEDIA ACUTA (con membrana perforata)

Materiale per il prelievo

Tampone sottile sterile.

Otoscopio.

Modalità di prelievo

Il prelievo è di competenza del medico specialista, salvo i casi con abbondante fuoriuscita di pus dal timpano perforato.

Inserire l'otoscopio e raccogliere con il tampone il materiale che fuoriesce dal timpano.

Inviare subito o utilizzare terreni di trasporto.

2) OTITE ESTERNA



Materiale per il prelievo

Tampone sottile sterile.

Modalità di prelievo

Prelevare il materiale con tampone sterile dal condotto uditivo esterno, toccando delicatamente solo la parte iniziale del condotto stesso.

Inviare subito.

Note: Per la raccolta del materiale che fuoriesce dal timpano è necessario utilizzare l'otoscopio perché raddrizzando la curvatura del condotto uditivo esterno, protegge il tampone durante l'inserimento.

Il tampone auricolare non è indicato nelle otiti medie a membrane timpaniche integre.

SECRETO CONGIUNTIVALE

Materiale per il prelievo

Un tampone con cotone sterile.

Modalità di prelievo

Bagnare il tampone con soluzione fisiologica sterile.

Raccogliere la secrezione della congiuntiva strofinandovi il tampone prima dell'installazione di anestetici e/o antibiotici.

Inviare immediatamente in laboratorio.

SECRETO VAGINALE

Preparazione del paziente

E' necessario evitare, dalla sera precedente l'esame, il bagno in vasca e l'introduzione in vagina di prodotti per l'igiene intima.

Non effettuare lavaggi esterni il mattino prima dell'esame.

La paziente non deve trovarsi nel periodo mestruale e nei due giorni successivi ad esso.

Materiale per il prelievo

Due tamponi con cotone sterili.

Due vetrini.

Modalità di prelievo

La paziente deve essere in posizione ginecologica.



Inserire uno speculum e raccogliere con il primo tampone la secrezione sulle pareti e sui fornici e sull'esocervice. Allestire due vetrini.

Per l'esame colturale generico (ricerca di Candida, Miceti, Neisseria g., Cocchi Gram positivi, Germi Gram negativi) con eventuale antibiogramma, eseguire con le stesse modalità un secondo tampone.

Se insieme al colturale generico vengono richieste ricerche specifiche (Trichomonas, Micoplasma e/o Ureoplasma, Clamidia) eseguire im prelievi con le seguenti modalità:

Trichomonas: 1 tampone

Attenersi alle precedenti modalità di prelievo. Strisciare il primo tampone su un vetrino, aggiungere una goccia di soluzione fisiologica sterile e mettere un coprioggetto.

Inserire il secondo tampone nell'apposito flacone con alcune gocce di soluzione fisiologica sterile.

Micoplasma e Clamidyia: 1 tampone

Prelevare sull'endocervice previa rimozione di muco se presente in eccesso. Inserire il tampone nell'apposito flacone con alcune gocce di soluzione fisiologica sterile.

SECRETO URETRALE

Viene effettuato presso l'ambulatorio di urologia per i pazienti di sesso maschile e presso l'ambulatorio di ginecologia per i pazienti di sesso femminile.

SECRETO URETRALE FEMMINILE

Preparazione della paziente

Il prelievo deve essere eseguito prima dell'inizio di qualsiasi terapia.

Non devono essere effettuati lavaggi esterni il mattino prima dell'esame.

Materiale per il prelievo

Un tampone sterile per l'esame batterioscopico.

Un tampone sterile per l'esame colturale generico.

Vetrini.

Modalità di prelievo

La paziente deve essere in posizione ginecologica.



Raccogliere il secreto con un tampone strisciando il meato uretrale esterno. Entrare poi nel canale uretrale per 1 cm circa e roteare il tampone. Allestire un vetrino. Se oltre l'esame colturale generico (ricerca di miceti, Neisseria, germi gram positivi e negativi) è richiesta la ricerca di Micoplasma e/o Ureaplasma e Clamidia è necessario un secondo tampone. Inviare subito il tampone e il vetrino.

SECRETO URETRALE MASCHILE

Preparazione del paziente

Il prelievo deve essere effettuato preferibilmente al mattino prima della minzione. Non devono essere effettuati lavaggi esterni prima del prelievo.

Modalità di prelievo

Raccogliere il secreto con un tampone strisciando il meato uretrale esterno. Entrare poi nel canale uretrale per 1 cm circa e roteare il tampone. Allestire un vetrino.

Per l'esame colturale generico (ricerca di miceti, Neisseria, cocchi gram positivi, germi gram negativi) eseguire allo stesso modo un secondo tampone.

Inviare subito il tampone e il vetrino.

N.B.: Se è richiesta la ricerca del Micoplasma e/o Ureoplasma, effettuare un prelievo con un terzo tampone sterile con le stesse modalità del colturale generico.

E' necessario un quarto tampone se l'indagine prevede la ricerca della Clamidia.

Un ulteriore tampone è necessario per la ricerca del *Trichomonas*.

TAMPONE FARINGEO

Materiale per il prelievo

Tampone sterile in dacron.

Tampone con terreno di trasporto.

Abbassalingua.

Modalità di prelievo

Con l'aiuto di un'abbassalingua sterile comprimere delicatamente la lingua, applicare il tampone direttamente sulla sede interessata evitando il contatto con la lingua e le arcate dentarie.

Assicurarsi che il tampone si imbibisca del materiale patologico della lesione premendo sulle cripte tonsillari.



Non eseguire il tampone se vi è il sospetto di una epiglottite, in quanto il prelievo può scatenare una grave ostruzione delle vie superiori.

Conservazione e trasporto

Conservare a temperatura ambiente ed inviare in laboratorio il campione entro 1 ora.

Se si prevede di impiegare più tempo, utilizzare un tampone con terreno di trasporto (terreno di Stuart).

In questo caso, dopo il prelievo del campione, porre il tampone nel contenitore contenente il terreno di Stuart e trasportare al laboratorio il più presto possibile.

Il trasporto, comunque, deve avvenire entro le 24 ore a temperatura ambiente.

E' raccomandabile proteggere il campione dalla luce.

Nel caso di ricerca di N. Meningitidis, inviare in laboratorio immediatamente e non congelare.

URINOCOLTURA

RACCOLTA MEDIANTE MITTO INTERMEDIO

Sesso femminile

Lavarsi le mani con acqua e sapone ed asciugarsi.

Lavare accuratamente con acqua e sapone l'orifizio dell'uretra e la zona circostante, sciacquarsi con acqua ed asciugarsi.

Tenere divaricate le grandi labbra durante la minzione.

Emettere la prima parte delle urine senza raccoglierla.

Raccogliere direttamente nel recipiente sterile la seconda parte (non più di 10-15 ml).

Richiudere accuratamente il contenitore in modo che l'urina non fuoriesca.

Sesso maschile

Lavarsi le mani con acqua e sapone ed asciugarsi.

Retrarre il prepuzio, lavare accuratamente con acqua e sapone l'orifizio dell'uretra e la zona circostante, sciacquarsi con acqua ed asciugarsi.

Tenendo retratto il prepuzio emettere la prima parte delle urine senza raccoglierla.

Raccogliere direttamente nel recipiente sterile la seconda parte.

Richiudere accuratamente il contenitore in modo che l'urina non fuoriesca.



Neonati

Per i bambini piccoli un sacchetto in plastica sterile adesivo.

Detergere con acqua e sapone i genitali esterni e la regione circostante, lavare bene con acqua ed asciugare.

Applicare il sacchetto facendolo aderire alla zona intorno ai genitali.

Se dopo circa 30 minuti non si è verificata la minzione, rimuovere il sacchetto e provvedere alla sostituzione ripetendo il lavaggio.

Appena avvenuta la minzione rimuovere il sacchetto, travasare con attenzione le urine in un contenitore sterile e consegnare al laboratorio.

Note: Se non è possibile consegnarlo subito in laboratorio il campione può essere conservato a temperatura di circa 4°C (massimo per 2 ore).

TRI TEST (Istruzioni per le pazienti)

Il TRI TEST si esegue mediante un prelievo di sangue da effettuarsi tra le 15° e la 20° settimana di gestazione (optimum 16°C).

Il giorno stabilito per il prelievo la paziente deve essere munita, oltre che dell'impegnativa debitamente autorizzata, di una ecografia che consenta una esatta datazione della gravidanza.

I dati ecografici ed altri dati clinici dovranno essere trascritti, a cura del medico richiedente, su di un apposita scheda.

AGOASPIRATO

Non è prevista alcuna preparazione.

Propedeutico all'esame è l'espletamento della procedura amministrativa legata all'identificazione del paziente con contestuale rilascio del suo "Consenso informato".

Materiale per il prelievo:

- 1 siringa da 20 ml/50 ml
- Disinfettante
- Vetrini smerigliati e/o a banda sabbiata
- Fissativo

Modalità di prelievo campione e metodo utilizzato.

Attività propedeutica:

- Verifica degli esami diagnostici ed ecografici eseguiti a corredo, relativi all'organo in cui è presente la lesione su cui effettuare il prelievo.



Prelievo:

- Identificazione della lesione ed introduzione successiva dell'ago sottile fino alla penetrazione nella neoformazione;
- Blocco dell'ago con una mano e aspirazione con l'altra:
 - se l'aspirazione è su lesione liquida: si fissa il contenuto direttamente in alcool o formalina;
 - se l'aspirazione è su lesione solida: si striscia su un vetrino allestito precedentemente con tutti i dati identificativi del paziente specificando la sede della lesione da aspirare. Dopo l'aspirazione, si procede alla fissazione con Citofix o equivalente.



ELENCO DEGLI ESAMI ESEGUIBILI

L'elenco completo delle prestazioni erogabili è contenuto nell'Allegato 1 "Elenco degli esami eseguibili".

CONSULENZA DI INTERPRETAZIONE DI RISULTATI

L'Utente può richiedere la consulenza di interpretazione di risultati al Direttore Tecnico o, in sua assenza, ai Responsabili Settori Analitici. I richiedenti possono essere clienti che si recano di persona al Centro Diagnostico Morgagni per ritirare le analisi ed, in quell'occasione, chiedono la consulenza, oppure pazienti che, per telefono chiedono spiegazioni. La consulenza viene fatta oralmente tutte le volte che ne sia fatta richiesta e, comunque, durante l'orario di apertura al pubblico. Un'eventuale consulenza medica può essere eseguita previo appuntamento, anche telefonico.

INFORMAZIONI DETTAGLIATE SU PARTICOLARI TIPOLOGIE DI ESAMI

17-ALFA IDROSSI-PROGESTERONE

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Deriva dal Progesterone e viene in seguito metamolizzato a 11-Desossicortisolo, oppure a Delta-4-Androstenedione.

I livelli plasmatici del 17-Alfa-OHP variano in relazione alle fasi del ciclo.

In caso di deficit enzimatico, la mancata idrossilazione del 17-OHP provoca una diminuzione della sintesi del cortisolo con conseguente aumento dell'ACTH.

I livelli di 17-OHP sono particolarmente elevati in caso di deficit della 21-idrossilasi, la più comune causa di sindrome surreno-genitale

Esami collegati: FSH-17-beta, Estradiolo, Progesterone, Prolattina, Testosterone, Dheas, Androstenedione, DHT.

ACA (ANTIC. ANTI CARDIOLIPINA)

SINONIMI E RIMANDI: AAC ANTIC. ANTICENTROMERO

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Aumenta in pazienti affetti da Lupus, trombosi spontanea, aborti spontanei, infarto placentare. Falsi positivi si possono avere in pazienti luetici e dopo somministrazione di numerosi farmaci (antibiotici, contraccettivi ecc.).

**ACE (ENZIMA CONVERTITORE DELL'ANGIOTENSINA)**

Metodo: enzimatico UV	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Agisce come una peptidasi sull'Angiotensina I per formare Angiotensina II. Le cellule che producono ACE sono i macrofagi e le cellule epitelioidei.

Aumenta nella Sarcoidosi attiva e nella malattia di Gaucher e nella lebbra.

Diminuisce nelle malattie granulomatoze e nella Sarcoidosi inattiva.

ACIDO 5-IDROSSINDOLACETICO (URINARIO)**SINONIMI E RIMANDI (5-HIAA)**

Metodo: HPLC	Campione: urine 24 ore + 10 ml di HCl al 25% (inviare 50 ml indicando la diuresi)
Tempo di refertazione: 10 gg	Dieta: povera di banane, vaniglia, cioccolato, caffè, tea, verdure, noci melanzane, pomodori e prugne

Note:

Il 5-HIAA rappresenta il principale metabolita della Serotonina, una amina derivante dal triptofano. La Serotonina viene prodotta in eccesso dalla maggior parte dei tumori corticoidi. In particolare quelli localizzati nell'albero bronchiale o metastatizzati producono la sindrome carcinoide (con flushing, epatomegalia, diarrea, broncospasmo e cardiopatia) poiché riversano il loro contenuto direttamente nel circolo sistemico.

In caso di cibi contenenti Serotonina o farmaci produttori metabolici che reagiscono con il nitrososulfato, sostanza utilizzata per il dosaggio, può determinarsi una falsa positività.

I farmaci interferenti con il dosaggio sono: salicilati, la fenacetina, gli sciroppi per la tosse (a base di guaiacolato), il naproxene, altri infiammatori non steroidei, il metacarbamolo, la imipramina, l'isoniazide, gli inibitori della MAO, la metildopa, le fonotiazine. Tutti i farmaci devono essere sospesi nelle 72 ore precedenti la raccolta delle urine.

ACIDO FOLICO**SINONIMI E RIMANDI: FOLATI**

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o citratato di sodio)
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

E' coinvolto nella biosintesi delle purine e nell'introduzione di un gruppo metilico nell'anello delle pirimidine, funzioni essenziali per la produzione di DNA e di RNA. Il 20% dei folati assorbiti giornalmente deriva dalla dieta; il rimanente viene sintetizzato dalla flora batterica intestinale.

La carenza di folati è una evenienza rara e può riscontrarsi in gravidanza o negli alcolisti o anche nella eccessiva utilizzazione come accade nelle epatopatie, nelle malattie emolitiche e nei tumori. Inoltre fanno diminuire i livelli sierici di folati la dilantina, i barbiturici, la nitrofurantidina, l'emodialisi ed il methotrexate e l'assunzione di estro-progestinici.



La deficienza di folati nell'uomo è spesso associata a macrocitosi ed anemia megaloblastica. In caso di anemia macrocitica è opportuno eseguire anche il dosaggio della vit. B12. Recentemente la carenza di folati è stata associata anche alle malattie cardiovascolari (trombosi arteriose e venose) dovute all'aumento della Omocisteina, provocata dal deficit stesso.

I livelli aumentano nella dieta vegetariana, deficit di vit B12.

Il paziente deve essere a digiuno da almeno 8 ore e non deve essersi sottoposto di recente ad esame radioisotopico

Esami collegati: Ferritina, Sideremia, Vit. B12, Emocromo, Transferrina, Omocisteina.

ACIDO VANILMANDELICO

SINONIMI E RIMANDI: (VMA-AVM)

Metodo: cromatografico spettrofotometrico	Campione: urine delle 24 ore+ 10ml di HCL al 25%
Tempo di refertazione: 10 giorni	

Note:

E' il principale e più abbondante metabolita urinario delle catecolamine proveniente in massima parte dalla noradrenalina secreta e metabolizzata a livello delle terminazioni nervose. Rappresenta l'indice biochimico principale della presenza di un feocromocitoma. Utile anche per la diagnosi ed il follow-up di neuroblastomi, ganglioneuromi, ganglioneuroblastomi. Alcuni pazienti con neuroblastoma sono positivi per l'ac. Omovanilico urinario, ma senza presentare alti livelli urinari di VMA.

Lo stress e l'esercizio fisico durante il periodo di raccolta delle urine possono modificare i risultati dell'esame.

Nelle 72 ore che precedono il test devono essere esclusi i seguenti alimenti: banane, noccioline, cereali, grano, the, caffè, gelatine, frutti a base di citrato, cioccolato, vaniglia, formaggio, frutti canditi.

Sospendere gli inibitori della MAO, l'alfa-metildopa, il clofibrato, la chinidina prima dell'esecuzione del test.

Esami collegati: Catecolamine urinarie, Renina, ACE, Aldosterone.

ACIDO URICO

Metodo: enzimatico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche su plasma)
Tempo di refertazione: 2 gg	

ACIDO VALPROICO

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Si ritiene che agisca aumentando, a livello cerebrale, la concentrazione di neurotrasmettitore inibitorio acido gamma- aminobutirrico. L'Acido Valproico viene utilizzato nella terapia di diversi tipi di epilessia (grande male, piccolo male, epilessia mioclonica). Viene



somministrato in una-quattro dosi/die raggiungendo la massima concentrazione plasmatica in 1-3 ore per la somministrazione per sciroppo, ed in 4 ore per la somministrazione in compresse. L'emivita del farmaco è di 6-8 ore. In caso di sovradosaggio può determinare effetti tossici quali: nausea, sedazione, epatotossicità, tremore ed assenza di coordinamento, coagulopatia e pancreatite.

La cirrosi e le epatopatie in genere causano una diminuzione del legame con le proteine, aumentando il volume di distribuzione ed il tempo di dimezzamento del farmaco.

L'ipoalbuminemia può determinare un aumento delle concentrazioni di acido valproico libero. L'acido interferisce con la fenitoina, la carbamazepina, il fenobarbitale, il primidone.

Durante la terapia con acido valproico vanno monitorizzate:

- le transaminasi;
- le piastrine;
- i parametri della coagulazione.

Il farmaco, se somministrato ad alte dosi, può inibire l'aggregazione piastrinica ed essere epatotossico.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

E' consigliabile il digiuno. L'acido valproico è volatile e quindi si deve fare attenzione a non lasciare la provetta di siero aperta.

Esami collegati: Fenitoina, Fenobarbitale, Carbamazepina.

ACTH (ORMONE ADRENOCORTICOTROPO)

Metodo: Chemiluminescenza	Campione: 0.5 ml di plasma EDTA non emolizzato né lipemico (congelare immediatamente)
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

L' ACTH (ormone adrenocorticotropo) è sintetizzato dalle cellule corticotrope dell'ipofisi anteriore a partire da un precursore proteico definito Pro-opio-melanocortina (POMC).

Controlla l'attività secretoria della corteccia surrenale sotto il diretto controllo del peptide ipotalamico CRH e del cortisolo surrenalico. L'ACTH presenta un ritmo circadiano di secrezione con massima produzione al mattino tra le 6 e le 8. Vari sono i fattori che possono stimolare la produzione di ACTH:

- bassi livelli di glicorticoidi;
- vari stress (esercizio fisico, stati ansiosi, dolore, anestesia);
- ipoglicemia;
- pirogeni batterici;
- vasopressina.

Nella sindrome di Cushing, i valori di ACTH non presentano caratteristiche particolari a differenza dei livelli aumentati di cortisolo plasmatico con perdita del ritmo circadiano.

Valori alti di ACTH si riscontrano invece nella sindrome da produzione ectopica associata ad alti valori di cortisolo. Nel morbo di Addison in seguito alla distruzione del tessuto surrenalico la concentrazione plasmatica dell'ACTH risulta aumentata mentre i valori di cortisolo diminuiscono notevolmente.

Nell'insufficienza surrenalica secondaria a malattie sistematiche i livelli di ACTH e cortisolo sono entrambi bassi.



Nella sindrome adrenogenitale ed in caso di carcinoma bronchiale i livelli di ACTH sono aumentati.

Campione: plasma (usare solo provetta con EDTA).

Il campione deve essere tenuto in ghiaccio e consegnato nel più breve tempo possibile al laboratorio (poiché nel plasma vi sono delle peptidasi che distruggono rapidamente l'ormone). Consigliabile il digiuno da almeno 12 ore.

Esami collegati: Cortisolo, 11-deossicortisolo, 17-idrossicorticosteroidi urinari.

AGGREGAZIONE PIASTRINICA

L'Aggregazione Piastrinica può essere valutata tramite l'aggiunta di agenti aggreganti (ADP, Epinefrina, Collagene Acido Arachidonico e Trombina) al plasma ricco di piastrine. L'aggregazione piastrinica conseguente rappresenta un indice diretto della funzionalità piastrinica stessa.

L'ADP è immagazzinato in alcuni organuli piastrinici dai quali viene normalmente rilasciato durante la formazione del coagulo.

Il collagene invece non è presente nelle piastrine, ma costituisce gran parte del tessuto connettivo del sistema vascolare e viene considerato il primo fattore proaggregante o procoagulante che porta alla formazione di un trombo o di un tappo emostatico.

L'esame è indicato nel sospetto di una malattia di Von Willebrand (**aggregazione alla ristocetina**), di Glanzmann, nella sindrome di Bernard-Soulier e nella malattia del pool di deposito. L'esame non è indicato nelle trombofilie, né può dare informazioni sulla iperattività piastrinica. L'acido acetilsalicilico, gli antistaminici, il clorodiazepam, il clofibrato, cocaina, corticosteroidi, diazepam, dipiradamolo, furosemide, gentamicina, indometacina ed antinfiammatori non steroidei, marijuana, fenotiazine, fenilbutazone, propanolo, composti della piramidina, sulfonpirazone, teofillina, antidepressivi triciclici possono inibire l'aggregazione piastrinica falsando i risultati. Il numero e la diffusione dei farmaci interferenti fanno capire quanto attenta debba essere l'anamnesi del paziente (è consigliabile ricordare al paziente i nomi commerciali dei più comuni FANS).

Campione: plasma ricco di piastrine (3 provette con citrato di sodio facendo attenzione a rispettare le proporzioni fra anticoagulante e sangue). Massima deve essere l'accortezza nel prelievo che deve essere il meno traumatico possibile (possibilmente senza laccio).

Non è possibile eseguire il test su plasma emolizzato o lipemico. Poiché è necessario un buon recupero piastrinico non è possibile eseguire il test in pazienti piastrinopenici.

Esami collegati: Tempo di sanguinamento, dosaggio del vWF.

ALBUMINEMIA

L'Albumina costituisce il 60% delle sieroproteine e può legarsi ad acqua, Ca^{++} , Na^{+} , acidi grassi, bilirubina, ormoni e farmaci e trasportarli nel circolo sanguigno. Indispensabile nella regolazione della pressione osmotica del sangue; di conseguenza, se la concentrazione dell'albumina si riduce, si creano le condizioni per un flusso di liquidi dal compartimento intravascolare a quello extravascolare. L'albumina aumenta nei casi di disidratazione.

Un referto di iperalbuminemia può essere artificialmente causato da problemi legati alle modalità del prelievo, come quando il laccio emostatico viene mantenuto per molto tempo prima del prelievo.

Diminuisce invece in caso di:

- somministrazione di preparati e.v.;



- rapida idratazione;
- iperidratazione;
- cirrosi ed insufficienza epatica;
- alcolismo cronico;
- gravidanza;
- uso di contraccettivi orali;
- in caso di patologie neoplastiche;
- sindrome nefrosica;
- patologie tiroidea;
- prolungata immobilizzazione;
- digiuno prolungato;
- malassorbimento;
- malnutrizione;
- stati catabolici cronici.

Possono interferire con il dosaggio elevando i livelli di albumina nel siero: ACTH, corticosteroidi, clofibrati, destrano, GH, eparina, preparazioni di tiroide.

Possono causarne un decremento: ioni ammonio, contraccettivi orali, salicilati e pirazinamide.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante). Consigliabile il digiuno da almeno 8 ore.

Esami collegati: Proteine totali, QPE.

ALBUMINURIA

L'Albumina è, in condizioni normali, la frazione proteica capace di passare attraverso il filtro renale e di pervenire nelle urine. Il test è utile in caso di ipoalbuminemia. Un'errata raccolta e conservazione delle urine delle 24 ore può interferire con il dosaggio. Informare i pazienti sul modo corretto di raccogliere le urine delle 24 ore.

ALCOOLEMIA

L'alcool etilico è probabilmente la sostanza di cui si fa più comunemente abuso nel mondo.

E' dotato di una varietà di azioni sul SNC che vanno dalla eccitazione-euforia (a basse concentrazioni) alla sedazione fino alla anestesia. Negli Stati Uniti la definizione legale di ubriachezza prevede un tasso di etanolo nel sangue pari a 100 mg/dL. In Italia lo stato di ebbrezza è definito da un'alcoolemia superiore a 80 mg/dL.

Campione: la determinazione dell'alcool può essere eseguita su sangue, urine ed aria espirata.

La provetta di sangue deve rimanere chiusa (per la volatilità della sostanza).

L'esame può essere eseguito anche a distanza di tempo poiché nel sangue non vi sono enzimi in grado di metabolizzare queste molecole.

Il test può essere effettuato:

- cromatografia (che permette di quantificare ed identificare e quantificare l'alcool etilico ed altri tipi di alcool);
- metodo enzimatico, che quantifica tutti gli alcoli presenti senza possibilità di identificazione:
 - del metanolo, derivato dalla fermentazione del legno;
 - dell'isopropanololo, utilizzato come disinfettante topico;
 - del glicole etilenico, utilizzato come antigelo.



ALDOLASI

Metodo: cinetico	Campione 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

L'Aldolasi è un enzima della via glicolitica. E' presente in tutti i tessuti ed il suo livello sierico aumenta in tutte le condizioni di danno cellulare specie di natura ischemica.

Per l'ampia diffusione tissutale non presenta un'elevata specificità, mentre è molto sensibile per danno cellulare. E' stato usato per valutare l'entità del danno tissutale nelle malattie muscolari infiammatorie.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: LDH, CK, Mioglobina.

ALDOSTERONE

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (è possibile anche l'uso di plasma EDTA) N.B. indicare la posizione del paziente
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

L' Aldosterone è il principale ormone mineralcorticoide prodotto dal surrene. La secrezione di aldosterone è essenzialmente regolata dal sistema renina-angiotensina, ma un ruolo importante è anche svolto dall'ACTH, dal GH e dai livelli di sodio e potassio plasmatici. L'iperaldosteronismo primario è caratterizzato da ipertensione con perdita renale di potassio.

La postura, lo stress e la gravidanza aumentano i livelli di aldosterone. La terapia con diuretici, apresolina e nitroprusside, può fare aumentare i livelli dell'ormone. Le variazioni del sodio nella dieta possono influire sui livelli plasmatici di aldosterone. La terapia prolungata con eparina, propanolo e fluoridrocortisone, può diminuire i livelli sierici di aldosterone. I valori di aldosterone di iperaldosteronismo primario devono essere correlati con l'evidenza di ipertensione e ipocalcemia. Anche i livelli di renina plasmatica bassi possono essere indicativi di iperaldosteronismo primario. L'iperaldosteronismo secondario può essere presente:

- nello scompenso cardiaco congestizio;
- nella cirrosi;
- nella nefrosi;
- in caso di iperpotassiemia;
- nella tossiemia gravidica;
- nella sindrome di Bartter;
- in tutti gli stati patologici in cui esiste una concentrazione del volume plasmatico.

Per una corretta valutazione e per la diagnosi di iperaldosteronismo è indispensabile il dosaggio contemporaneo della renina che, a sua volta, risulta:

- alta nell'iperaldosteronismo primario;
- bassa nell'aldosteronismo secondario.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante) o plasma.

L'ingestione di liquidi ed i farmaci che influenzano i livelli di aldosterone (diuretici, antipertensivi, estroprogestinici) debbono essere interrotti 2 settimane prima del prelievo.



Nelle 4 settimane che precedono il prelievo il paziente deve seguire una dieta a normale contenuto di sodio.

Esami collegati: ACTH, GH, Catecolamine Urinarie, Renina, Acido Vanilmandelico.

ALFA-1 ANTITRIPSINA

Metodo: RID	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

L'Alfa-1-Antitripsina è una glicoproteina sintetizzata dal fegato capace di azione inibente sulla attività della tripsina e di altri enzimi proteolitici quali la chimotripsina, la trombina, l'elastasi. Il deficit di AAT può essere sospettato quando ci si trovi di fronte ad un'assenza o ad una notevole riduzione della banda in zona α_1 dopo migrazione elettroforetica. Il deficit di AAT può provocare un precoce enfisema polmonare e cirrosi epatica. Essendo una proteina della fase acuta, valori elevati di Alfa 1-antitripsina si possono riscontrare in caso di edema angioneurotico ereditario, patologia gastriche ed epatiche, pancreatiti, diabete, carcinomi, patologie renali, patologie reumatiche. Lo stress, l'esercizio fisico, la gravidanza, i contraccettivi orali, le patologie polmonari croniche, possono fare aumentare i livelli sierici.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Il paziente deve essere a digiuno da almeno 8 ore prima di eseguire il test. Si raccomanda la sospensione dei contraccettivi orali almeno 24 ore prima del test.

Esami collegati: Proteine della fase acuta.

ALFA FETOPROTEINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: liquido amniotico e 1 ml di siero (è possibile anche su plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

L'Alfafetoproteina è una glicoproteina prodotta dall'embrione durante il periodo di sviluppo fetale. Alla nascita e nel corso della vita adulta è presente in concentrazioni molto basse nel sangue. Può essere utilizzata sia come marker tumorale sia nel monitoraggio della gravidanza. A partire dalla tredicesima settimana di gravidanza i suoi livelli cominciano ad aumentare. Valori superiori alla norma possono indicare anomalie a carico del sistema nervoso del feto.

Insieme al CEA è uno dei marker tumorali "storici". Ormai ha perso gran parte della sua utilità dopo l'uscita di markers tumorali più recenti quali il CA19-9, il TPA ed altri. Si può trovare aumentato in corso di carcinoma epatocellulare e in tumori a cellule germinative.

Può essere aumentato in corso di patologie epatiche benigne.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: CEA, Ca19-9, TPA, Tritest.

ALFA-1 GLICOPROTEINA ACIDA (AAG O OROSOMUCOIDE)

Metodo: immunoturbidimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

**Note:**

E' una proteina di peso molecolare di 41 D con un punto isoelettrico molto acido compreso tra 2.7 e 3.5. E' molto glicosilata e il 37% del suo peso è dato da carboidrati. E' sintetizzata nel fegato. E' una proteina della fase acuta e come tale viene ricercata nella diagnosi di infiammazione.

Valori aumentati si riscontrano in caso di reumatismo articolare acuto, artrite reumatoide, infarto del miocardio, tubercolosi, glomerulonefrite acuta, ittero ostruttivo, in molti tumori ed emopatie maligne.

Valori diminuiti si riscontrano in caso di cirrosi ed in caso di nefrosi.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Emocromo, VES, altre proteine della fase acuta.

AMILASI

Metodo: EPS FL IFCC	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

L'Amilasi è un enzima digestivo capace di scindere oligosaccaridi e polisaccaridi in composti più piccoli (disaccaridi). L'amilasi sierica è principalmente prodotta nel pancreas e nelle ghiandole salivari. Un aumento dei livelli sierici di Amilasi è nella maggior parte di origine pancreatico. Nella pancreatite acuta i suoi livelli aumentano entro 6-24 h e tornano nella norma entro 2-7 giorni. Rispetto ai livelli sierici, l'incremento dell'amilasi urinaria (l'amilasi passa facilmente il filtro renale a causa del suo basso p.m.) in caso di pancreatite persiste per più tempo. L'amilasemia può salire di 2-3 volte in caso di insufficienza renale senza significato clinico. In questo caso dirimente risulta la determinazione della lipasi.

In alcuni soggetti possono formarsi in circolo dei complessi fra amilasi e molecole di grandi dimensioni. Ciò impedisce l'eliminazione dell'amilasi attraverso l'emuntorio renale con un aumento inspiegato dell'amilasi sierica.

Questa condizione, definita come **macroamilasemia**, deve essere comunque diagnosticata mediante la determinazione della lipasi e dell'amilasuria.

Un'aumento della amilasi può instaurarsi anche:

- nelle lesioni infiammatorie delle ghiandole salivari;
- ulcera peptica perforata;
- ostruzione intestinale;
- calcoli biliari;
- aneurisma dell'aorta;
- peritonite;
- appendicite acuta;
- traumi cerebrali;
- scottature;
- shock traumatico;
- carcinoma della testa del pancreas (rilievo tardivo);
- scialoadeniti.

Una lieve variazione si verifica in caso di ascesso tubo-ovarico.

La iperamilasemia può associarsi all'ipertiroidismo. Livelli aumentati di amilasemia possono riscontrarsi durante la gravidanza e negli alcolisti. Morfina, codeina, clorotiazina, pentazocina,



corticosteroidi, contraccettivi orali, pancreozimina, secretina possono elevare i livelli di amilasi.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante) o urine.

Attenzione alle contaminazioni con la saliva. Sospendere l'assunzione di alcoolici e farmaci interferenti con il dosaggio dell'enzima.

Esami collegati: Lipasi, Helicobacter pilori, Gastrina, Ca19-9.

AMMONIEMIA

Metodo: cromatografico	Campione: sangue intero con EDTA o eparina conservato subito in ghiaccio. Separare entro 30 minuti dal prelievo centrifugando in provetta chiusa (conservare il plasma per un massimo di 1-2 ore a 0°C)
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

Rappresenta il prodotto di rifiuto del catabolismo proteico. E' potenzialmente tossico per il SNC. L'Ammoniemia è un indicatore di encefalopatia epatica e coma epatico negli stadi terminali della cirrosi epatica. E' aumentata anche nelle seguenti condizioni:

- uremia;
- infezioni del tratto urinario con stasi;
- sindrome di Reye;
- errori congeniti del metabolismo compresi deficit enzimatici nel ciclo dell'urea;
- sindrome da iperornitinemia-iperammoniemia-iperitrullinuria;
- nutrizione parenterale;
- ureterosigmoidostomia;
- terapia con sodio valproato.

Campione: il test va eseguito su plasma eparinizzato (provetta con tappo verde) ed il campione deve essere trasportato al laboratorio appena possibile in ghiaccio.

Una glicemia di 600 mg/dL può causare un decremento da 8 a 30 $\mu\text{mol/L}$ nell'apparente concentrazione dell'ammonio. Il paziente deve rimanere a digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test. Sospensione del fumo nelle 48 ore che precedono il test.

Esami collegati: Test di funzionalità epatica e renale.

3-ALFA ANDROSTENEDILOLO

Il 3-Alfa-Androstanediolo deriva dalla metabolizzazione del testosterone tramite la 5-alfa-reduttasi. E' di notevole aiuto nella diagnosi dell'irsutismo idiopatico.

E' preferibile eseguire il prelievo tra l'ottavo e l'undicesimo giorno del ciclo. Non è indispensabile il digiuno.

Esami collegati: FSH, 17-beta-Estradiolo, Progesterone, Prolattina, Testosterone, LH, Androstenedione, DHT.



ANCA (ANTICORPI CONTRO IL CITOPLASMA DEI NEUTROFILI)

Metodo: immunofluorescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Gli anticorpi contro il citoplasma dei neutrofili sono quelli diretti contro la Proteinasi 3 e la mieloperossidasi (anti-PR3 e MPO). Solo di recente essi sono stati messi in relazione alle Vasculiti:

- nel 1982 è stata individuata la loro associazione con la glomerulonefrite necrotizzante;
- nel 1985 con la malattia di Wegener;

in seguito sono stati associati con:

- la sindrome di Churg-Strauss;
- la poliartrite;
- la micropoliarterite;
- la "overlap syndrome" poliangiolitica.

Il test di Immunofluorescenza indiretta (IFI), di comune impiego, può essere clinicamente insufficiente sia perché si possono avere pattern aspecifici o pseudopositivi, sia perché la risposta è soggettiva e non quantificabile, ma soprattutto perché i pattern IFI si associano soprattutto agli anti-PR3, ma solo ad una parte degli anti-MPO. Con le nuove metodiche immunoenzimatiche sono aumentate notevolmente sia la sensibilità (66.6%) che la specificità (86%), ma soprattutto vengono rilevati tutti gli anticorpi anti-MPO.

Inoltre la possibilità di quantificazione permette l'uso di questo test nel follow-up delle vasculiti.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

ANTIBIOGRAMMA

La determinazione della sensibilità in vitro dei batteri responsabili di infezione rappresenta una tappa molto importante dell'esame microbiologico perché mette a disposizione una informazione atta ad istituire la terapia antibiotica più idonea. Gli agenti antibatterici possiedono infatti vari spettri di attività e, per contro, i microrganismi si possono presentare sensibili e resistenti a varie classi di antibiotici, così come una percentuale di essi può modificare nel tempo la propria sensibilità verso un agente antibatterico.

Un aspetto estremamente importante per una corretta terapia antibiotica è infine la conoscenza della farmacocinetica del farmaco in questione e della concentrazione che tale farmaco raggiunge nella sede dell'infezione.

In definitiva sono tre i parametri fondamentali che devono essere studiati e correlati ai fini della scelta della terapia e anche del dosaggio appropriato:

- la conoscenza dell'agente patogeno responsabile del processo infettivo;
- la conoscenza della sensibilità agli antibiotici di tale agente patogeno;
- la distribuzione del farmaco nell'organismo.

L'antibiogramma rappresenta il metodo più semplice ed economico per saggiare la sensibilità in vitro di un batterio verso un antibiotico. Merito della standardizzazione tecnica di tale metodica, resa applicabile pressochè a tutti i batteri e a tutti gli antibiotici, ad esclusione degli anaerobi, è degli autori americani Kirby e Bauer che negli anni '60 misero a punto il



metodo che porta il loro nome. L'antibiogramma consente di testare antibiotici diversi che vengono selezionati in base alla sede dell'infezione e/o al batterio in esame. Il diametro di inibizione da solo non è espressione di sensibilità nel senso che l'antibiotico con l'alone maggiore non è necessariamente il più attivo ma va interpretato in relazione agli studi di correlazione e regressione con le concentrazioni minime inibenti (CMI).

L'antibiogramma offre in definitiva dei risultati qualitativi il cui significato può essere così interpretato:

- un risultato di sensibilità indica che le concentrazioni ematiche dell'antibiotico raggiunte in seguito a somministrazione di dosaggi terapeutici superano il valore delle CMI e quindi sono in grado di esplicare la propria azione antibatterica;
- un risultato intermedio indica che occorrono probabilmente dosaggi più elevati di quelli abitualmente terapeutici;
- un risultato di resistenza indica che gli usuali dosaggi non sono utili per inibire la crescita batterica.

CONCENTRAZIONE MINIMA INIBENTE

Si definisce concentrazione minima inibente (CMI) la concentrazione più bassa di antibiotico in grado di inibire la crescita di un batterio in esame dopo incubazione in opportuno terreno di coltura per 18-24 ore a 37°C. I valori di CMI esprimono in maniera precisa la sensibilità dei batteri ad un antibiotico in esame. Ecco dunque l'importanza di questo test diagnostico che ci fornisce esatte indicazioni sulla esatta quantità di antibiotico necessaria in vitro a svolgere la propria azione antibatterica. L'antibiogramma rappresenta una ricerca, per così dire, indiretta dell'attività in vitro degli antibiotici verso i batteri. Esso comunque per semplicità di esecuzione e per economicità risulta essere il test di sensibilità in vitro più eseguito. E' chiaro però che poiché esso esprime degli aloni di inibizione, il suo non è un valore assoluto ma può essere interpretabile solo se correlato con le CMI. Determinando quindi le CMI e gli aloni di inibizione per le specie batteriche e ponendo sulle ordinate i valori delle CMI espressi in mcg/ml e sulle ascisse i valori degli aloni di inibizione espressi in mm, i punti di incontro delle due serie di dati cadranno su di una retta detta "retta di regressione lineare" per quel determinato antibiotico. Per meglio comprendere quanto detto riportiamo un esempio: un alone di inibizione di 10 mm per aztreonam corrisponde ad una CMI maggiore di 32 mcg/ml. Tale concentrazione è difficilmente raggiungibile nel circolo ematico con gli abituali dosaggi terapeutici e quindi in tal caso il ceppo viene definito resistente. Se invece dovessimo osservare un alone di inibizione di 25 mm che corrisponde sulla retta di regressione a 2.0 mcg/ml, concentrazione facilmente raggiungibile nel siero con gli abituali dosaggi, il ceppo verrà definito sensibile. I diametri compresi tra 15 e 21 mm che corrispondono a CMI comprese tra 4 e 16 mcg/ml, saranno considerati come espressioni di sensibilità intermedia. E' chiaro dunque che l'interpretazione di un antibiogramma è sempre soggetta a quei range di standardizzazione per ciascun antibiotico che permettono di convertire un diametro espresso in mm in definizione di sensibilità o di resistenza.

ANTICORPI ANTI GLIADINA (IGG ED IGA)

**ANTICORPI ANTI GLIADINA (AGA IGG)**

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 9 gg	

ANTICORPI ANTI GLIADINA (AGA IGA)

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 9 gg	

Note:

Il glutine è una componente proteica della farina di grano e di altri cereali. In soggetti con intolleranza al glutine, in seguito all'ingestione di cereali, si instaura una enteropatia denominata malattia celiaca, caratterizzata da vari disturbi digestivi (malassorbimento intestinale, diarrea), da ritardo della crescita e a volte da dermatide erpetiforme. A livello anatomico, la malattia celiaca è accompagnata da atrofia dei villi della mucosa dell'intestino tenue, ipertrofia delle cripte ed ipercellularità della mucosa. La presenza di queste lesioni, rilevabili mediante biopsia dell'intestino tenue, consente di effettuare una diagnosi certa di malattia celiaca. Secondo il protocollo diagnostico proposto nel 1970 dall'European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN), si richiede ai fini di una diagnosi definitiva, l'esecuzione di tre biopsie; prima e dopo l'eliminazione totale del glutine dalla dieta (per osservare la normalizzazione della mucosa intestinale) e dopo una nuova introduzione di glutine nella dieta (per osservare la ricomparsa delle lesioni caratteristiche).

Una diagnosi preliminare può essere fatta determinando quantitativamente la presenza nel siero dei pazienti di anticorpi della classe IgA ed IgG diretti contro la Gliadina, una componente del glutine. Esiste infatti una forte associazione tra malattia celiaca e presenza di elevati titoli anticorpali di IgA ed IgG anti-Gliadina; pertanto il dosaggio di questi anticorpi può essere utilizzato sia come depistaggio per indirizzare o meno il paziente alla esecuzione della biopsia, sia come follow-up per controllare, dopo remissione della malattia, il rispetto della dieta priva di glutine da parte del paziente.

Il dosaggio di tipo immunoenzimatico si effettua su siero che non deve essere lipemico o emolizzato.

C'è da specificare comunque che valori elevati di anticorpi anti-Gliadina sono presenti anche in altre patologie gastroenteriche, quali il morbo di Crohn, la colite ulcerosa e l'esofagite.

Sono stati inoltre segnalati alcuni casi di malattia celiaca accompagnati da bassi valori di IgA anti-Gliadina, causati da un deficit selettivo nella produzione di IgA.

ANTICORPI ANTI MICROSOMIALI

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti-Microsomiali possono essere rilevati:

- nel 40-70% di pazienti affetti da tiroidite cronica;
- nel 70% di pazienti affetti da ipotiroidismo;
- nel 40% di pazienti affetti da morbo di Graves-Basedow;



- in una piccola percentuale di pazienti affetti da altre patologie autoimmuni, in particolare anemia perniziosa.

Individui normali, in particolare donne anziane, possono essere aspecificamente positivi.

Può essere presente interferenza sul dosaggio in caso di sindrome di Sjogren, LES, artrite reumatoide, anemia emolitica autoimmune. Tutti i farmaci devono essere sospesi 72 ore prima del prelievo. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 12 ore.

Esami collegati: Tireoglobulina, Anticorpi antitireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, TSH, FT3, FT4.

ANTICORPI ANTI PEROSSIDASI TIROIDEA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (è possibile anche su plasma)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti Perossidasi Tiroidea (TPO) sono prodotti verso il più importante enzima coinvolto nella sintesi degli ormoni tiroidei. E' stato recentemente dimostrato che l'antigene microsomiale è correlato, se non identico, alla perossidasi tiroidea. Questi anticorpi di classe IgG sono presenti in quasi tutte le malattie autoimmuni tiroidee quali:

- la malattia di Hashimoto (nella quasi totalità dei casi);
- il mixedema (quasi totalità dei casi);
- nella malattia di Graves-Basedow (fino all'80% dei casi).

La combinazione di questo test e quello per gli anticorpi anti-tireoglobulina è importante nella diagnosi differenziale anche se gli anticorpi anti-perossidasi (ATPO) sono di maggiore importanza patogenetica, in quanto si correlano con la fase attiva della patologia.

Gli Anti-TPO possono danneggiare le cellule della tiroide attivando il sistema complementare. Gli anticorpi possono essere presenti in altre disfunzioni oltre quella tiroidea, ad es. in pazienti affetti da altri disordini endogeni autoimmuni quali il morbo di Addison ed il diabete mellito insulino-dipendente.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Tutti i farmaci devono essere sospesi 72 ore prima del prelievo. E' consigliabile il digiuno da 12 ore.

Esami collegati: Tireoglobulina Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi antitireoglobulina, T3, TSH, FT3, FT4.

ANTICORPI ANTI RECETTORE DEL TSH (TRAB)

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Il Recettore del TSH è una glicoproteina costituita da 398 aminoacidi. Insieme al TSH è la principale via di regolazione della ghiandola tiroide. Esiste attualmente accordo pressoché unanime nel ritenere che il recettore del TSH sia l'antigene verso cui sono diretti gli anticorpi tireostimolanti caratteristici del Morbo di Basedow. Queste Ig urono denominate LATS (Long Acting Thyroid Stimulator) in quanto determinano una stimolazione della ghiandola prolungata rispetto a quella esercitata dal TSH.



I metodi finora impiegati per il dosaggio dei TRAb possono essere divisi in 2 gruppi:

- il primo comprende sistemi che valutano la capacità degli anticorpi di stimolare l'attività tiroidea (TSAb Thyroid Stimulating Antibody);
- il secondo è rappresentato da tecniche basate sull'inibizione del legame del TSH marcato a tessuto tiroideo (TBIAb TSH-binding Inhibiting Antibody).

Nelle patologie autoimmuni, la sua attivazione può spiegare la causa del morbo di Graves-Basedow, la sua inibizione alcune forme di mixedema.

Nei casi positivi, l'andamento dei livelli riscontrati è un indice importante che può consentire il follow-up della malattia.

La somministrazione di iodio radioattivo nei 3 giorni che precedono il test può alterare i risultati. Durante il trattamento tireostatico i valori possono diminuire.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 12 ore.

ANTICORPI ANTI TIREOGLOBULINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La tireoglobulina, che rappresenta la principale componente della colloide follicolare, è una glicoproteina nel cui contesto vengono sintetizzati ed immagazzinati gli ormoni tiroidei (T3 e T4). In condizioni fisiologiche piccole quantità di tireoglobulina sfuggono alla proteolisi intracellulare che porta all'increzione di ormoni tiroidei e passano direttamente nel torrente circolatorio. Questo rilievo indica che la Tireoglobulina non è di per sé autoimmunogena in assenza di alterazioni della tolleranza immunologica. Gli anticorpi Anti-Tg appartengono prevalentemente alla classe IgG e non sono in genere capaci di fissare il complemento. Gli Anticorpi Anti-Tireoglobulina possono essere rilevati in rapporto alla sensibilità delle tecniche:

- nel 60-80% dei pazienti affetti da tiroidite di Hashimoto;
- nel 70% di pazienti affetti da ipotiroidismo;
- nel 30-60% di pazienti affetti da morbo di Graves-Basedow;
- in meno del 10% di pazienti affetti da tireopatie non autoimmuni;
- in una piccola percentuale di pazienti affetti da altre patologie autoimmuni, in particolare anemia perniziosa.

Possono essere presenti interferenze nel dosaggio in caso di sindrome di Sjogren, SLE, artrite reumatoide ed anemia emolitica autoimmune.

E' possibile una positività aspecifica in individui normali (meno del 10%), in particolare donne anziane.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Tutti i farmaci devono essere sospesi 72 ore prima del prelievo.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 12 ore.

Esami collegati: Tireoglobulina, Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi anti-TPO, T3, TSH, FT3, FT4.

**ANTICORPI ANTI CARDIOLIPINA (IGA-IGG-IGM)**

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

La Cardiolipina è una sostanza che funziona come substrato antigenico per reagire od anticorpi antitreponema e lupus anticoagulant (LAC).

E' importante nella diagnosi differenziale di trombosi ricorrenti, sindromi lupus-like, falsi positivi della VDRL e nei casi di aborto spontaneo ricorrente.

La presenza di anticardiolipina è associata con trombosi spontanea ed episodi trombotici (es. tromboflebiti o trombosi cerebrospinali.), con aborti spontanei ed infarti placentari.

Antibiotici, anti-DNA, clorpromazina, clofibrati, etosuccimide, griseofulvina, idralazide, isoniazide, mefenitoina, metildopa, metisergide, contraccettivi orali, acido para-aminosalicilico, penicillina, fenilbutazone, fenitoina, procainamide, propiltiouracile, chinidine, diagnostici radioattivi, streptomina, sulfonamide, tetraciclina e trimetadione sono tutti farmaci che possono causare false positività del test.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore dopo sospensione di tutti i farmaci nelle 72 ore che precedono il test.

Non calcolare il rapporto se i trigliceridi sono di valore superiore a 400 mg/dL. Patologie ostruttive epatiche alterano i risultati. I farmaci antiiperlipidemici interferiscono sul dosaggio. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore dopo sospensione di tutti i farmaci nelle 72 ore che precedono il test. Il paziente dovrebbe seguire una dieta stabile nelle 2 settimane precedenti il prelievo. Non eseguire il dosaggio nei 3 mesi successivi ad un infarto del miocardio. Il dosaggio degli ENA è di fondamentale importanza nella diagnosi differenziale tra lupus eritematosus sistemico e connettivite mista, nei casi di LES con ANA negativi e nella sindrome da anticorpi antifosfolipidi. Sono presenti in circa il 40% di soggetti affetti da LES. Si riscontrano anche in caso di lupus discoide, artrite reumatoide, sindrome di Sjogren, nel lupus indotto da farmaci, nella connettivite mista. Gli ENA 3 ed ENA 4 sono presenti nella sindrome di Sjogren, nel lupus neonatale e nelle forme di lupus ANA negative. Nei casi di positività agli ENA 3 ed ENA 4 si ha spesso una VDRL falsamente positiva, un PTT prolungato e tendenza alla trombosi. In questi pazienti è presente anche una positività agli anticorpi anticardiolipina (sindrome da anticorpi antifosfolipidi). Il livello di anticorpi non è collegato alla durata ed alla severità della malattia. E' consigliabile il digiuno di 12 ore.

Esami collegati: Anticorpi Anti Nucleo (ANA), Anticorpi Anti Muscolo Liscio, Anticorpi Anti Muscolo Striato, Anticorpi Anti Nucleo (ANA), Anticorpi Anti DNA.

ANTICORPI ANTI CLAMIDIA TRACHOMATIS**ANTICORPI ANTI CHLAMYDIA (IGG)**

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (congelare)
Tempo di refertazione: 9 gg	

**ANTICORPI ANTI CHLAMYDIA (IGM)**

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (congelare)
Tempo di refertazione: 9 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti Chlamidia si producono dopo l'esposizione a piccoli organismi intracellulari immobili, le Chlamidie, che presentano molte caratteristiche comuni ai batteri e sono sensibili alla terapia antibiotica. Questi microrganismi sono simili anche ai virus perchè richiedono la presenza di cellule vitali per la loro moltiplicazione. Il gruppo di microrganismi presenta due specie, la *Chlamydia Psittaci*, agente etiologico della psittacosi e la *Chlamydia Trachomatis*, implicata in una grande varietà di infezioni nell'uomo, tra cui infezioni oftalmologiche ed infezioni urogenitali. Spesso possono essere causa etiopatogenetica di molte uretriti non gonococciche. Nelle donne la flogosi da *Chlamydia Trachomatis* causa disturbi pelvici, salpingiti ed endometriti, mentre nell'uomo può causare epididimiti e sindrome di Reiter. Le flogosi da Chlamydia Trachomatis possono essere spesso causa di infertilità. Altra infezione trasmessa per via sessuale causata dalla Chlamydia è il linfogranuloma venereo. Nel linfogranuloma venereo, altra infezione trasmessa per via sessuale dalla Chlamydia, gli anticorpi compaiono subito dopo la linfadenopatia ed il test è positivo nell'80-90% dei pazienti.

I tests utilizzati per la determinazione della Chlamidia sono gruppo-specifici e non specie-specifici. Nel caso di neonati affetti da congiuntivite, uretrite non gonococcica e polmonite gli anticorpi non sono di norma determinabili. L'alta frequenza di positività aspecifica o da antica infezione per gli anticorpi antichlamydia rende piuttosto difficile l'interpretazione del test.

E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test.

ANTICORPI ANTI-DNA

Metodo: immunofluorescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 9 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti-DNA sono presenti nell'80-90% dei casi nel Lupus Eritematosus Sistemico (LES). Sono anche presenti in caso di disordini reumatici, epatite cronica attiva, mononucleosi infettiva e cirrosi biliare. Procainamide ed idralazina possono indurre la formazione di autoanticorpi anti DNA ed anti-istoni. E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test. Quando gli ANA risultano positivi è indispensabile eseguire la ricerca dell'**anti-DNA** che può reagire con diversi determinanti antigenici rappresentati da:

- le catene del desossiribosio dei nucleotidi;
- le basi presenti sulla singola elica (ssDNA);
- le basi presenti sulla doppia elica (ds-DNA o nDNA);
- le basi presenti sia sulla singola che sulla doppia elica.

Numerosi studi hanno ampiamente dimostrato che gli anticorpi anti-nDNA sono più specifici per il LES (la loro incidenza varia tra il 50% e il 90% soprattutto in fase attiva di malattia e nelle recrudescenze) e sono particolarmente correlati a lesioni renali.



Gli anticorpi anti-istoni sono invece rivolti contro le proteine basiche cariche elettropositivamente. Per la determinazione degli anticorpi Anti-DNA è utilizzabile un test IFI specifico e sensibile che utilizza DNA mitocondriale a doppia elica contenuto nel kinetoplasto di un emiflagellato non patogeno per l'uomo chiamato Crithidia Luciliae.

Esami collegati: Anticorpi Anti Nucleo Estraiabili (ENA), Anticorpi Anti Muscolo Liscio, Anticorpi Anti Muscolo Striato, Anticorpi Anti mitocondrio (AMA), Anticorpi Anti Nucleo (ANA).

ANTICORPI ANTI ENDOMISIO

Metodo: immunofluorescenza indiretta	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (congelare)
Tempo di refertazione: 7 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti Endomisio (EMA) sono utili nella diagnosi e nel follow-up terapeutico dei pazienti affetti da dermatite erpetiforme e morbo celiaco. Gli EMA sono presenti nel 70-80% di pazienti affetti da dermatite erpetiforme e da pazienti affetti da morbo celiaco. I pazienti affetti da morbo celiaco con deficit di IgA possono mostrare IgG invece che IgA antiendomisio. E' consigliabile il digiuno per almeno 12 ore.

ANTICORPI ANTI MITOCONDRIO (AMA)

Metodo: immunofluorescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti Mitocondrio (AMA) sono un test di screening per patologie autoimmuni, cirrosi biliare primaria, epatite cronica attiva, lupus eritematoso, anemia perniziosa, artrite reumatoide, morbo di Addison. Nei soggetti anziani può essere presente una debole positività aspecifica. In ogni caso una positività alla immunofluorescenza a titolazioni intorno ad 1:20 può essere presente in molti soggetti normali. E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test.

Esami collegati: Anticorpi Anti Nucleo Estraiabili (ENA), Anticorpi Anti Muscolo Liscio, Anticorpi Anti Muscolo Striato, Anticorpi Anti Nucleo (ANA), Anticorpi Anti DNA.

ANTICORPI ANTI MUSCOLO LISCIO (ASMA)

Metodo: immunofluorescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 9 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti Muscolo Liscio sono presenti in più dell'85% dei pazienti con epatite cronica attiva ed in poco meno del 50% di pazienti affetti da cirrosi biliare primaria.

Utili dunque nella diagnosi differenziale con malattia da ostruzione biliare extraepatica, epatopatie da farmaci, epatiti virali ed epatoma.

Il livello di anticorpi non è correlabile con la durata e la severità della malattia.

E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test.



Esami collegati: Anticorpi Anti Nucleo Estraibili (ENA), Anticorpi Anti Mitocondrio (AMA), Anticorpi Anti Muscolo Striato, Anticorpi Anti Nucleo (ANA), Anticorpi Anti DNA.

ANTICORPI ANTI MUSCOLO STRIATO (ASMAS)

Metodo: immunofluorescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Anticorpi Anti Muscolo Striato sono presenti in circa il 30% di pazienti con miastenia gravis e nell'80% dei pazienti con timoma associato a miastenia gravis.

Questo test è utile nella diagnosi di timoma ed è utile per monitorizzare l'efficacia della terapia immunosoppressiva.

E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test.

Esami collegati: Anticorpi Anti Nucleo Estraibili (ENA), Anticorpi Anti Muscolo Liscio, Anticorpi Anti Mitocondrio (AMA), Anticorpi Anti Nucleo (ANA), Anticorpi Anti DNA.

ANTICORPI ANTI NUCLEO (ANA)

Metodo: immunofluorescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 9 gg	

Note:

Gli Anticorpi Anti Nucleo (ANA) rappresentano un test di screening per patologie autoimmuni come il lupus eritematoso sistemico e l'epatite cronica attiva. Una positività alla immunofluorescenza a basse titolazioni può essere presente in molti soggetti normali.

In un'alta percentuale di soggetti anziani si può avere una debole positività aspecifica.

Alcuni pazienti con LES sono ANA negativi se il substrato utilizzato per l'analisi è il fegato di topo, positivi se testati con linea cellulare Hep-2 come substrato.

L'acido paraminosalicilico, carbamazepina, cloropromazina, dilantin, etosuccimide, griseofulvina, idralazina, isoniazide, fenitoina e farmaci del gruppo della idantoina, primidone, procainamide, propiltiouradole, primidone possono dare false positività degli ANA. E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test. Sospendere il fumo nelle 48 ore che precedono il test.

Esami collegati: Anticorpi Anti Nucleo Estraibili (ENA), Anticorpi Anti Muscolo Liscio, Anticorpi Anti Muscolo Striato, Anticorpi Anti mitocondrio (AMA), Anticorpi Anti DNA.

La ricerca nel siero dei pazienti degli ANA: è un mezzo diagnostico di importanza determinante che consente al clinico un inquadramento nosologico più preciso e più probante del quadro anamnestico spesso sfumato e confuso.

L'approccio metodologico più diffuso e più collaudato è ancora oggi l'**immunofluorescenza indiretta (IFI)** anche se ultimamente il mercato ha proposto tecniche alternative come i sistemi immunoenzimatici (EIA) e su membrane a forma di strip (immunoblotting ed immunodot).

Gli ANA si possono riconoscere in IFI su substrati ricchi di nuclei come il tessuto epatico, renale, gastrico di ratto o di primate, ma sono soprattutto ben differenziabili in patterns su cellule Hep-2, che è una linea cellulare epiteliale derivata da carcinoma laringeo umano ricco di cellule in mitosi, sulla base del tipo di fluorescenza dei nuclei.



Utilizzando tali substrati sono stati individuati diversi patterns nucleari cui corrispondono specifiche patologie.

PATTERN		PATOLOGIA
OMOGENEO		LES
PERIFERICO		LES, AR, MCTD
GRANULARE		LES, MCTD, RAYNAUD, SS
NUCLEOLARE		SSP, SS, LES
ANTICENTROMERO		CREST, RAYNAUD

Quando la ricerca degli ANA risulta positiva, ulteriori informazioni clinico-diagnostiche vengono date oltre che dal tipo di pattern anche da una valutazione semiquantitativa degli anticorpi. Si considerano positivi:

- titoli uguali o superiori a 1:180 *in soggetti adulti*.
- titoli uguali o superiori a 1:40 *nei bambini sino a 14 anni*.

Nell'esecuzione di un test IFI, particolare attenzione deve essere posta:

- alla scelta dei substrati idonei;
- alla raccolta ed alla conservazione del campione;
- alla diluizione del campione;
- alla perfetta efficienza del microscopio a fluorescenza.

I pattern speckled o nucleolari rappresentano un dato di screening che esprime la presenza di autoanticorpi antiproteine non istoniche o anti-complessi RNA positivi, conosciuti comunemente come ENA. Questi pattern non consentono di identificare né di quantizzare le diverse specificità anticorpali che sono correlate con le differenti patologie autoimmuni e si rende quindi indispensabile tipizzare gli anticorpi anti-ENA.

E' da segnalare che la negatività degli ANA in IFI non esclude la presenza di alcuni ENA.

Nelle donne in gravidanza che presentano patologie autoimmuni, è necessario eseguire la ricerca degli ENA, anche se gli ANA sono negativi poiché nel 50% dei casi si può incorrere in un LES neonatale.

ANTICORPI ANTI NUCLEO ESTRAIBILI (ENA)

Metodo: ELISA

Campione: 1 ml di siero

Tempo di refertazione: 9 gg

Gli Anticorpi anti-ENA ricercati in sede, sono:

- **anticorpi anti-RNP** caratteristici della malattia mista del tessuto connettivo (MCTD) e molto più raramente del LES.
- **Anticorpi anti-SSA (Ro)** che sono presenti in pazienti con Sindrome di Sjogren e possono essere presenti in pazienti con LES ANA negativi. E' assolutamente consigliabile la ricerca di questi autoanticorpi in donne in gravidanza affette da LES in quanto la loro presenza è correlata a blocco cardiaco o a lupus neonatale.



- **Anticorpi anti-SSb (La)** che sono correlati con la Sindrome di Sjogren primitiva o con LES associato alla Sindrome di Sjogren e si trovano associati ai sieri positivi per anticorpi anti-SSA.
- **Anticorpi anti-SCI-70** presenti in circa il 50% dei pazienti con SSP.
- **Anticorpi anti-Jo-1** altamente specifici per la polimiosite.

Questo ricco mosaico di anticorpi diretti contro gli ENA, è dosabile ricorrendo a differenti metodi quali: emoagglutinazione passiva, immunodiffusione doppia, controimmunolettroforesi, ELISA ed immunoblotting. La metodica attualmente più diffusa è quella immunoenzimatica.

ANTITROMBINA III

Metodo: coagulativo	Campione: plasma EDTA o plasma citrato
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Antitrombina III (AT III) è una glicoproteina di PM 58.000 daltons sintetizzata dal fegato e caratterizzata da un'emivita di circa 3 giorni.

L'AT III inibisce principalmente la trombina (fattore IIa) ed il fattore Xa, ma anche la Callicreina, XIIa, XIa e IXa. La sua azione è facilmente accelerata dall'Eparina (attività cofattore dell'Eparina). L'attività dell'AT III è direttamente legata alla sua struttura che caratteristicamente presenta due siti attivi, uno per il legame con le proteasi seriniche l'altro con l'eparina. Il sito di legame dell'AT III alle proteasi seriniche consente la formazione di complessi equimolecolari stabili (irreversibili) e inattivi, rapidamente depurati dal fegato.

Il complesso con l'Eparina provoca un cambiamento dell'AT III che rende più accessibile il sito di "legame" alle proteasi seriniche accelerandone l'inibizione (il sito minimo di legame di un'Eparina all'AT III è un pentasaccaride).

Dopo aver facilitato la formazione del complesso ATIII proteasi seriniche, l'eparina si distacca legandosi a nuove molecole di AT III.

- Carenze congenite:**
- Descritte per la prima volta nel 1965 da Egeberg
 - Trasmissione per via autosomica dominante

Casistica:

- nella popolazione generale: la frequenza varia secondo gli autori da 1/2000 a 1/10000;
- nei pazienti con precedenti trombosi venose: dal 3 al 5 %.

Due gruppi:

Omozigoti: rari, i pazienti presentano delle trombosi spesso mortali.

Eterozigoti: i più frequenti.

L'attività varia normalmente tra il 40 e il 60 %. La carenza provoca trombosi più frequentemente venose, e talvolta embolie polmonari.

L'età in cui si evidenzia il primo disturbo varia tra i 18 e i 30 anni con manifestazione spontanea o causata da eventi scatenanti (degenza prolungata, trauma grave, interventi chirurgici, gravidanza, assunzione di contraccettivi orali).

Si distinguono 2 tipi di carenze:

- Quantitative: tipo I

Sintesi ridotta di molecole normali con diminuzione dell'attività funzionale e dell'antigene AT III. Questo concerne la maggior parte dei casi.



- Qualitative: tipo II

Sintesi di molecole anormali con riduzione dell'attività funzionale e concentrazione normale di antigene AT III. Questo gruppo comprende le varianti molecolari dell'AT III.

Carenze acquisite

Possono essere osservati nelle circostanze seguenti:

- trattamento con Eparina riduzione del 10-20% probabilmente legata ad una più rapida eliminazione dell'AT III legata all'Eparina;
- trattamento con L-asparaginasi;
- periodo post operatorio riduzione del 10-15%;
- CIVD;
- cirrosi;
- sindromi nefrosiche: perdita urinaria dell'AT III.

Interesse diagnostico

- Ricerca delle carenze congenite.

Consigliata nelle seguenti circostanze:

- comparsa di una trombosi venosa in soggetti con età inferiore ai 30 anni.
- in soggetti con precedenti familiari di trombosi venose o di embolie polmonari.
- trombosi venose recidivanti.

Campione: plasma (provetta anticoagulata con citrato di sodio).

Indispensabile il rispetto del rapporto sangue anticoagulante.

Consigliabile il digiuno da almeno 8 ore prima del test e dopo la sospensione di tutti i farmaci per almeno 72 ore.

Esami collegati: Fibrinogeno, PTT, PT, Proteina C anticoagulante, Proteina S, D-Dimeri.

APO (LIPOPROTEINE)

Metodo: immunoturbidimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Le Apolipoproteine rappresentano la parte proteica delle lipoproteine plasmatiche. Sono state riconosciute 13 apolipoproteine anche se le più importanti dal punto di vista diagnostico sono le APO-A1 e le APO-B.

Valutazione:

- la concentrazione di Apo-B, come quella del colesterolo LDL, rappresenta un parametro per la valutazione quantitativa delle particelle LDL ad azione aterogena nel sangue.
- la concentrazione di Apo-A1, come quella del colesterolo HDL, è rappresentativa delle particelle di HDL.
- il rapporto Apo-B/Apo-A1 è la migliore discriminante per la delimitazione del livello di rischio.

Il suo aumento, come quello del rapporto LDL/HDL ha la massima correlazione positiva con l'interessamento vascolare aterogeno. Quindi, quanto maggiore è questo rapporto tanto maggiore è il rischio individuale di aterosclerosi, mentre la sua diminuzione durante una terapia con ipolipemizzanti indica la diminuzione delle particelle LDL.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).



Esami collegati: Colesterolo totale, HDL e LDL, Trigliceridi, lipidogramma.

APTOGLOBINA

Metodo: immunodiffusione radiale	Campione: siero
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

L'Aptoglobina è una glicoproteina sintetizzata dal fegato, costituita da due subunità, a e b, in grado di combinarsi con l'emoglobina libera e trasportarla al sistema reticoloendoteliale. Il complesso aptoglobina-emoglobina è rimosso rapidamente dal sistema reticolo-endoteliale ed è metabolizzato ad aminoacidi liberi e ferro in poche ore, rappresentando un mezzo di conservazione del ferro. La sua diminuzione è indice di emolisi intra ed extravascolare. Può essere diminuita in caso di anemia megaloblastica con componente emolitica. E' inoltre diminuita in corso di mononucleosi infettiva ed in caso di insufficienza epatica.

Un aumento è presente in:

- infiammazioni acute e croniche;
- neoplasie metastatizzanti;
- infarto miocardio;
- collagenopatie;
- ustioni.

E' presente una diminuzione dei livelli in caso di terapia estroprogestinica. Al contrario, gli androgeni incrementano i livelli di aptoglobina. E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test.

AUTOEMOLISI

Quando gli eritrociti vengono incubati nel loro stesso plasma o siero si osserva, per un complesso meccanismo di lisi, una progressiva emolisi delle emazie. Il test è usato nella diagnosi della sferocitosi ereditaria. Nei campioni normali, al termine delle 48 di incubazione:

- **l'autoemolisi:** è di meno del 3.5% in **assenza di glucosio**
è di meno dello 0.6% in **presenza di glucosio**

Nella sferocitosi ereditaria, al termine delle 48 di incubazione:

- **l'autoemolisi:** è molto più pronunciata in **assenza di glucosio**
viene corretta dalla **aggiunta di glucosio**

Campione: sangue anticoagulato con EDTA o Eparina.

Esami collegati: Resistenza osmotica globulare, emocromo, reticolociti.

AZOTEMIA (UREA)

Metodo: cinetico	Campione: 1ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

L'Azotemia è la misura dell'azoto totale proteico presente nel sangue sotto forma di urea, creatinina, aminoacidi ed acido urico. L'azotemia riflette però principalmente il contenuto di urea nel sangue che è presente in maggiore concentrazione rispetto ad altre sostanze azotate.



Condizioni tipiche di iperazotemia sono riscontrabili principalmente in patologie renali croniche, come la glomerulonefrite cronica e le pielonefriti. Ma anche in patologie acute come la insufficienza renale acuta ed in casi di ostruzione del tratto urinario è presente iperazotemia. Molti farmaci possono causare un aumento dei livelli di azotemia nel sangue; in particolare: l'aspirina, le cefalosporine, la metildopa, alcuni agenti chemioterapici.

E' consigliabile il digiuno da almeno 8 ore.

Esami collegati: Creatinina, Esame delle urine, Clearance della Creatinina, Clearance dei fosfati, Clearance dell'urea, Clearance degli urati.

BENCE-JONES (PROTEINURIA)

Metodo: nefelometria

Campione: urine

Tempo di refertazione: 8 gg

Note:

Le Proteine di Bence-Jones sono catene immunoglobuliniche leggere libere (kappa o lambda) monoclonali filtrate dal rene in particolari stati patologici. La sua scoperta risale al 1845 quando il Dr McIntire aveva notato uno strano comportamento delle urine di un suo paziente: esse davano un precipitato intorno a 50-56° C, che si scioglieva all'ebollizione. Normalmente le plasmacellule producono un leggero eccesso di catene leggere rispetto all'aliquota che viene montata sulle catene pesanti per costituire l'Ig completa. Si tratta in ogni caso di una modesta quantità e di tipo policlonale che viene liberamente filtrata dal glomerulo e riassorbita dal tubulo contorto prossimale. Un maggior sbilanciamento tra sintesi di catene pesanti e di catene leggere caratterizza circa il 60% dei mielomi; questo condiziona un eccesso di afflusso al rene di catene leggere e conseguente eliminazione urinaria (quando viene superata la capacità di riassorbimento). Inoltre, esiste la ben nota forma di Mieloma Micromolecolare con sintesi di sole catene leggere da parte del clone maligno. Anche in situazioni come le MGUS si può in alcuni casi riscontrare proteinuria di Bence-Jones, di solito di grado modesto. Ma modeste quantità di Bence-Jones accompagnano anche situazioni patologiche gravi quali l'amiloidosi e la malattia da depositi di catene leggere. Le indicazioni per la ricerca possono derivare da un precedente rilievo di una Componente Monoclonale nel siero; in questo caso è il Medico di Laboratorio che deve richiedere il campione di urine. Altra possibilità (e sicuramente la più frequente) è la richiesta isolata da parte del clinico in relazione all'utilizzo di mezzi di contrasto radiografici.

Metodologie:

- termoprecipitazione (da abbandonare per la sua scarsa sensibilità);
- prova qualitativa della proteinuria con lo stick (da abbandonare per mancanza di specificità, in quanto rileva solo proteine acide);
- elettroforesi su urine concentrate che è la tecnica più diffusa;
- elettroforesi su urine non concentrate (è necessario un campione di urine fresco);
- ricerca qualitativa e/o quantitativa di catene K e λ con metodo immunochimico (campione di urine fresco).

Come test di conferma l'immunofissazione su urine non concentrate è la tecnica più affidabile e praticabile per semplicità di esecuzione e interpretazione. Viene utilizzato nella pratica clinica per la diagnosi del mieloma multiplo, morbo di Waldenstrom, leucemie, linfomi, policitemia vera, tumori metastatici delle ossa, sarcoma osseo, osteomalacia, carcinoma



bronchiale.

Campione: là dove è richiesto, è opportuna la massima correttezza nella raccolta del campione di urine delle 24 ore.

Esami collegati: QPE.

B-HCG

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

La Beta-HGC (subunità beta della gonadotropina corionica) presenta alcune similitudini strutturali con quella dell'LH. Il dosaggio della BHCG permette di effettuare la diagnosi di gravidanza pochi giorni dopo la mancata mestruazione (5-7 gg.). Il suo monitoraggio durante i primi 3 mesi di gestazione permette di valutare il corretto andamento della gravidanza ed eventuali minacce di aborto. Una falsa positività può derivare all'elevata concentrazione di proteine nel campione e dalla fenotiazina. La possibilità di cross-reattività con altri determinanti antigenici deve essere tenuta presente sino a valori di 200 UV/ml; in questo caso ripetere il prelievo a distanza di 7 giorni. Data la possibilità di interferenze con farmaci od altri ormoni circolanti, soprattutto in caso di stimolazioni ormonali, la paziente deve essere informata che in caso di valori "Borderline" e' opportuno ripetere il prelievo ad alcuni giorni di distanza.

Esami collegati: Tritest, Alfafetoproteina, Estriolo libero.

BETA 2 MICROGLOBULINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La β -m ha un peso molecolare di 11.800 D e consiste di una singola catena polipeptidica di 100 Aminoacidi. Possiede la mobilità elettroforetica delle β 2-globuline. Benché la struttura della β 2-m possieda notevole omologia con i siti costanti delle catene sia pesanti che leggere delle Ig, la sua biosintesi non va di pari passo con la produzione delle Ig. Essa costituisce la catena leggera degli antigeni HLA-A, HLA-B ed HLA-C che si ritrovano sulla superficie cellulare di quasi tutte le cellule nucleate. Gli antigeni HLA giocano un ruolo importante nei processi di riconoscimento e nelle interazioni tra le varie cellule. La β 2-m si trova nel:

- siero
- urina
- liquor
- sperma
- liquido sinoviale
- colostro
- liquido amniotico

Essa è stata identificata sulla superficie cellulare di:



- linfociti
- macrofagi
- cellule endoteliali
- alcune cellule epiteliali

Il metabolismo della membrana cellulare rappresenta probabilmente la fonte principale di produzione della 132-m libera nel sangue ed in altri liquidi organici: i linfociti partecipano per circa il 50% della produzione giornaliera complessiva. Il rene gioca un ruolo fondamentale nell'eliminazione della 132-m. Questa proteina, come la maggior parte delle proteine a basso p.m., viene filtrata attraverso i glomeruli e di nonna riassorbita quasi completamente dalle cellule dei tubuli prossimali e poi catabolizzata. Nell'urina vengono eliminati circa 200 µg di β2-m pro die oppure circa 120 mg per ogni grammo di creatinina.

B2-m nelle forme non neoplastiche

Concentrazioni elevate si ritrovano quando c'è un ricambio cellulare aumentato. La diminuzione della filtrazione glomerulare e un'alterazione del riassorbimento tubulare causa aumento della concentrazione sierica. Per questo, la misurazione della concentrazione urinaria è un indicatore di proteinuria tubulare, indotta ad es. dalla ingestione di vari citostatici o aminoglicosidi. Anche nelle malattie autoimmuni (specie in ambito reumatologico) si osservano elevati valori sierici. La beta-2-Microglobulina è aumentata in pazienti affetti da AIDS in fase progressiva.

B2-m nelle forme maligne

In circa il 40% di tutti i tumori solidi compaiono aumentati valori sierici. Essi però non forniscono indicazioni circa la prognosi. La β2-m acquista importanza di *marker* tumorale nei pazienti con malattia linfoproliferativa: nei bambini e negli adulti con LLA_i i valori sono normali o solo leggermente ammentati; nel mieloma multiplo, nella LLC, nella LMC e nelle LANL i valori sono aumentati (più di 3-4 mgIL) e sono in correlazione con lo stadio della malattia.

SPECIFICITA':

è molto bassa per i tumori solidi (solo nel caso di esclusione di insufficienza renale o di malattia infiammatoria può acquisire un valore). Nel caso del mieloma multiplo può addirittura permettere, mediante un calcolo complicato che tiene conto della funzionalità renale, la valutazione della massa neoplastica.

SENSIBILITA':

- circa il 70% dei casi di LLC;
- circa il 60% dei casi di Linfoma di Hodgkin e non-Hodgkin.

Valutazione

Dato che la 132-m viene prodotta nel sistema linfatico, essa è un importante parametro per la prognosi e per il controllo della terapia e del decorso nelle forme maligne del sistema linfatico. Esiste una correlazione fra stato clinico e concentrazione sierica; infatti, nella LLC, nei LH e nei LNH (ad es. mieloma multiplo), valori superiori a 4 mg/L sono di prognosi cattiva. Il cut-off, per parlare di prognosi infausta nel MM, è di 6 mgIL. La rilevanza



prognostica di questo parametro si è dimostrata superiore a quella dei maggiori fattori prognostici riconosciuti per la malattia e si è, inoltre, rilevata indipendente sia dalla massa neoplastica (o stadio clinico) che dalla funzionalità renale (con cui è direttamente correlata). Quest'ultima osservazione ha ricevuto conferma da numerosi contributi della letteratura attestanti la sostanziale inutilità, ai fini di una migliore predittività prognostica, dell'impiego di una formula correttiva dei valori della β_2 -m in funzione dei livelli sierici della creatinina. La concentrazione di β_2 -m è in correlazione con la diffusione della neoplasia. I valori cadono rapidamente nella remissione clinica dopo chemioterapia. Determinazioni in serie della β_2 -m nel liquor in pazienti con linfomi possono fornire indicazioni circa l'invasione del tessuto cerebrale.

Metodi di determinazione

- Immunoenzimatici
- RIA

Nessuna interferenza da aumentate concentrazioni di Immunoglobuline, albumina e proteina legante il retinolo.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante). E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono il test. Il prelievo non può essere eseguito nei pazienti sottoposti di recente ad esami radiografici.

Esami collegati: Marker tumorali.

BILIRUBINA FRAZIONATA

Metodo: diazoreagente	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

La Bilirubina che si forma nell'organismo deriva dalla distruzione fisiologica delle emazie al termine del loro ciclo vitale e dalla degradazione dell'emoglobina nel sistema reticolo-endoteliale. Viene trasportata nel circolo sanguigno coniugata a proteine plasmatiche, principalmente albumina, raggiunge le cellule epatiche dove avviene la coniugazione con l'acido glicuronico che trasforma la bilirubina liposolubile non coniugata (bilirubina indiretta), in bilirubina idrosolubile coniugata (bilirubina diretta). La bilirubina coniugata, escreta dal fegato e immessa nella bile, arriva nell'intestino dove viene trasformata nei pigmenti biliari. Una piccola parte viene riassorbita e ritorna al fegato, mentre una piccola parte sfugge alla captazione epatica, perviene in circolo e viene eliminata con le urine (urobilinuria fisiologica).

Aumenti della Bilirubina non coniugata si hanno:

- nei disordini emolitici
- nella sindrome di Gilbert
- nella sindrome di Crigler-Najjar
- nell'ittero neonatale



- nell' eritropoiesi inefficace
- in presenza di farmaci che competono per il glicuronide

Nella sindrome di Gilbert, dove è presente un difetto congenito della degradazione della bilirubina, i livelli già alti della bilirubina indiretta, aumentano considerevolmente negli stati di digiuno. Una loro diminuzione si ha, invece, dopo ingestione di fenobarbital.

Aumenti della Bilirubina coniugata si hanno:

- nei disordini epato-biliari
- ostruzioni dell'albero biliare intra- e d extraepatiche
- lesioni delle cellule epatiche
 - nella sindrome di Dubin-Johnson
 - nella sindrome di Rotor

Aumenti della bilirubina neonatale (somma della bilirubina coniugata e non coniugata) si hanno:

- nell'eritroblastosi fetale
- nell'ittero fisiologico
- ematoma/emorragia
- ipotiroidismo
- ittero ostruttivo

Steroidi, sulfonamidi, sulfaniluree, barbiturici, agenti antineoplastici (methotrexate), propiltiouracile, allopurinolo, antibiotici, pigmenti biliari, caffeina, teofillina, indometacina possono fare aumentare i livelli di bilirubina.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Assicurarsi che il siero non sia emolizzato e che non contenga grassi o sostanze che conferiscano anomale colorazioni. Non bisogna esporre il siero alla luce che provoca una degradazione della bilirubina.

Esami collegati: Transaminasi, gamma-GT, Anticorpi Anti Virus Epatite A, Anticorpi Anti Virus Epatite B, Anticorpi Anti Virus Epatite C.

C1 - INIBITORE

Metodo: nefelometrico	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 7 gg	

Note:

Il C1 Inibitore è un'alfa-2-globulina capace di inibire la frazione C1 del complemento e in minor misura anche la fibrina, la callicreina ed alcuni fattori della coagulazione. L'attivazione del sistema di contatto e del complemento nelle carenze di C-1-Inibitore si pensa che possa contribuire alla patogenesi degli attacchi di angioedema da rilascio di chinine.

Lo stimolo che provoca l'attacco può anche attivare la coagulazione.

Campione: siero.

L'emolisi del campione può interferire sul dosaggio. Consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.



Esami collegati: Prist, Rast, Complemento.

CA 125-ANTIGENE (CA OVARICO)

SINONIMI E RIMANDI:

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La struttura primaria non è stata ancora chiarita. Si presume sia una glicoproteina, nella quale l'ac. N-Acetilneuraminico in legame alfa-2-6 è legato ad una N-acetilglucosamina interna.

Il CA 125 si trova nel 70% dei carcinomi ovarici epiteliali; il 90% risulta legato a membrane; diminuisce col crescere della differenziazione.

Un aumento aspecifico può riscontrarsi in patologie benigne dell'ovaio come l'endometriosi, i cistoadenomi, i fibromi ovarici e uterini. Malattie degli annessi, fegato, bile e pancreas possono portare ad aumentate concentrazioni di CA 125 nel siero. Concentrazioni superiori a 65 U/ml si trovano in epatopatie croniche (36-64%) e nella peritonite (59%).

Livelli aumentati sono stati riscontrati nelle forme maligne: adenocarcinomi della cervice uterina, carcinoma endometriale metastatico, carcinoma ovarico di tipo epiteliale, carcinoma delle tube di Falloppio. Nel carcinoma ovarico esiste una buona correlazione fra entità e frequenza di concentrazioni patologiche e massa tumorale; lo stesso dicasi nel carcinoma pancreatico. Il CA125 è un utile marcatore per il follow-up postoperatorio. Nel caso di estirpazione completa del tumore si arriva a caduta della concentrazione, quasi esponenziale, del 75-90% del valore di partenza durante i primi sette giorni ed a normalizzazione dei valori entro 2-3 settimane. Valori patologici superiori a 65 U/ml, 1-3 mesi dopo l'operazione, denunciano l'esistenza di residuo di tumore del diametro di oltre 2 cm.

Per il carcinoma pancreatico la correlazione fra concentrazione di CA125 e stadio del tumore e la progressione della malattia è buona

Le concentrazioni di CA125 sono modicamente superiori nelle donne e diminuiscono con l'età; in una parte delle donne gravide sono da attendersi valori fino a 130 U/ml. Le determinazioni clinicamente utilizzabili per la determinazione del CA125 sono possibili soltanto su siero o plasma e tutt'al più su liquidi organici dipendenti dal siero (ascite, essudato pleurico).

Esami collegati: CA 15-3, TPA, CEA, AFP, MCA.

CA 15-3

SINONIMI E RIMANDI: ANTIGENE CA MAMMELLA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Con anticorpi monoclonali è possibile identificare antigeni che possiedono 2 specifici determinanti. Il CA15-3 viene ricercato mediante anticorpi verso l'antigene MAM-6 e contro



una frazione di cellule arricchite di membrana di carcinoma mammario umano (anticorpo monoclonale DF3).

E' stato trovato aumentato in circa il 15-20% dei casi di donne non gravide con tumori benigni. Nel carcinoma mammario, prima dell'intervento e a seconda dello stadio, si osservano valori sierici aumentati in circa il 40-75% dei casi. I valori di CA 15-3 massimi compaiono nel carcinoma mammario metastatizzante (valori superiori a 200 U/ml). Valori aumentati sono stati riscontrati anche in altri tipi di neoplasie: neoplasie del pancreas (60%), carcinomi ovarici di tipo sieropapillare (58%), carcinomi cervicali e dell'endometrio, Gastrointestinali (40%), del polmone (40%).

Presenta un'ottima sensibilità nelle neoplasie della mammella anche se è sconsigliabile usarlo per lo screening e per la diagnosi preoperatoria. L'importanza clinica di questo marker sembra, invece, consistere nella diagnosi tempestiva di recidive e nel controllo della chemioterapia in corso di metastasi.

Esami collegati: MCA, CEA, TPA, CA125, PSA.

CA 19-9

SINONIMI E RIMANDI: ANTIGENE CA GASTROINTESTINALE (GICA)

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

E' un sialilderivato del latte-N-fucopentaosio II, aptene del determinante sanguigno umano Lewis (a). Il CA19-9 si forma dal precursore CA50. Si ritrova in diversi carcinomi; nel colon; nell'intestino tenue; nel fegato e nel pancreas. E' il marker tumorale maggiormente indicato nei tumori dell'apparato gastro-digerente.

Malattie acute e croniche-attive del fegato e bile nonché mucoviscidosi, in dipendenza dalla attività ed entità della malattia, e l'insufficienza renale portano nel 10-30% dei casi ad aumento transitorio oppure a concentrazioni solo lievemente elevate di CA19-9, per lo più inferiori a 100 U/ml. Solo nella pancreatite acuta e cronica attiva nonché nella necrosi epatocellulare la concentrazioni patologiche si trovano ancora più frequentemente (fino al 50-60% dei casi).

I valori del CA19-9 aumentano, in assenza di terapia, in maniera esponenziale fino ad oltre 1000 U/ml. Nel carcinoma pancreatico dei dotti escretori entità ed incidenza di concentrazioni patologiche sono in correlazione con la localizzazione ed estensione del tumore. Nelle metastasi epatiche questo marcatore risulta aumentato nell'80% dei casi; nei carcinomi epatobiliare risulta aumentato dal 40 all'80% dei casi.

La sensibilità per il carcinoma gastrico si raddoppia dal 20-25% al 50-60% con le determinazioni combinate di CA19-9 e CEA, le cui concentrazioni decorrono in modo complementare.

Il CA19-9 è un buon parametro della efficacia della terapia citostatica, dato che le modificazioni nel decorso di carcinomi pancreatici e delle vie biliari vengono indicate, fino al 90% dei casi, in modo più rapido e fidato che non con la diagnosi per immagini.

Esami collegati: CEA, TPA, AFP.

**CA 72-4****SINONIMI E RIMANDI: TAG 72 (GLICOPROTEINA ASSOCIATA)**

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

E' una glicoproteina ad alto peso molecolare della famiglia delle mucine.

Aumenta in presenza di adenocarcinomi dell'ovaio, del polmone, del colon, dello stomaco e pancreas e della mammella. Un aumento può essere presente anche in malattie benigne come il morbo di Crohn, fibroadenomi ed iperplasia della mammella.

Esami collegati: CA19-9, TPA, CEA.

CALCIO

Metodo: O-cresolftaleina	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Ca è un metallo alcalino-terroso che esplica la sua attività in diversi processi biologici che coinvolgono l'ossificazione, l'emocoagulazione, la regolazione dell'attività neuromuscolare e la regolazione dell'equilibrio acido-base. E' il maggior componente minerale dell'osso; il 99% del Ca corporeo è osseo. Gli ioni calcio giocano un ruolo importante nella trasmissione degli impulsi nervosi e nel mantenimento di una normale contrazione muscolare. I livelli ematici vengono regolati dalle ghiandole paratiroidi e dalla vit. D.

Aumenta in corso di iperparatiroidismo, carcinoma (con e senza metastasi ossee), mieloma, leucemia, ipervitaminosi D cronica, ipercalcemia idiopatica dell'infanzia, sindrome di Addison, acromegalia, feocromocitoma.

Diminuisce nell'insufficienza renale, ipoparatiroidismo, deficit di vit. D, mancata risposta alla vit. D (rachitismo, vit. D resistente), osteomalacia, malassorbimento e malnutrizione.

Possono far aumentare i livelli della calcemia: tiazidici, androgeni, estrogeni, progestinici, vit. A e D. Possono far diminuire i livelli della calcemia: barbiturici, anticonvulsivanti, acetazolamide adrenal corticosteroidi, farmaci citotossici.

CALCITONINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (congelare immediatamente)
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

E' un peptide di 32 aminoacidi. E' di fondamentale importanza nella diagnosi e nel monitoraggio del carcinoma midollare della tiroide. Il dosaggio della calcitonina è utilizzato anche nel follow-up delle neoplasie endocrine multiple che comprendono anche il feocromocitoma, i neurinomi muscolari. E' possibile riscontrare un aumento dei livelli di calcitonina anche in patologie tumorali come i carcinomi polmonari, nei tumori insulari. Anche in patologie non tumorali, è possibile riscontrare un livello aumentato di calcitonina, come nelle pancreatiti, tiroiditi, insufficienza renale.



Esami collegati: TPA, Tireoglobulina, Calcio, Osteocalcina, Paratormone.

CALCOLI URINARI

Metodo: chimico	Campione: calcoli
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Si formano per precipitazione lenta di sostanze minerali intorno ad un nucleo primitivo talora formato da un piccolo coagulo ematico o fibroso. La maggior parte degli elementi disciolti nelle urine può dar luogo alla formazione di concrezioni urinarie. Possono essere organici, inorganici e misti. Possono formarsi a qualsiasi livello delle vie urinarie, ma la maggior parte origina dal rene.

Esami collegati: Es. delle urine.

CARBAMAZEPINA

SINONIMI E RIMANDI: TEGRETOL

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Viene utilizzata per la sua attività anticonvulsivante. Può indurre la sintesi di enzimi epatici responsabili del suo metabolismo; per questa ragione possono ridursi i livelli di biodisponibilità del farmaco, pur osservando il paziente l'iniziale schema terapeutico.

Concentrazioni terapeutiche: 8-12 microgrammi/ml.

Non è indispensabile il digiuno; il prelievo può essere eseguito subito prima la dose successiva.

Esami collegati: Fenitoina, Fenobarbitale, Acido Valproico.

CEA

SINONIMI E RIMANDI: ANTIGENE CARCINO EMBRIONALE

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

E' una glicoproteina presente nel sangue; insieme all'AFP è considerato un dei marker storici. Oggi ha perso gran parte della sua utilità dopo l'introduzione dei markers tumorali più recenti. Conserva il suo valore diagnostico per i tumori al seno. Il CEA viene prodotto dal tessuto embrionale ed identificato nel siero fetale a partire dall'8° settimana di gravidanza. Modeste quantità vengono sintetizzate in adulti sani da cellule del tratto gastro-intestinale, del pancreas, e del fegato.

Campione: siero o plasma.

Esami collegati: CA19-9, TPA, CA15-3, CA125, AFP.



CICLOSPORINA

SINONIMI E RIMANDI: CICLOSPORINA A

Metodo: MEIA	Campione: 5 ml di sangue intero + EDTA, inviare a temperatura ambiente Eseguire il prelievo prima della somministrazione del farmaco.
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

E' un peptide dotato di proprietà immunosoppressive, e viene utilizzato per la prevenzione del rigetto dei trapianti. Essa inibisce selettivamente la risposta immunitaria cellulare bloccando la produzione di IL-2, un fattore di crescita dei T-linfociti. Il dosaggio del farmaco è di particolare utilità nella diagnosi differenziale tra tossicità e rigetto acuto.

Una caratteristica della ciclosporina è data dal fatto che questa molecola ha una spiccata affinità per una proteina presente negli eritrociti per cui, per il suo dosaggio, diventa molto importante il tipo di campione, la modalità di prelievo e come questo viene trattato. Quindi una consistente quantità di essa è presente all'interno dei globuli rossi e questa quota varia in rapporto all'ematocrito del paziente. Inoltre il rapporto tra ciclosporina intracellulare e plasmatica varia in rapporto alla temperatura alla quale viene conservato il campione (la concentrazione a bassa temperatura favorisce l'entrata nelle cellule del farmaco). Per evitare questa variabilità è preferibile eseguire il dosaggio su sangue intero dopo lisi degli eritrociti, in modo da avere il contenuto totale del farmaco nel sangue.

Esami collegati: Creatininemia.

CITOCHIMICA LEUCOCITARIA

Perossidasi leucocitaria

La perossidasi è presente nei granuli primari dei neutrofili, in forte concentrazione nei granuli degli eosinofili e in concentrazione inferiore nei granuli dei monociti. L'identificazione di questo enzima nel citoplasma delle cellule leucemiche è utile per distinguere le Leucemie Acute Mieloidi dalle Leucemie Acute Linfatiche.

E' da tenere presente che esistono soggetti con deficit totale o parziale della perossidasi neutrofila o di quella eosinofila. A tutt'oggi, non si è trovato un collegamento fra questo deficit e patologia (fino a poco tempo fa si pensava che questi soggetti potessero essere più sensibili alle Candidosi)

Con l'avvento di emocitometri basati sul principio della perossidasi per la differenziazione delle popolazioni leucocitarie, le diagnosi di deficit totale o parziale di perossidasi neutrofila o eosinofila si sono moltiplicate.

Fosfatasi alcalina leucocitaria

La valutazione dell'attività della fosfatasi alcalina leucocitaria è utile per la differenziazione della Leucemia Mieloide Cronica dalle Reazioni Leucemoidi che si verificano in corso di gravi infezioni e dalle altre sindromi mieloproliferative.

Il valore normale dello *score* va da 13 a 130.



I pazienti con LMC presentano uno score tra 0 e 12.

Pazienti con Emoglobinuria Parossistica Notturna hanno generalmente uno score molto basso.

Sudan Nero B

La reazione al Sudan nero B è utile per distinguere la Leucemia Mieloide Acuta dalla Leucemia Linfatica Acuta. In genere, la colorazione al Sudan Nero B è simile alla reazione perossidasi nella capacità di distinguere la LAL dalla LANL.

Fosfatasi Acida Leucocitaria tartrato-resistente (TRAP)

La dimostrazione di fosfatasi acida tartrato-resistente nelle cellule leucemiche può essere utilizzata come marker enzimatico per confermare la diagnosi di leucemia a cellule capellute (HCL). La fosfatasi acida può inoltre risultare utile nell'identificazione del sottogruppo di cellule T delle leucemie linfatiche acute e croniche, quando non siano disponibili metodi citofluorimetrici.

Esterasi Leucocitarie

Le reazioni citochimiche per le esterasi che usano substrati diversi permettono di distinguere tra cellule della serie monocitaria e cellule della serie neutrofila.

Quindi queste reazioni vengono impiegate soprattutto nelle LANL per distinguere tra cellule della serie monocitaria e granulocitaria.

Campione: sangue raccolto in EDT A.

Per la particolare complessità di queste reazioni e per i tempi richiesti, è sempre necessario contattare prima del prelievo i Medici del Laboratorio.

Esami collegati: Emocromo, tipizzazione leucocitaria.

CLEARANCE DELLA CREATININA

SINONIMI E RIMANDI

Metodo: cinetico colorimetrico	Campione: : 1 ml di siero + urine delle 24 ore indicando la diuresi
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

S'intende la quantità di plasma che viene depurata dalla sostanza in esame nell'unità di tempo. Permette di valutare il filtrato glomerulare. E' diminuita nello shock, glomerulonefriti acute e croniche, pielonefriti, ipertensione maligna, nefroangiosclerosi, rene policistico, ostruzioni delle vie urinarie, eclampsia.

Calcolo: $(\text{creatinina urinaria}/\text{creatinina sierica}) \times \text{volume delle urine}$.

Se non è possibile raccogliere un'adeguata quantità di urine, il calcolo può essere eseguito empiricamente mediante la creatinina sierica con questa formula:

$$\text{clearance della creatinina} = \frac{98 - 16 \times (\text{età} - 20 / 20)}{\text{concentrazione plasmatica della creatinina}}$$

L'assenza di digiuno e l'eccessivo esercizio fisico 8 ore prima del test possono alterare i livelli della creatinina.

Possono interferire con i risultati:



- un'errata raccolta delle urine;
- un'inadeguata conservazione del campione;
- una dieta iperproteica;
- batteri in fase di moltiplicazione nelle urine.

Esami collegati: Azotemia, Esame delle urine, Clearance dei fosfati, Clearance dell'urea, Clearance degli urati.

CLEARANCE UREA

Metodo: chimico	Campione: : 1 ml di siero + urine delle 24 ore indicando la diuresi
Tempo di refertazione: 7 gg	

Note:

Per Clearance dell'urea si intende la quantità di plasma che viene depurata dalla sostanza in esame nell'unità di tempo (1 min.). E' aumentata nelle infezioni con febbre e nella sindrome nefrosica. E' diminuita nell'insufficienza renale acuta e cronica. L'aspirina, gli agenti chemioterapici, anfotericina B, cefalosporina, aminoglicosidi, tiazine diuretiche, indometacina, morfina, codeina, sulfonamide, metildopa, propanolo, guanetidina, pargiline, litio carbonato, destrano e sulfoniluree possono causare un aumento dei livelli ematici dell'azotemia.

Campione: è consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore dopo sospensione di tutti i farmaci nelle 72 ore che precedono il test.

Esami collegati: Azotemia, Esame delle urine, Clearance della Creatinina, Clearance dei fosfati, Clearance degli urati, Creatininemia.

CLORO

SINONIMI E RIMANDI: CL EMATICO E URINARIO

Metodo: potenziometria indiretta	Campione: 1 ml di siero Urine 24h con diuresi
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

E' il maggiore anione nello spazio extracellulare. Il suo significato fisiologico è quello di mantenere un'appropriata distribuzione dell'acqua corporea, la pressione osmotica e il normale bilancio anioni-cationi nel compartimento fluido extracellulare. Esso viene introdotto con gli alimenti sotto forma di NaCl ed eliminato attraverso i reni ed il sudore.

Aumenta nei casi di disidratazione, insufficienza renale acuta, acidosi tubulare tipo 1 e 2, acidosi metabolica, alcalosi respiratoria.

Diminuisce nei casi di iperidratazione, vomito, diarrea, acidosi respiratoria, alcalosi metabolica, morbo di Addison.

Esami collegati: Magnesio, Sodio, Potassio, Calcio.



COLESTEROLO

SINONIMI E RIMANDI:

Metodo: enzimatico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Viene introdotto giornalmente con la dieta (quota esogena) ma viene anche sintetizzato dalle cellule epatiche e praticamente da ogni cellula dell'organismo (quota endogena).

Valutazione: l'aumento dei valori è un fattore di rischio primario di cardiopatia coronarica. In presenza di valori di colesterolo superiori a 200 mg/dl devono essere eseguiti Trigliceridi e Colesterolo (dopo digiuno di almeno 12 ore ed ultimo pasto moderato). Se il colesterolo è sempre sopra il valore normale è necessario eseguire:

Colesterolo, HDL ed LDL, Apo B e APO A1 e rapporto ApoB/Apo A1.

Esami collegati: Trigliceridi, Colesterolo HDL e LDL, Apolipoproteine.

COLINESTERASI

SINONIMI E RIMANDI: PCHE-ACHE

Metodo: butirrilcolina	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

E' un enzima che catalizza la reazione Acetilcolina+colinesterasi= acetato+colina+colinesterasi. L'acetilcolina è il neurotrasmettitore rilasciato a livello delle sinapsi della placca neuromuscolare allorchè l'impulso nervoso raggiunge il muscolo. Essa provoca depolarizzazione della fibra muscolare e la conseguente contrazione.

L'acetilcolinesterasi (ACHE) o colinesterasi vera, catalizza la rapida scissione dell'acetilcolina interrompendo così la trasmissione dell'impulso. Se l'acetilcolina non venisse inattivata si avrebbe la paralisi.

L'ACHE è presente in grande quantità negli eritrociti.

L'attività colinesterasica che si misura nel siero è dovuta ad un enzima prodotto a livello epatico che si chiama pseudocolinesterasi (PCHE).

Nella intossicazione da organo-fosforici si ha caduta dell'attività sia della PCHE che della ACHE. Con questa differenza:

- l'attività PCHE diminuisce bruscamente per risalire prontamente quando cessa l'esposizione al tossico;
- l'attività della ACHE diminuisce più lentamente perché il tossico deve superare la barriera della membrana eritrocitaria, ma si mantiene più a lungo.

Quindi la determinazione della ACHE eritrocitaria può essere utilizzata per determinare una precedente esposizione agli organi-fosforici.

La PCHE essendo prodotta dal fegato, viene determinata come indice di funzionalità epatica.

La sua sintesi è strettamente legata con la sintesi dell'albumina, per cui questo enzima è ritenuto un indice sensibile dell'efficienza protidosintetica della cellula epatica.

Aumenta nell'ipertiroidismo, diabete mellito, sindrome nefrosica, obesità.



Diminuisce nelle epatopatie acute e croniche, infarto miocardio, infezioni acute, anemia, neoplasie.

Esami collegati: Indici di funzionalità epatica, Numero di Dibucaina.

COMPLEMENTO

Metodo: immunoturbidimetrico	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Le frazioni più frequentemente misurate nel siero sono il C3 ed il C4. Dato che questi fattori sono abbondanti nel siero essi possono, oggi, essere facilmente valutati con metodi immunologici. Bassi livelli indicheranno una deplezione del fattore, dovuta a consumo da attivazione, secondaria alla progressione della malattia. In caso di riscontro di valori ridotti è necessario ripetere la determinazione nel tempo, in modo da poter seguire il decorso della malattia. Valori normali o elevati possono essere interpretati come regressione dalla malattia o risposta alla terapia.

Campione: siero.

Esami collegati: C1-Inibitore, immunocomplessi circolanti.

CONTA DI ADDIS

Metodo: conta al microscopio	Campione: urine delle 24 ore
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

La Conta di Addis è la determinazione quantitativa degli eritrociti, leucociti e cilindri nella raccolta delle urine delle 24 ore. La presenza di scarsi leucociti ben conservati nelle urine, specie se di donne, è da considerarsi un normale reperto. Negli stadi infiammatori i leucociti sono aumentati di numero e si presentano in forme irregolari, più o meno in citolisi. Un'errata raccolta del campione di urine può falsare i risultati ottenuti.

CORTISOLO (EMATICO E URINARIO)

Metodo: chemiluminescenza – ematico ELISA - urinario	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato) Urine delle 24 ore
Tempo di refertazione: 2 gg – ematico 10 gg urinario	

Note:

È un ormone steroideo il cui dosaggio è utilizzato per definire lo stato di funzionalità della corteccia surrenale, per la diagnosi della sindrome di Cushing (valori elevati con la scomparsa del ritmo circadiano), studio dell'asse ipotalamo-surrene.

Nella sindrome adrenogenitale i livelli del cortisone diminuiscono con aumento dell'ACTH. Possono far aumentare i livelli del cortisolo: depressione, ansietà, alcolismo, anoressia nervosa, insufficienza renale cronica.



Esami collegati: ACTH, DHEA-S, DHEA.

CREATINCHINASI

SINONIMI E RIMANDI: CPK o CK NAC

Metodo: enzimatico sec. IFCC	Campione: 1 ml di siero (è possibile l'uso di plasma eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

E' un enzima formato da due subunità, e potendo queste ultime essere di tipo B o M, si possono avere tre forme isoenzimatiche:

- CK-BB: molto abbondanti nel cervello;
- CK-MM: molto abbondante nei muscoli scheletrici;
- CK-MB: molto abbondante nel miocardio.

Questa distribuzione relativamente organo-specifica delle forme isoenzimatiche del CK è dovuta al fatto che le subunità M e B sono proteine antigenicamente differenti codificate da distinti geni. I tessuti contenenti il CK possono esprimere esclusivamente il gene B oppure esclusivamente il gene M oppure entrambi.

Livelli molto aumentati si hanno nella distrofia muscolare di Duchenne, polimiosite, dermatomiosite, infarto acuto del miocardio, miocarditi. Livelli moderatamente aumentati negli sforzi muscolari, traumi interventi chirurgici, iniezioni intramuscolari, delirium tremens, infarto polmonare ipotiroidismo.

I livelli sono diminuiti nella riduzione della massa muscolare e nel deterioramento muscolare.

CK-MB

SINONIMI E RIMANDI: CK 2

Metodo: enzimatico sec. IFCC	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 1 giorno	

Note:

Tra gli enzimi cardiaci, il CK-MB è un marker di scelta per la diagnosi di infarto del miocardio. Le metodiche più diffuse per la determinazione del CK-MB sono quelle immunochimiche come la immunoinibizione e la immunoprecipitazione; la prima prevede l'uso degli anticorpi anti-M per inibire l'attività della frazione MM e metà dell'MB; quindi viene misurata la residua attività non M. I vantaggi di queste metodiche immunochimiche è che essi possono essere eseguiti su analizzatori automatici, quindi sono rapidi e non costosi.

Non si possono usare anticoagulanti, né eparina né EDTA. L'acido ascorbico può diminuire l'attività del CK-MB. Recentemente è stato rilevato che la Fosfatasi Alcalina elevata (maggiore di 150 U/L) può aumentare l'attività del CK-MB a causa di una cross-reattività.

Abbiamo detto che la determinazione di questo isoenzima è usato per la diagnosi di IMA. Aumento dei livelli si hanno tra la 6° e la 10° ora dopo l'inizio del dolore (in assenza di trombolisi) con un picco alla 20°-24° ora e ritorno alla normalità tra la 36° e la 72° ora. Data questa cinetica, la misurazione dell'enzima ogni 12 ore è un metodo adeguato ed efficiente per la diagnosi di IMA. I livelli di CK-MB salgono un po' prima e scompaiono più rapidamente



del CK totale. Il tempo di salita della concentrazione ematica è più breve per piccoli infarti, la qual cosa ha fatto formulare l'ipotesi che gli IMA non-Q che tendono anche ad essere piccoli, sono dovuti ad occlusione e riperfusione. La ricanalizzazione aumenta la rapidità con cui il CK-MB compare nel sangue, permettendo una diagnosi più precoce di IMA.

Esami collegati: Mioglobina, Troponina, LDH.

CREATININEMIA

SINONIMI E RIMANDI:

Metodo: Jaffè compensato	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

E' il prodotto terminale del metabolismo della Creatina. L'escrezione di creatinina sierica e urinaria è funzione della massa corporea nei soggetti normali e presenta solo delle piccole variazioni in rapporto alla dieta. Una piccola quantità di creatinina nelle urine è dovuta alla secrezione tubulare. E' utilizzata come indice di funzionalità renale.

E' aumentata nell'insufficienza renale, nell'ostruzione delle vie urinarie, nella riduzione del flusso renale (es. scompenso cardiaco e shock), nella disidratazione, nell'ipertiroidismo:

Diminuisce nella debilitazione, nella diminuzione della massa muscolare.

Farmaci interferenti sono:

la Lidocaina (nella terapia cronica con questo farmaco si possono avere aumenti dei livelli della creatinina), la Prolina (fa aumentare i livelli), il Dipyrone (Metamizolo) fa diminuire i livelli di creatinina, l'N-Acetil-Cisteina (Fluimicil) fa diminuire i livelli.

L'assenza di digiuno e l'eccessiva attività fisica 8 ore prima del test possono alterare i livelli della creatinina. A questo esame è corredato il valore del filtrato glomerulare stimato **eGFR**.

Esami collegati: Azotemia, Es. delle Urine, Clearance della creatinina.

CRIOGLOBULINE

Metodo: precipitazione	Campione: 3 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Sono proteine dotate delle seguenti proprietà:

- Precipitazione a basse temperature spontanea e reversibile (crioprecipitazione);
- Formazione a freddo di pseudo-cristalli aghiformi (rara);
- Gelificazione o aumento della viscosità alle basse temperature.

Nel siero i fenomeni suddetti si possono verificare combinati o isolatamente e sono reversibili a temperatura di 37°C o superiori. Le crioglobuline sono generalmente delle Ig o frammenti di Ig (proteina di B-J, più spesso IgM o IgG monoclonali. I fenomeni descritti in vitro possono comparire anche in vivo (acrodinia in caso di esposizione al freddo). Queste non devono essere confuse con le crioagglutinine che provocano l'agglutinazione dei globuli rossi e



possono dare anemia emolitica. Le Crioglobulinemie vengono classificate in 3 tipi in base alla composizione proteica:

- Crioglobulinemia di I tipo (circa il 25% dei casi) che è costituita solo da Ig monoclonale (in genere IgM) o da frammenti di Ig monoclonali;
- Crioglobulinemia di II tipo (circa il 25% dei casi) che è costituita da Ig monoclonale (in genere IgM) e da un Ig policlonale (in genere IgG) (crioglobulinemia mista);
- Crioglobulinemia di III tipo (circa il 50% dei casi) che è costituita da complessi di Ig policlonali, generalmente complessi IgM-IgG, più raramente da complessi IgM-IgG-IgA.

Per quanto riguarda il prelievo bisogna eseguire il prelievo in due provette perché è necessaria una quantità di siero più elevata. Il campione deve rimanere in frigo almeno una settimana prima di poter dare un referto negativo o positivo (quindi i tempi di attesa sono relativo a questo tempo di permanenza a 4 °C). Per una sicura dimostrazione il sangue deve essere prelevato con una siringa preriscaldata e versato in una provetta tenuta a 37°C. Il crioprecipitato appare come uno strato incolore, grigio o bianco sul fondo della provetta contenete il siero. Per la valutazione quantitativa ci si avvale di una provetta graduata. La caratterizzazione del crioprecipitato si esegue mediante immunoelettroforesi o immunofissazione.

Alterazione degli esami ematochimici provocate dalle crioglobuline

Nel caso non si sospetti la presenza delle crioglobuline o quando le procedure di prelievo non sono state corrette e, specie quando le crioglobuline sono in concentrazioni elevate e quindi possono precipitare anche a temperatura ambiente, si possono avere alterazioni nei risultati di alcuni esami come ad es.:

- Mancata comparsa di un picco monoclonale nel tracciato elettroforetico (con referto molte volte di ipogammaglobulinemia)
- Valori della VES falsamente diminuiti
- Parametri della coagulazione falsati
- Errori nei conteggi ematologici (soprattutto una sovrastima delle piastrine)
- Errori nella determinazione del gruppo sanguigno.

Le crioglobuline sono presenti in casdo di malattie linfoproliferative, malattie autoimmuni, malattie virali (una notevole associazione è stata rilevata con l'epatite C)

Esami collegati: QPE, Immunoelettroforesi, Immunofissazione.

CUPREMIA

Metodo: colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

Il rame (Cupremia) assieme al ferro contribuisce alla biosintesi della emoglobina ed influenza l'assorbimento stesso del ferro. Viene eliminato prevalentemente per via biliare. Aumenta nella gravidanza, infezioni acute e croniche, morbo di Hodgkin, epatopatie, collagenopatie Morbo di Wilson (fase precoce). E' diminuita nella malattia di Wilson (fase tardiva), sindrome nefrosica, morbo celiaco, ustioni.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante). Consigliabile eseguire il prelievo a digiuno



da almeno 8 ore.

Esami collegati: ceruloplasmina, emocromo, sideremia.

CURVA DA CARICO ORALE DI GLUCOSIO

Metodo: enzimatico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il criterio diagnostico universalmente accettato dalle società scientifiche per la malattia diabetica prevede che si parli di malattia diabetica quando la glicemia a digiuno su plasma venoso superi i 140 mg/dL, in più di un'occasione. Qualora non ci si trovi di fronte ad una condizione di certezza diagnostica il passo successivo è rappresentato dalla Curva da Carico Orale di Glucosio (OGTT). Questo test, pur non creando una condizione del tutto fisiologica (prevede infatti la somministrazione di solo glucosio al contrario delle normali condizioni alimentari), è al momento l'unico che possa permettere una standardizzazione internazionale rendendo così possibile una comune interpretazione dei risultati. L'effettuazione di tale test prevede regole semplici, ma che devono essere rispettate rigidamente:

- innanzitutto nei 3 giorni che precedono l'esecuzione del test il paziente deve avere un'alimentazione libera e varia che contenga almeno 150 grammi di zuccheri;
- va controllata l'eventuale presenza di stress fisico e psichico;
- va abolito l'uso di farmaci interferenti con la tolleranza glucidica (estro-progestinici, cortisone, diuretici, ecc.);
- non bisogna eseguire l'esame quando esistano delle condizioni che possono interferire con l'assorbimento del glucosio (gastroenterite, febbre, traumi, periodo mestruale, ecc.);
- il digiuno deve essere di almeno 8-10 ore e non più di 16 ore;
- per tutta la durata del test il paziente deve stare tranquillo ed in condizioni di riposo, senza fumare e, ovviamente, senza mangiare;
- in caso di comparsa di iperattività vagale (pallore, scialorrea, nausea, vomito) si deve sospendere la prova;

Dose: si consiglia una dose di 75 gr sciolti in 200-300 ml di acqua e bevuti in 5 minuti; fanno eccezione bambini 1.75 g/Kg fino ad un massimo di 75 gr) e donne in gravidanza (100 gr). I prelievi vanno sempre effettuati ai tempi 0, 60, 120. Utili, ma non sempre necessari, prelievi ai tempi 30, 90, 180. E' consigliabile la determinazione contemporanea della glicosuria, utile per identificare quelle glicosurie non correlate ad alterazioni dell'equilibrio glicometabolico. Dalla curva da carico di glucosio possono risultare 3 situazioni:

- normale tolleranza al glucosio;
- ridotta tolleranza al glucosio;
- diabete mellito.

I Test di minicarico o GCT (Glucose Challenge Test)

Tale test può essere eseguito in qualunque momento della giornata e non richiede un preventivo periodo di digiuno. Esso consiste nella somministrazione di 50 gr di glucosio e nella valutazione della glicemia un'ora dopo. Se il valore del test è superiore a 140 mg/dL deve essere un carico di glucosio standard. Il test del "minicarico" dovrebbe essere effettuato



almeno una volta nel corso della gravidanza, fra la 24^a e la 28^a settimana di gestazione, quando cioè quest'ultima è sufficientemente avanzata da consentire l'eventuale manifestarsi dei suoi effetti diabetogeni, ma ancora suscettibile di provvedimenti terapeutici utili a prevenire le complicanze perinatali. Alcuni AA consigliano di ripetere il test alla 32a settimana, per individuare i quadri ad esordio più tardivo. Nelle pazienti a rischio è comunque utile effettuare anche il test nella fase iniziale della gravidanza.

CYTOMEGALOVIRUS

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il Cytomegalovirus appartiene al gruppo degli Herpes-virus. Può infettare diversi organi e produrre un'ampia varietà di sintomi clinici. Nel corso dell'esistenza, dal 40 all'80% degli individui dei Paesi industrializzati e la quasi totalità degli individui nei Paesi in via di sviluppo va incontro ad infezione da CMV, che di norma evolve senza sintomi morbosi e si traduce in un'infezione latente con persistenza del genoma virale in alcune sedi cellulari (linfociti, epitelio dei tubuli renali, epitelio delle ghiandole salivari). L'infezione appare principalmente in pazienti immunodepressi (trapianti renali, chemioterapia, AIDS). Se contratto in gravidanza è causa di malformazioni congenite. Nell'ambito della diagnosi dell'infezione da CMV ci si può chiedere:

- se un individuo ha già contratto l'infezione in passato;
- se si trova in una fase di infezione attiva;
- se l'infezione attiva è primaria o secondaria;
- se in un neonato l'infezione attiva accertata è congenita, perinatale o neonatale.

Accertamento di sieropositività

E' questo uno dei problemi diagnostici di più facile risoluzione; infatti, anche se con diverso grado di sensibilità, molte metodiche sierologiche danno un'indicazione utile al fine di determinare la presenza in un siero di *IgG specifiche per CMV*, reperto che indica l'avvenuto contatto del virus con il sistema immunitario dell'ospite ed è quindi sinonimo di avvenuta infezione. Non c'è dubbio che la metodica più impiegata per la determinazione della sieropositività è l'**ELISA**. Essi presentano una rilevante reattività crociata con:

- altri virus erpetici
- con il virus dell'epatite B

Identificazione di un'infezione attiva

Come per la maggior parte dei virus, l'accertamento dell'infezione attiva si conduce mediante:

- **VISUALIZZAZIONE DEL VIRUS**

I bambini infettati congenitamente rappresentano uno dei pochi casi in cui il virus viene



eliminato a titolo così elevato che si ha la possibilità di vedere il virus direttamente mediante microscopia elettronica.

- **VISUALIZZAZIONE DELLE INCLUSIONI VIRALI**

Cellule con inclusioni possono essere ritrovate negli strisci di sedimenti di vari liquidi organici (urine, latte, secrezioni tracheali e cervicali). Le cellule citomegaliche possono essere facilmente riconosciute per la loro grandezza (10-40 μm), scarso citoplasma, largo nucleo con una o più evidenti inclusioni separate dalla cromatina marginata da un alone chiaro.

La sensibilità della tecnica citologica è però scarsa

Per esempio, nei neonati infettati congenitamente cellule con inclusioni citoplasmatiche sono escrete solo intermittenemente (in circa il 50% dei casi). Inoltre, il ritrovamento di tali cellule in un sedimento urinario non è di per sé patognomonico di infezione da CMV, perché altre infezioni virali possono indurre simili inclusioni citoplasmatiche. La sensibilità e la specificità aumentano se la ricerca delle cellule citomegaliche viene completata con una reazione immunologica con anticorpi specifici (ricerca diretta di antigeni virali) o con una reazione di ibridazione per la ricerca del DNA virale (ricerca del genoma virale).

- **RICERCA DEL VIRUS INFETTANTE**

La dimostrazione della presenza del virus infettante può essere ottenuta mediante l'isolamento tradizionale del virus dopo inoculo dei materiali patologici in colture di fibroblasti umani. In un tempo strettamente dipendente dal titolo virale presente nel materiale (da pochi giorni fino a 5-6 settimane), il virus induce la comparsa del caratteristico effetto citopatico caratterizzato da lesioni focali costituite da tipiche cellule citomegaliche. A questo tipo di indagine viene preferita la ricerca degli antigeni precocissimi del virus già presenti dopo alcune ore dall'inoculo del materiale e quindi ben prima dell'effetto citopatico.

- **RICERCA DIRETTA DI ANTIGENI VIRALI**

Il ritrovamento diretto di antigeni virali nei materiali patologici mediante l'utilizzo di anticorpi specifici monoclonali è stato sperimentato con successo in alcuni materiali patologici. A questo proposito è da tenere presente che in tutti i casi in cui siano le particelle virali libere ad essere ricercate (per esempio nell'urina) gli anticorpi monoclonali migliori sono quelli che riconoscono il componente più importante delle particelle virali (la fosfoproteina p65). Nei casi, invece, in cui siano le cellule infettate ad essere sottoposte ad indagine (lavaggio broncoalveolare, biopsie, ecc.) gli anticorpi migliori sono quelli che reagiscono con 2 antigeni precoci prodotti in più grande quantità (p72 e p52). Le metodiche di ricerca degli anticorpi specifici sono state applicate con successo alla ricerca di CMV nell'urina dopo concentrazione delle particelle virali mediante ultracentrifugazione, filtrazione o precipitazione, nelle cellule del lavaggio broncoalveolare ed in biopsie. In questo campo sono necessarie un'estrema cautela ed esperienza nell'interpretazione dei risultati ed una certa conoscenza della composizione cellulare del campione. Di particolare interesse clinico si è, di recente, dimostrato il ritrovamento dell'antigene p65 direttamente nei granulociti polimorfonucleati del sangue periferico per l'identificazione di una viremia (è disponibile oggi un pool di anticorpi monoclonali per la p65 e la p68 che consente di eseguire l'esame su sangue in sole 4 ore, sensibile, rapido e affidabile e senza necessità di colture cellulari).

**• RICERCA DEL GENOMA VIRALE**

Un'altra delle metodiche sostitutive dell'isolamento del virus in coltura è la ricerca del genoma virale tramite saggi di ibridazione con idonee sonde e con o senza amplificazione preliminare delle sequenze da ricercare. Per la ricerca del CMV nei materiali patologici a fini diagnostici il dot blot e l'ibridazione in situ sono state le metodiche più frequentemente utilizzate. Una svolta decisiva nel settore delle sonde molecolari si è avuta con la messa a punto della PCR. Un confronto con l'isolamento del virus in coltura (che rimane il gold standard) dimostra come la PCR presenti una sensibilità e specificità del 100%. I vantaggi rispetto all'isolamento sono i seguenti:

- richiede una quantità di materiale molto ridotta (per esempio 1 µm di urina);
- tutta la procedura può essere fatta in 24 ore;
- non viene manipolato virus infettante;
- non si devono far crescere colture di cellule in vitro;
- i materiali patologici possono essere conservati congelati per svariati mesi/anni anche con ripetuti cicli di congelamento e scongelamento (che inattivano completamente l'infettività del virus).

• PARTICOLARI SEGNI IMMUNITARI

Il ritrovamento dell'immunità specifica non attesta inequivocabilmente un'infezione in corso, ma nella maggior parte dei casi è solo sinonimo di immunità e quindi di infezione pregressa. Per tale motivo le indagini sierologiche, almeno tutte le volte che esse rappresentano l'unico strumento utilizzabile ai fini diagnostici, vengono di norma condotte con particolari accorgimenti (ricerca degli anticorpi IgM, ricerca di un aumento del titolo anticorpale in 2 campioni distanziati, ecc.) intesi a dimostrare o una particolare classe di anticorpi o un anticorpo con una determinata specificità oppure un "movimento" anticorpale in atto. Qualora comunque, i campioni di siero non siano stati raccolti ad appropriati intervalli di tempo e nelle fasi opportune dell'infezione, l'incremento del titolo sfugge all'investigatore; per questo si preferisce ricorrere a tecniche che richiedano l'esame di un solo campione di sangue. A questo fine si possono ricercare le IgM specifiche, che compaiono nel 60-75% delle donne gravide con infezione attiva, fermo restando che in questi soggetti titoli elevati di IgM sono stati ritrovati anche dopo molti mesi dall'esaurimento della fase acuta dell'infezione. Le IgM vengono inoltre prodotte dal 70% circa dei neonati con infezione congenita.

Identificazione dell'infezione primaria

La diagnosi dell'infezione primaria nella madre è estremamente importante, perché ad essa è soprattutto legata la possibilità di trasmissione dell'infezione al feto. Per diagnosticare un'infezione primaria oltre alla dimostrazione di uno stadio di infezione acuta che si può ottenere mediante una o più delle metodiche discusse nei paragrafi precedenti, bisogna dimostrare sierologicamente la comparsa di anticorpi in un soggetto precedentemente sieronegativo. In assenza di un campione di sangue ottenuto precedentemente all'infezione o contemporanea all'inizio della sintomatologia, è evidente che la comparsa *ex novo* di anticorpi



non può essere evidenziata. Sono state quindi cercate metodiche alternative che si basano sull'analisi di un unico campione di sangue. E' stato proposto di ricercare la presenza di IgM citolitiche e IgM che reagiscono con la membrana di fibroblasti non infetti (presenti entrambe solo nell'infezione primaria). Inoltre, dall'analisi della risposta anticorpale contro le singole proteine strutturali del virus abbiamo evidenziato che la risposta immune nell'infezione primaria è oligoclonale (di solito i primi anticorpi a comparire sono specifici per la p65) mentre nell'infezione secondaria la risposta è policlonale. Sfruttando proprio questa diversità immunitaria nei 2 tipi di infezione è stato messo a punto un sistema ELISA competitivo in grado di differenziare i 2 tipi di infezione. Infine, è stato proposto un test ELISA che si basa sulla possibilità di poter ritrovare anticorpi a diversa affinità, mentre gli anticorpi che si formano nel corso delle infezioni secondarie hanno un'affinità maggiore. E' chiaro che, poiché tutte queste soluzioni non sono state sperimentate ancora in un numero sufficientemente alto di casi e dimostrati di essere validi da più di un laboratorio, sarebbe consigliabile che almeno 2 di questi test dessero la stessa indicazione prima di poter definire con sufficiente sicurezza un'infezione primaria.

Identificazione del passaggio dell'infezione dalla madre al feto

Qualora venga accertata un'infezione attiva primaria in una donna in gravidanza è consigliabile continuare gli accertamenti diagnostici sul prodotto del concepimento in modo da determinare l'avvenuto passaggio dell'infezione. Il modo più idoneo consiste nella ricerca del virus nelle cellule del liquido amniotico e nel liquido stesso. Parallelamente è consigliabile ricercare le IgM specifiche nel sangue fetale.

Identificazione di un'infezione congenita

Le infezioni congenite da CMV devono essere distinte dal punto di vista diagnostico, da altre forme di infezioni congenite come rosolia, toxoplasma, treponema, herpes simplex ed alcuni batteri (*Listeria monocitoides*). Il ritrovamento di microcefalia con o senza calcificazioni periventricolari favorisce una diagnosi di infezione congenita da CMV così come la presenza di linfocitosi e di linfociti atipici, ma molto frequentemente si osserva una sovrapposizione di dati clinici tale che la diagnosi di laboratorio è l'unico mezzo risolutivo. Per quanto riguarda la dimostrazione diretta del virus, questa deve avvenire nei primi 10 giorni di vita del neonato e preferibilmente il più presto possibile per differenziarla dall'infezione perinatale, caratterizzata anch'essa dalla eliminazione del virus molto precoce dopo la nascita. Il virus deve essere ricercato nel sangue, nell'urina e nel tampone faringeo. La diagnosi sierologica di infezione congenita può essere fatta solo dimostrando la presenza di IgM specifiche nel sangue del cordone ombelicale o nel sangue del neonato nei primi giorni di vita. Varie metodiche sono state impiegate a questo fine ma tutte presentano problemi di sensibilità e specificità. I problemi maggiori appaiono essere la difficoltà nell'identificazione di bassi livelli di IgM fetali in presenza di alti livelli di IgM materni. Il Fattore reumatoide spesso complica ulteriormente la diagnosi e va rimosso.

Esami collegati: Toxotest, Rubeotest, Herpes Virus 1 e 2.



D - DIMERI

Sinonimi e Rimandi: Prodotti di Degradazione della Fibrina

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml plasma citrato
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Normalmente, il sangue circola a contatto con l'endotelio delle arterie, delle vene e della microcircolazione. La proprietà fondamentale della cellula endoteliale è di possedere una superficie vascolare non trombogena, a contatto della quale il sistema della coagulazione non si attiva e sulla quale non aderiscono le piastrine. Quando si crea una lesione sulla parete vascolare, la fase iniziale del processo di ricostituzione tissutale è l'emostasi primaria. E' un meccanismo di urgenza che riesce ad otturare la lesione con un trombo bianco essenzialmente piastrinico. Il suo consolidamento avviene durante la seconda fase, per attivazione del sistema coagulativo. Non appena si completa la cicatrizzazione della ferita il trombo si dissolve durante la terza ed ultima fase, la fibrinolisi. Il sistema della coagulazione, attivato da una lesione vascolare, genera la trombina. Questa agisce su una proteina plasmatica solubile, il Fibrinogeno. Essa è una grossa molecola, costituita da 6 catene polipeptidiche simmetriche a due a due: 2 catene alfa, 2 catene beta e due catene gamma. Le catene alfa e beta portano alle loro estremità N-terminale rispettivamente i peptici A e B.

La trombina scinde da ogni molecola 2 fibrino-peptidi A (FPA) e 2 fibrino-peptidi B (FPB). Tale operazione consente ai monomeri della fibrina di associarsi.

Il fattore XIII attivato (XIIIa) in presenza di Ca^{++} stabilizza i polimeri creando dei legami covalenti tra 2 catene gamma dei monomeri e tra catene alfa portando alla formazione del coagulo di Fibrina insolubile. A questo punto si attiva il sistema fibrinolitico che, grazie alla plasmina è in grado di ripristinare la normale circolazione del sangue. La Plasmina deriva dall'attivazione, in situ, del suo precursore, il Plasminogeno, ad opera del tPA (attivatore tissutale del Plasminogeno). Il tPA è controllato dal suo inibitore, il PAI (Inibitore dell'Attivatore del Plasminogeno) e soltanto la frazione del tPA non inibita dal PAI si fissa sul coagulo di Fibrina. La Plasmina degrada progressivamente la Fibrina in frammenti solubili che si separano dal coagulo e passano in circolo. La Plasmina esercita la sua azione proteolitica in siti ben definiti dei singoli monomeri di fibrina. La degradazione inizia dalla superficie più esterna del monomero per estendersi ai siti più interni. I legami gamma-gamma sono invece resistenti all'azione della Plasmina. I primi frammenti liberati sono di grosse dimensioni; man mano che la degradazione procede essi diventano più piccoli. Quello più piccolo è il DDE, costituito da 2 frammenti D uniti da un legame covalente gamma-gamma (D-Dimero) e collegati con un frammento E grazie ad un legame idrogeno.

I D-Dimeri sono dunque caratterizzati dal legame gamma-gamma tra due frammenti D, creato dal fattore XIIIa in presenza di Ca^{++} .

La comparsa dei D-Dimeri nel plasma è la prova di una fibrinolisi derivante dall'attivazione della coagulazione. E' particolarmente interessante nella seguenti patologie:

- Coagulazione intravasale disseminata (cirrosi alcolica, cancro setticemia, epatite, politraumatismi ecc.) le concentrazioni sono elevate e possono raggiungere i 60.000 ng/ml; i valori elevati sono indice di prognosi sfavorevole.
- Trombosi venose profonde le concentrazioni sono in genere elevate e possono raggiungere valori di 19000 ng/ml. Una bassa concentrazione plasmatica favorisce l'esclusione di una TVP.



- Embolie polmonari: anche qui i valori sono elevati.

Esami collegati: PT, APTT, Fibrinogeno. ATIII.

DELTA 4-ANDROSTENEDIONE (PLASMATICO)

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (è possibile anche su plasma). Prelievo a metà mattino
Tempo di refertazione: 7 gg	

Note:

E' il principale androgeno prodotto dall'ovaio. Di conseguenza i livelli plasmatici risultano elevati in caso di iperandrogenismo funzionale di origine ovarica; possono anche essere dovuti al deficit degli enzimi 11 e 21 idrossilasi. Aumenta nell'irsutismo della donna. In caso di irsutismo i tests di soppressione con Desametazone e di stimolazione con Buserelin e Synacthen permettono di indirizzare la diagnosi verso un'origine surrenalica od ovarica.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: FSH, 17 beta-Estradiolo, Progesterone, Prolattina, Testosterone, DHEA-S, LH, DHT.

DHEA

SINONIMI E RIMANDI: DEIDRO-EPIANDROSTERONE PLASMATICO

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (è possibile anche su plasma)
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Proviene per più dell'80% dal surrene ed ha una bassa attività androgenica. I suoi valori aumentano in caso di sindrome dell'ovaio policistico e tumori surrenalici.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante) o plasma.

Esami collegati: DHEA-S, Cortisolo, Testosterone Libero.

DHEA - S

SINONIMI E RIMANDI: DEIDROPIANDROSTERONE SOLFATO

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico (è possibile anche su plasma)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Viene eliminato attraverso le urine dove costituisce la quota maggiore dei 17- chetosteroidi. La valutazione dei livelli plasmatici di DHEAS è di importanza fondamentale nell'identificazione delle cause e nel trattamento di pazienti con eccesso di androgeni, in quanto è prodotto prevalentemente dal surrene, a differenza del DHEA, del Delta 4-Androstenedione e del Testosterone (iperandrogenismo funzionale surrenalico).

Campione: siero (provetta senza anticoagulante) o plasma.



Esami collegati: FSH, 17-beta Estradiolo, Progesterone, Prolattina, Testosterone, LH, Androstenedione, DHT.

DHT

SINONIMI E RIMANDI: DIIDROTESTOSTERONE

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Rappresenta il principale prodotto di riduzione, ad opera della 5-alfa-reduttasi, del testosterone e rappresenta un marcatore dell'irsutismo. Tutti i farmaci interferenti con i livelli plasmatici di testosterone devono essere interrotti 72 ore prima del test.

Esami collegati: FSH 17-beta-Estradiolo, Progesterone, Prolattina, Testosterone, DHEAS, Androstenedione, LH.

DIGOSSINA

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

E' il glucoside digitalico più largamente impiegato. Dopo somministrazione orale la massima concentrazione si raggiunge tra i 60 e i 90 minuti con un'emivita negli adulti di circa 40 ore; se somministrato per via endovenosa la massima concentrazione si ottiene subito. Viene eliminata per 80% per via renale (nell'insufficienza renale sono facili le intossicazioni).

17-BETA-ESTRADIOLO

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato, non itterico né lipemico (è possibile anche l'uso di plasma eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

E' uno steroide sintetizzato dalle cellule della teca della granulosa dell'ovaio e dal testicolo ed in minima parte dalla corteccia surrenale. E' il più potente estrogeno naturale, trasportato in circolo legato alla SHBG e all'albumina ed eliminato con le urine e con le feci. All'inizio del ciclo è presente nel sangue a livelli minimi. Cresce lentamente dalla fase follicolare precoce a quella tardiva fino a subire alla fine di questo un rapido incremento. Il picco viene raggiunto 14-24 ore prima dell'LH e 24-36 ore prima dell'ovulazione. Perciò è predittivo dell'imminente ovulazione.

La valutazione dei livelli plasmatici di questo ormone rappresenta un indice di funzionalità ovarica e dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi. Diminuisce in caso di: ermafroditismo, ipogonadismo ipogonadotropico, terapia estro-progestinica, S. di Turner.

Aumenta in caso di: gravidanza, tumori ovarici estradiolo secernenti, tumori testicolari estrogeno secernenti.



In menopausa è importante dosare l'Estrone e il 17 beta Estradiolo.

Esami collegati: FSH, LH, Progesterone, Prolattina, Testosterone, Dheas, Androstenedione, DHT.

ELETTROFORESI DELL'EMOGLOBINE

SINONIMI E RIMANDI: (FORESI DELL'HB-EMOGLOBINE PATOLOGICHE)

Metodo: HPLC	Campione: sangue intero + EDTA
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

L'Hb nell'adulto è rappresentato da tre frazioni:

Hb-A1 > 95%, **HbA2**= 1.5-3.5%, **HbF** < 2%.

Una frazione delle Hb e principalmente HbA1, si lega al glucosio con un legame irreversibile (vedi emoglobina glicosilata). L'uomo ha un patrimonio emoglobinico polimorfo per cui durante lo sviluppo fetale si susseguono emoglobine differenti. Durante il II trimestre si ha il 5-10% di HbA1 ed il 90-95% di HbF. Nel III trimestre aumenta HbA1 e diminuisce la F e alla nascita si ha il 10-30% di HbA1, lo 0.2% di HbA2, ed il resto di HbF.

Le Emoglobinopatie sono determinate da alterazioni della composizione delle emoglobine e sono di 2 tipi:

- Talassemie, caratterizzate da un difetto quantitativo nella sintesi delle catene polipeptidiche, qualitativamente normali. Si possono avere alfa, beta, gamma, delta-talassemie. La condizione può essere omozigote o eterozigote. Queste ultime sono lievi e spesso asintomatiche, mentre le talassemie omozigote sono molto più gravi.
- Emoglobinopatie da sostituzioni, determinate da una anomalia della struttura della catena con sostituzione di un aminoacido. Si conoscono più di 300 mutazioni dell'Hb per sostituzione, fortunatamente molte di esse sono senza conseguenze. Solo quando si ha un'alterazione della capacità di trasporto dell'O₂, della stabilità dell'Hb e della solubilità dell'Hb si manifestano fenomeni patologici. Le Hb varianti da sostituzione sono state chiamate Hb-S, Hb-D, Hb-C, Hb-E ecc.

L'Hb A2 aumenta nella talassemia, nell'anemia megaloblastica.

Diminuisce in caso di deficit di ferro, eritroleucemia, delta talassemia, emoglobinopatie, assenza congenita (totale nell'omozigote, parziale nell'eterozigote).

La HbF prevalente nel feto per la sua alta affinità per l'O₂, nel neonato si riduce al 70-80% e si riduce ancora nei primi sei mesi di vita. Aumenta nella talassemia omozigote (10-90%), nell'eterozigote (< del 5%), nell'anemia perniciosa, aplastica.

Diminuisce nell'anemia emolitica del neonato.

Esami collegati: Emocromo.

ELETTROFORESI PROTEICA

Sinonimi e Rimandi: Protidogramma QPE

Metodo: elettroforetico	Campione: 1 ml di siero non emolizzato
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

Elettroforesi delle sieroproteine a 5 zone.



E' la più usata in Italia e in gran parte del mondo. Si tratta di una metodologia in cui sono riconoscibili 2 tempi tecnici principali:

- la separazione
- la valutazione numerica densitometrica

Affinché la valutazione densitometrica possa avvenire nel modo più automatico possibile, è necessario che le zone siano molto compatte, ma in questo viene alquanto mortificata la risoluzione della separazione.

Le 5 zone sono rappresentate da:

- Albumina
- Alfa 1 (rappresentata dall'alfa-1-antitripsina)
- Alfa 2 (rappresentata dall'alfa-2-macroglobulina e dall'aptoglobina)
- Beta (rappresentata dalla transferrina e dal C3)
- Gamma (rappresentata dalle IgG, IgA e IgM)

Questa tecnica può dare informazioni quantitative solo su Albumina ed IgG ed informazioni qualitative solo, e parzialmente, sull'albumina e può rilevare componenti monoclonali solo di grande e media entità. L'aspetto della zona Alfa-2 è causato come detto da 2 proteine: Alfa-2-macroglobulina ed Aptoglobina. Quest'ultima è ricca di significato diagnostico in quanto aumento nell'inflammatione e si riduce nell'emolisi e nelle epatopatie, mentre la prima è priva di significato clinico. Tuttavia, la sua concentrazione è elevata in età giovanile, minore in quella adulta e spesso di nuovo aumentata in età avanzata. E' pertanto possibile che la valutazione densitometrica, necessariamente globale, della zona includente le 2 proteine, possa mancare di evidenziare variazioni in un senso o nell'altro dell'aptoglobina, se queste vengono mascherate da variazioni opposte dell'altra componente. La zona Beta riflette le variazioni della transferrina e del C3, mentre la beta-lipoproteina determina normalmente solo il colore di fondo. E' quindi evidente la mancanza di significato di una valutazione numerica derivante dalla somma di queste 2 proteine capaci di dare informazioni, ma a comportamento fisiologico indipendente e spesso opposto, come in caso di processo infiammatorio, in cui se lo stimolo perdura per più di 1 settimana la transferrina comincia a ridursi ed il C3 è aumentato. Questa tecnica dovrebbe essere abbandonata, ma una delle difficoltà è che i clinici hanno imparato che variazioni nelle percentuali di tali frazioni sono caratteristiche di diversi stati patologici e frappongono delle difficoltà a non ricevere più come referto il tracciato densitometrico. L'albumina aumenta nella disidratazione e diminuisce in una ampia varietà di patologie subacute e croniche, incluse patologie del fegato, renali e gastrointestinali, malnutrizione e cachessia. Le alfa 1 globuline sono aumentate in caso di patologia infiammatoria o neoplastica attiva. Le alfa 2 globuline sono aumentate nelle neoplasie, nella febbre reumatica, nella sindrome nefrosica, nel diabete mellito, in gravidanza. Una elevazione diffusa policlonale delle Ig è segno di un processo immunologico cronico (cirrosi ed epatite cronica attiva), patologie del collagene, patologie infettive, stati infiammatori, neoplasie.

Si tende però oggi nei laboratori ad utilizzare delle tecniche elettroforetiche con una migliore risoluzione come ad es. l'elettroforesi sieroproteica corretta o l'elettroforesi capillare.

Le caratteristiche principali di queste elettroforesi a più elevata risoluzione sono che:

- nei sieri normali deve essere visibile la tenue banda della pre-albumina;
- deve essere riconoscibile l'eterozigosi dell'antitripsina (che in Italia è presente in almeno 4/1.000 elettroforesi)
- in zona alfa-2 deve essere distinguibile la componente anodica rappresentata dalla alfa-2-macroglobulina da quella catodica rappresentata dall'aptoglobina;



- la zona Beta deve essere divisa in 2 bande (beta-1= transferrina, beta-2= C3);
- in zona Gamma devono essere riconoscibili Componenti Monoclonali a concentrazione inferiore a 1 gr/L e l'oligoclonalità (a questo proposito è stato visto che con l'elettroforesi a 5 zone solo il 23% dei laboratori era in grado di riconoscere un Componente Monoclonale di 1.7 g/L) con la tecnica dell'elettroforesi corretta la refertazione non è più densitometrica, ma avviene tramite ispezione visiva del tracciato con refertazione riferita alle singole proteine.

E' ovvio che queste nuove tecniche portino a dei grossi vantaggi diagnostici, ma anche a vantaggi economici perché nella maggior parte dei casi non sono gravate da costi aggiuntivi e consentono di limitare le richieste di proteine specifiche (ad es. aptoglobina, transferrina, complemento) da eseguire con tecniche più costose.

Fattori interferenti

I fattori interferenti nel campione possono dar luogo a bande inaspettate, ad esempio:

- nei campioni di plasma per la presenza di fibrinogeno
- nei campioni fortemente emolizzati
- nei campioni con forte contaminazione batterica
- in presenza di crioglobuline

Campione: siero

Si richiedono almeno 8 ore di digiuno prima del test e una dieta povera di grassi nei giorni che lo precedono.

EMOCOLTURA

Metodo: colturale

Campione: sangue prelevato in flaconi forniti dal laboratorio

Note:

L'emocoltura è un'indagine diagnostica che viene effettuata allorché vi sia il sospetto di sepsi. Il ritrovamento di microrganismi nel sangue di un paziente ha importanza diagnostica e prognostica. L'emocoltura infatti è il mezzo diagnostico essenziale per la diagnosi dell'agente eziologico ed è supporto importante per la scelta terapeutica. Alcuni fattori sono determinanti l'esito di tale indagine: le modalità di prelievo del sangue, la quantità del sangue, il numero ed i tempi dei prelievi.

Materiali per la raccolta

- aghi e siringhe monouso
- contenitori appositi contenenti brodo di coltura e/o provette Isolator

Modalità di prelievo

- sgrassare la cute con alcool etilico al 70% o etere
- disinfettare la cute lasciando in sede di prelievo un impacco di clorexidina in soluzione alcolica per 2-4 minuti.
- non usare iodio
- rimuovere l'eccesso di disinfettante con alcool, con movimenti dal centro alla periferia.



Prelievo

- non toccare con le dita la zona disinfettata; munirsi sempre di guanti;
- rimuovere il cappuccio dei flaconi per emocoltura, disinfettare con alcool il setto di gomma;
- raccogliere il sangue in siringa o con l'apposito set di prelievo ed immetterlo immediatamente nei flaconi.

TEMPI DI PRELIEVO

Il prelievo di sangue va effettuato un'ora prima o al massimo al momento dell'accesso febbrile. E' buona norma praticare l'emocoltura prima che venga somministrata la terapia antibiotica. Se ciò non fosse possibile, bisognerà eseguirlo appena prima la nuova somministrazione.

Sepsi acuta, meningite, osteomielite, artrite, pielonefrite: prelevare due o tre campioni.

Endocardite acuta: sono indicati tre separati prelievi, ad intervallo di 2-3 ore l'uno dall'altro.

Endocardite subacuta: tre prelievi ad intervalli di 15-30 minuti. Se sono negativi, effettuare altri tre prelievi con le stesse modalità.

Endocardite in terapia: due emocolture al dì per tre giorni consecutivi;

Febbre di origine sconosciuta: due prelievi a distanza di un'ora uno dall'altro. Se saranno negativi, dopo 24-36 ore, effettuare altri due prelievi con le stesse modalità.

VOLUME

La quantità di sangue da analizzare un fattore critico nell'emocoltura. Ciò perchè in molte batteriemie la carica batterica presente è bassa, soprattutto nei pazienti in cui è in corso un trattamento antibiotico. Nei bambini è sufficiente una quantità di sangue inferiore, poichè la batteriemia è sempre più significativa che nell'adulto.

Quantità raccomandate

bambini: 1-5 ml; adulti: 10ml

I tempi necessari per l'esecuzione dell'emocoltura si possono così riassumere:

- **tempo 0-2 giorni:** Già dopo sei ore, come nel caso di infezione stafilococcica, si può osservare l'intorbidamento del brodo e quindi crescita batterica, senza che naturalmente possa essere fatta diagnosi del batterio in causa.
- **tempo 2-3 giorni:** Diagnosi presuntiva (isolamento su terreni selettivi + colorazione di Gram)
- **tempo 3-4 giorni:** Diagnosi batteriologica (identificazione con metodica standard)
- **tempo 7 giorni:** Se non c'è stata evidenza di crescita, la coltura può essere abitualmente considerata negativa.

EMOCROMO CON FORMULA

Metodo: conta al microscopio	Campione: sangue prelevato in flaconi forniti dal laboratorio
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

L'Emocromo comprende il conteggio dei seguenti parametri:



- numero dei leucociti, eritrociti e piastrine
- emoglobina
- ematocrito
- indici eritrocitari

Viene considerato l'esame di base per tutte le indagini ematologiche. La valutazione di ogni parametro viene effettuata mediante conteggio con contatori elettronici che garantiscono più precisione e riproducibilità. Solo in rarissimi casi può essere effettuata per conteggio diretto al microscopio ottico. Dopo opportuna colorazione viene effettuata la formula leucocitaria per la valutazione morfologica dei leucociti.

Campione: sangue anticoagulato con EDTA.

Esami collegati: Reticolociti, Ferritina, Sideremia, Transferrina, Vitamina B12, Acido Folico, Elettroforesi della Emoglobina, Emoglobina Fetale.

EMOGLOBINA GLICOSILATA

Metodo: DCCT	Campione: 2 ml di sangue
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il glucosio è legato ai 2 gruppi amminici terminali delle catene beta dell'Hb. L'HbA1 rappresenta il complesso di tutte le frazioni: HbA1a1 (Hb-fruttosio-1-6-difosfato; HbA1a2 (Hb-glucosio-6-fosfato); HbA1b (prodotto di deaminazione dell'Hb a significato sconosciuto); HbA1c (Hb glicosilata). Quindi rappresenta una delle frazioni minori dell'Hb umana normale (HbA1) da cui differiscono per la presenza di radicali glucidici.

I valori di HbA1c possono essere utilizzati per il monitoraggio dei pazienti diabetici. I valori medi di glicemia durante i 3-4 mesi precedenti la determinazione della HbA1c sono desumibili dalla seguente formula:

- $\text{Glicemia media (mg/dl)} = 33.3 (\text{HbA1c}) - 86.$

Si possono avere livelli falsamente bassi in individui affetti da: anemia emolitica, alti livelli di eritrociti immaturi, cirrosi epatica, insufficienza renale cronica.

Possono causare falsi valori elevati: elevati livelli di Hb, quantità elevate di Hb fetale, anemia sideropenica.

Esami collegati: Peptide C, Glicemia, Insulina, Fruttosamina.

ERITROPOIETINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 2 ml di sangue EDTA
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

E' un ormone glicoproteico formato dal fegato nella vita fetale e dopo la nascita principalmente dal rene in risposta all'ipossia. Diversamente dagli altri fattori di crescita eritropoietici, essa è un vero ormone. La sua determinazione rappresenta un utile sussidio diagnostico in diverse patologia ematologiche, quali le anemie e le policitemie. Pazienti con policitemia secondaria presentano valori elevati, mentre caratteristicamente i pazienti con



policitemia vera presentano valori ridotti o addirittura assenti. Nelle anemie i valori di eritropoietina sono aumentati, mentre nell'anemia da insufficienza renale sono sensibilmente ridotti.

Da qualche tempo si è avuta la possibilità di usare la Eritropoietina umana ricombinante a scopo terapeutico. Uno degli usi è la terapia sostitutiva negli stati di carenza di eritropoietina. Il classico esempio e indicazione farmacologia principale è l'anemia da insufficienza renale cronica. In questo gruppo rientrano anche i pazienti con infezione da HIV che sono anemici per la terapia con AZT, i pazienti neoplastici con anemia indotta da chemioterapia. Una seconda area, che ha la potenzialità per un'ampia indicazione del farmaco è il suo uso per stimolare un'eritropoiesi normale in situazione perichirurgica. Questa può essere stimolata mediante l'uso del farmaco per incrementare le autotrasfusioni cosicché possa essere ridotto l'uso di sangue omologo e i rischi ad esso collegati. Un altro uso di questo farmaco è quello di utilizzarlo per incrementare i livelli endogeni, in sostanza rendendo il paziente stesso la sua "banca del sangue", aumentando cioè la massa di GLR e quindi evitando la esposizione a sangue omologo durante la chirurgia elettiva.

ESAME CITOLOGICO DELLE URINE

Metodo: osservazione al microscopio	Campione: urine del mattino
Tempo di refertazione: 7 gg	

Note:

Ha come principale applicazione la ricerca delle cellule neoplastiche derivanti da tumori della vescica, delle vie escrettrici e dei reni. Poiché neoplasie uroteliali a basso grado e patologia non neoplastica delle vie urinarie (come traumatismi secondari a cateterismo, cistoscopia ed alla presenza di calcoli) possono presentare aspetti citologici sovrapponibili, è indispensabile, per una corretta interpretazione, che la lettura sia corredata da esatte notizie cliniche.

Modalità di raccolta delle urine: scartare la prima minzione del mattino, bere un bicchiere di acqua, possibilmente passeggiare onde facilitare il distacco del maggior numero di cellule, e dopo due ore raccogliere direttamente le urine nel contenitore. Raccogliere le urine per tre giorni consecutivi. Il campione deve pervenire in laboratorio entro 2 ore dalla raccolta.

Esami collegati: CEA, TPA.

ESAME DELL'ESPETTORATO

Metodo: coltura	Campione: espettorato
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

Campione: L'espettorato deve essere raccolto al mattino, mediante espettorazione spontanea in contenitore sterile trasparente. Se il materiale è costituito da saliva, il laboratorio dovrà richiedere un altro campione. Se il paziente non espettora, si deve consigliare di praticare un aerosol con soluzione fisiologica tiepida per provocare un'espettorazione. L'invio dell'espettorato in Laboratorio deve essere accompagnato da riferimenti alla situazione clinica, perché le modalità per esaminare il laboratorio il materiale e la redditività dell'esame sono diverse a seconda dell'affezione che è sospettata.



MODALITA' DEL PRELIEVO DEI MATERIALI DALLE VIE RESPIRATORIE

MATERIALE	VANTAGGI	SVANTAGGI
Espettorato	Facile da ottenersi	Inquinamento da germi del cavo orale e del crocicchio naso-faringo-tracheale
Prelievo broncoscopico	Tecnica nota e diffusa	Possibile inquinamento Inibizione da anestetici
Puntura transtracheale	Flora prelevata nel punto prescelto	Metodo cruento Sanguinamento
Puntura polmonare	Decisiva per la diagnosi in casi particolari	Traumatismo

In particolari situazioni, vanno sottoposti ad indagine materiali diversi dall'espettorato, ad es. il liquido prelevato mediante broncoscopia, oppure il materiale da puntura trans-tracheale, oppure il liquido di lavaggio broncoalveolare, oppure il sangue. Il prelievo di alcuni di questi materiali è possibile anche in pazienti ambulatoriali. Per poter ottenere delle indicazioni diagnostiche bisogna comunque seguire le indicazioni riportate nella tabella successiva.

INDICAZIONI DELL'ESAME DELL'ESPETTORATO NELLO STUDIO DELLE AZIONI RESPIRATORIE

FORMA CLINICA	REDDITIVITA' DELL'ESAME
Polmoniti, broncopolmoniti ed Azioni	scarsa (elevata in presenza di forme monomorfe)
Respiratorie acute	(in fase acuta preferibile l'emocultura)
Sospetto ascesso	nulla (usare metodi cruenti)
BPCO in riaccutizzazione	notevole

L'espettorato rappresenta comunque il materiale più diffusamente studiato, per la facilità del suo prelievo. Lo studio batteriologico dell'espettorato inizia con la sua osservazione macroscopica, perché dalle sue caratteristiche macroscopiche ed organolettiche si possono trarre delle deduzioni immediate circa la presenza di un processo logistico, le indicazioni di una terapia antimicrobica, l'efficacia della terapia.

OSSERVAZIONI DEDUCIBILI DALLA VALUTAZIONE MACROSCOPICA DELL'ESPETTORATO

**VALUTAZIONE MACROSCOPICA****OSSERVAZIONI DEDUCIBILI****Caratteristiche**

Purulento

flogosi (quantizzare entità con 3+, 2+, 1+ in rapporto alla quantità di pus)

Mucoso, aderente, filante

Stato asmatico

Colore

Biancastro

Presenza di miceti

Verdastro

Presenza di Ps. Aeruginosa

Rugginoso

Presenza di germi Gram+

Rosa-Rosso

Presenza di emazie

Odore

Fetido

Presenza di germi anaerobi

Lievitiforme

Presenza di miceti

Quantità

Abbondante

Ascessi, bronchiectasie, ecc.

Sull'espettorato possono essere compiute le seguenti indagini, che devono trarre spunto dal sospetto diagnostico.

ESAME MICROSCOPICO

E' il metodo rapido per eccellenza, e deve essere eseguito dopo colorazione secondo Gram. Il materiale viene valutato considerando il rapporto granulociti/cellule epiteliali. La presenza quasi esclusiva di granulociti, senza una componente epiteliale, indica la provenienza del materiale dalle vie aeree inferiori (mentre la presenza di sole cellule epiteliali a sospettare che si tratti solo di saliva, il che comporta la richiesta di un nuovo campione). Si osserverà se la flora batterica è monomorfa o predominante (*Str. pneumoniae*, *Kl. pneumoniae*) e se esistono particolari cristalli (corpi di Charcot-Lyden), granulociti eosinofili, ecc.

VALUTAZIONE DIAGNOSTICA MICROSCOPICA DELLE SECREZIONI DELLE VIE RESPIRATORIE**ELEMENTI RICONTRATI****VALUTAZIONE DIAGNOSTICA****Corpuscolati**

Leucociti (con rare cellule epiteliali)

Provenienza del materiale dalle vie aeree inferiori



pneumoniae e da *H. influenzae* sono molto frequenti; quelle da *Pseudomonas* sp. e da *Enterobacteriaceae* colpiscono più frequentemente individui defedati, eventualmente ricoverati in Ospedale. Particolare interesse desta lo Stafilococco produttore di lattamasi e meticillino-resistente. Le affezioni da *miceti* (*Candida*, istoplasmosi, coccidioidomicosi) vanno accertate con l'isolamento, ma per certe specie la presenza in circolo di anticorpi deve essere dimostrata, per una valutazione di patogenicità. Per l'istoplasmosi, ad esempio, si esegue una metodica di co-agglutinazione.

2. Le affezioni da *protozoi* (*pneumocystis carinii*) richiedono materiale prelevato con metodo cruento; le caratteristiche cisti a otto nuclei vengono identificate mediante colorazione secondo Giemsa.

3. Le affezioni da *Micobatteri* vengono diagnosticate ricercando la presenza di germi acido-alcool-resistenti. La tecnica di colorazione di Ziehl-Neelsen è quella tuttora maggiormente seguita. Successive colture sono necessarie per identificare i micobatteri responsabili, siano essi appartenenti alla specie *Mycobacterium tuberculosis complex* (che include il *M. hominis* e il *M. bovis*), o a micobatteri diversi dal bacillo tubercolare, che includono il *M. Kansasii*, il *M. scrofulaceum*, il *M. avium complex* (*Mac*, anche detto *M. avium intracellulare*), il *M. fortuitum chelonaei complex*, e altri. Una distinzione tra il *M. hominis* (il più frequente) e tutti gli altri micobatteri può essere facilmente fatta eseguendo il *test alla niacina* (positivo solo per il *M. hominis*). Tra i micobatteri non tubercolari (di frequente reperto nei pazienti immunodepressi) devono essere studiati soprattutto quelli patogeni per l'uomo, cioè quelli elencati sopra. Sul ceppo isolato va eseguito un antibiogramma. I medicinali che rappresentano la base della terapia antitubercolare sono isoniazide, rifampicina, etambutolo e pirazinamide. L'impiego della streptomina è riservato a forme particolari. L'esecuzione dell'antibiogramma è essenziale nei casi che, dopo un ciclo iniziale di terapia, non si sono negativizzati. Questi dati terapeutici riguardano anche il patologo clinico, che deve tenere sotto controllo alcune variabili. La rifampicina, per quanto ben tollerata, ha la caratteristica, essendo eliminata per via biliare e riassorbita dall'intestino, di entrare in competizione con la bilirubina e altre sostanze (bromosulfaleina) per l'eliminazione biliare. Di qui la possibile comparsa di itteri; ma una vera e propria lesione epatica può verificarsi solo quando alla rifampicina si associa l'isoniazide ad alte dosi. E dunque necessario tenere sotto controllo il fegato (bilirubinemia, transaminasi, fosfatasi alcalina) almeno nel primo mese di cura. Alcuni raccomandano di dosare l'isoniazide in circolo, allo scopo di raggiungere e non superare la sua concentrazione efficace, che sta intorno a 1,5 µg/mL 3 h dopo la somministrazione della dose giornaliera. Anche la funzionalità renale va sorvegliata, soprattutto se si somministra etambutolo (che è eliminato per questa via).

4. Le affezioni da *Chlamidia trachomatis* sono da ricercare nei processi polmonari acuti del lattante. Vi è oggi la possibilità di mettere in evidenza il microrganismo con un metodo di immunofluorescenza indiretta. Lo studio della *psittacosi*, polmonite da *Chlamidia psittaci*, richiede l'isolamento dell'agente; la diagnosi si pone con criteri anamnestici (sono di solito malattie professionali, che colpiscono coloro che, per ragioni di lavoro, hanno contatto con gli uccelli) e sierologici (deviazione del complemento).

5. Nei primi periodi della vita, sono pure possibili infezioni da *Virus Respiratorio Sinciziale*. Si tratta di infezioni acute, la cui diagnosi è oggi possibile mediante osservazione diretta del materiale patologico in immunofluorescenza oppure mediante la ricerca dell'antigene con



metodo immunoenzimatico.

6. La ricerca della *Bordetella pertussis*, agente della pertosse, è difficile. Essa richiede terreni di coltura molto arricchiti e tempi di incubazione piuttosto lunghi (3-4 giorni); inoltre, sebbene il germe possa rimanere a lungo ospite dell'organismo (5 settimane o più), la ricerca colturale dà esito negativo dopo pochi cicli di terapia antibiotica. Il prelievo va preferibilmente eseguito mediante l'introduzione nelle cavità nasali di un tampone flessibile, che deve raggiungere il rinofaringe e qui prelevare il campione di muco da seminare subito su terreno di Bordet e Gengou. La ricerca dei germi veicolati da gocce di saliva dopo colpo di tosse su piastra idonea dà molto raramente risultati positivi. Un altro dato utile per la diagnosi è la presenza di una linfocitosi assoluta (più di 20.000 linfociti/mm³).

7. Le infezioni da *Mycoplasma pneumoniae* sono frequenti. Il micoplasma è rappresentato da elementi pleomorfi, sensibili alle tetracicline e all'eritromicina. Esso è capace di crescere su terreni privi di cellule, dando colonie che hanno uno strano aspetto di "uovo sul piatto"; il *Mycoplasma* può dar luogo a piccole epidemie, soprattutto fra scolari (che introducono la malattia in famiglia). L'infezione colpisce le vie respiratorie, ma non sempre dà luogo a una polmonite. La "polmonite atipica primaria" da *Mycoplasma* (caratterizzata dal contrasto tra benignità dei sintomi ed entità delle manifestazioni radiologiche) si presenta come un'affezione influenzale a incubazione un po' più lunga (10-30 giorni) con tosse ribelle. La diagnosi è facilitata dalla ricerca degli anticorpi antimicoplasma su sangue prelevato all'inizio della malattia e tre settimane dopo: la loro concentrazione sale di almeno quattro volte, in presenza di un'infezione da micoplasma. In passato è stata molto usata, per la diagnosi delle infezioni da *Mycoplasma*, la ricerca delle agglutinine fredde nel siero, che spesso dà esito positivo. La specificità di questa ricerca è però modesta, essendo essa positiva anche in altre malattie virali, in alcune emopatie e nella sarcoidosi. La presenza di agglutinine fredde nel siero può essere spiegata dall'esistenza di un'antigenicità crociata fra membrana eritrocitaria e membrana del micoplasma (quest'ultima contiene un antigene di struttura simile a quello dell'antigene I della membrana eritrocitaria). Il siero di questi pazienti può dunque acquistare la capacità di agglutinare gli eritrociti umani di gruppo O alla temperatura di 4-10°C, a titolo elevato. Il primo sintomo che mette in guardia il patologo clinico è il reperto di una concentrazione ematica di eritrociti sorprendentemente bassa: per esempio, 500.000/mm³. Ciò è dovuto a un'agglutinazione in provetta degli eritrociti, tanto è vero che, ripetendo il conteggio con un campione di sangue mantenuto a 37°C, i valori ritornano vicini a quelli abitualmente riscontrati nel soggetto sano. Il test di Coombs diretto è positivo nell'83% dei casi.

8. La *Legionella pneumophila* è la specie più diffusa delle Legionelle, delle quali si conoscono sei sierotipi antigenici. Essa è responsabile di affezioni polmonari caratterizzate dall'acuzie (tosse, dolore toracico, dispnea) e da una prognosi preoccupante se non opportunamente trattata. La malattia è nota come malattia dei legionari, perché si è fatta conoscere per aver provocato una piccola epidemia fra i membri di un'associazione paramilitare riuniti a congresso a Filadelfia. In Italia, piccoli focolai epidemici sono stati segnalati sulle riviere Adriatica e Ligure. La malattia colpisce spesso individui operanti in ambienti ad aria artificialmente umidificata. La diagnosi di laboratorio preferibile è quella sierologica.



ESAME FECI COMPLETO

Campione: feci

Tempo di refertazione: 4 gg

Note:

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE, MODALITÀ DI PRELIEVO E INOLTRO AL LABORATORIO

A. Esame fisico-chimico e microscopico. È opportuno che il paziente osservi, nei giorni che precedono il prelievo, una dieta equilibrata nel contenuto di carboidrati, grassi e proteine. Il materiale viene prelevato, a seguito di emissione spontanea, in assenza di urine, mediante il cucchiaino inserito nel tappo del contenitore sterile, a bocca larga, destinato ad accoglierlo.

B. Esame chimico. Quando ha per scopo l'evidenziazione di sangue è consigliato seguire, nei 3 giorni precedenti il prelievo, una dieta adeguata priva di alimenti quali carne, pesce, verdure crude, banane, che possono elevare la normale attività perossidasi delle feci. I metodi attualmente disponibili, peraltro poco specifici, sono, infatti, basati sul dosaggio dell'attività perossidasi associata alla presenza dell'emoglobina e dei suoi derivati. È altresì indicato che il paziente sospenda eventuali terapie con farmaci a base di metalli, non provochi gemizio di sangue dalle mucose orali, non ricorra a lassativi. Il campione viene raccolto come per l'esame chimico-fisico e microscopico.

C. Esame batteriologico. Al paziente non deve essere stato somministrato bario o oli minerali, né deve essere sotto trattamento chemioantibiotico da almeno una settimana. Dal vaso, evitando qualsiasi commistione con urine, o dal pannolino, nel caso dei lattanti, il materiale, circa 10 g, viene trasferito in un recipiente sterile a bocca larga mediante un cucchiaino inserito nel tappo del contenitore stesso. Ciò evita contaminazioni del campione, di chi effettua il prelievo e di colui che lo riceverà e lo maneggerà in laboratorio. Qualora fosse assolutamente impossibile una raccolta come descritto si può ricorrere ad un prelievo mediante tampone rettale. In tal caso il tampone di cotone, inumidito in acqua peptonata o brodo, viene introdotto attraverso l'orificio anale e fatto scorrere, per poi essere riposto nella sua custodia. Altra modalità di raccolta è quella che fa ricorso alla rettoscopia. Il trasporto al laboratorio va effettuato nel più breve tempo possibile. E' consigliabile, specialmente nel caso di prelievi eseguiti mediante tampone, l'immersione del campione in adatte soluzioni conservanti. E' buona norma far ripetere più volte la coprocultura in modo da coprire un periodo di tempo abbastanza esteso, di circa 1 settimana.

D. Esame micologico. Il paziente deve sospendere, per almeno 1 settimana, eventuali trattamenti con antifungini eliminati per via intestinale. Le modalità di prelievo sono sovrapponibili a quelle descritte per l'esame batteriologico.

E. Esame virologico. Per le modalità di prelievo si faccia riferimento a quanto descritto per l'esame batteriologico.

F. Esame parassitologico. È necessario aver sospeso, da almeno 1 settimana, la somministrazione di farmaci antiprotozoari, antielmintici e chemioantibiotici, di medicinali o mezzi di contrasto, quali oli minerali, carbone, bismuto, bario, ecc., e di qualsiasi altra sostanza che dopo l'ingestione possa liberare particelle in grado di disturbare la ricerca



microscopica. La raccolta del campione viene effettuata con le modalità già esposte per l'esame batteriologico. La somministrazione di un purgante salino non è consigliata in quanto gli eventuali protozoi presenti vengono espulsi come trofozoiti, la morfologia dei quali è meno caratteristica delle cisti. Il ricorso al purgante va riservato ai casi con stitichezza ostinata o in corrispondenza dell'ultima raccolta del periodo di osservazione. In tal caso è consigliabile prelevare il materiale delle scariche successive alla prima. Qualora il sospetto diagnostico sia orientato verso gli elminti, sarà opportuno procedere ad un'ispezione delle feci appena emesse per evidenziare nematodi adulti e proglottidi di cestodi. Questi potranno essere recuperati mediante disgregamento e dilavamento della massa fecale. Il campione va tenuto al fresco, a temperatura di ghiacciaia, e trasferito in laboratorio nel più breve tempo possibile. L'esame può essere procrastinato, quando si ricercano i soli elminti, mescolando il materiale fecale in parti uguali con una soluzione al 10% di formalina.

ACCERTAMENTO DIAGNOSTICO

A. Batteri

L'accertamento si basa essenzialmente sull'esame colturale e si svolgerà secondo modalità diverse in dipendenza:

- del quadro clinico presentato dal paziente,
- dell'indirizzo derivante dall'anamnesi,
- delle notizie epidemiologiche.

Si è generalmente dell'avviso di ricercare, comunque, *Salmonelle*, *Shigellae* e *Campylobacter*. Le feci vengono seminate, come tali o stemperate in soluzione fisiologica, sia su terreni di coltura solidi, differenziali e moderatamente selettivi, sia in terreni liquidi di arricchimento.

1. Con i terreni differenziali si mira ad individuare presuntivamente (possono essere sufficienti 24 h di incubazione a 37°) le colonie di *Salmonella* e *Shigella*, sfruttando alcune loro caratteristiche metaboliche quali, per esempio, l'incapacità di fermentare il lattosio. Infatti nei terreni a base di lattosio le colonie di *Salmonella* e *Shigella* appariranno, sulla superficie dell'agar, incolori, differenziandosi abbastanza nettamente da quelle di altri batteri enterici, lattosio fermentanti, che a causa della acidificazione del substrato inducono il viraggio dell'indicatore e, quindi, appaiono colorate. Alcune sostanze addizionate al terreno (essenzialmente sali biliari) impediscono, inoltre, o meglio tendono a rallentare, la moltiplicazione degli altri batteri normalmente presenti nell'intestino (selettività del terreno). Contemporaneamente alla semina diretta sui terreni solidi, semine vengono anche effettuate in terreni liquidi di arricchimento. Ciò allo scopo di favorire al massimo la moltiplicazione dei microrganismi patogeni che fossero eventualmente presenti in bassa carica batterica e, quindi, al di sotto della soglia di sensibilità della determinazione su terreno agarizzato. Anche ai terreni liquidi vengono addizionate alcune sostanze (selenite F, tetratationato) al fine di rallentare la crescita dei batteri enterici non patogeni. Dai terreni liquidi si procede, poi, alla esecuzione di sottocolture su terreni solidi differenziali.

2. Più complesse le procedure da seguire qualora si sospetti un'infezione da *Campylobacter jejuni*. Occorre infatti disporre di un terreno di coltura al tempo stesso ricco, per le esigenze di questo patogeno, e selettivo, per consentire la eliminazione dei microrganismi non patogeni presenti nelle feci. Si fa ricorso ad un terreno al sangue addizionato di antibiotici ai quali C.



jejuni si è sempre dimostrato resistente. I terreni, una volta seminati, vanno incubati in condizioni di microaerofilia stretta, poiché concentrazioni di O₂ pari a quella atmosferica sono tossiche per il microrganismo. È utile, infine, incubare i terreni di coltura a 42°C, anziché a 37° C, perché questa temperatura costituisce un ulteriore fattore di selezione.

3. Se l'accertamento colturale prende in considerazione *Yersinia enterocolitica* è necessario procedere all'allestimento di una doppia serie di terreni (in pratica del tipo di quelli già menzionati) da incubare, oltre che a 37°C, a 25°C in quanto questa temperatura ne favorisce la moltiplicazione. Sfruttando la capacità di *Y. enterocolitica* di sopravvivere a 4°C può rivelarsi utile, inoltre, un arricchimento a freddo, che si ottiene lasciando la sospensione di feci in soluzione fisiologica tamponata a 4°C per 3 settimane e procedendo a sottocolture a distanza di 7, 14, 21 giorni. Sono disponibili ed efficaci anche terreni resi selettivi con opportune addizioni di antibiotici cui *Y. enterocolitica* è resistente.

4. L'accertamento diviene ancora più complesso quando si sospetti la presenza nelle feci di batteri produttori di tossine o piuttosto della sola tossina. In questo caso l'esame deve mirare, infatti, in linea di principio, alla messa in evidenza della molecola che costituisce il vero fattore etiologico della sindrome.

5. L'unica eccezione a questa regola è rappresentata da *Vibrio cholerae*, del quale è sufficiente dimostrare la presenza nelle feci, non essendo un normale costituente della popolazione intestinale. Si impiegano, a tale scopo, un terreno di arricchimento liquido che sfrutta la capacità di *V. cholerae* di moltiplicarsi in ambiente alcalino e terreni solidi selettivi sui quali esso forma colonie di aspetto caratteristico.

6. Procedure analoghe possono essere seguite per l'isolamento di *V. parahaemolyticus* nelle zone dove questo microrganismo circola.

7. Per i ceppi di *E. coli* ETEC la diagnosi etiologica può essere effettuata solo con sofisticate indagini di enterotossinogenicità, mediante l'utilizzazione di colture cellulari in vitro. Indagini per le quali è necessario ricorrere a laboratori di riferimento. Anche per i ceppi EIEC e LPEC sono necessarie prove piuttosto complesse poiché non ci sono differenze morfologiche e biochimiche tra i ceppi di *E. coli* normalmente presenti nelle feci e quelli che causano diarrea.

8. In caso di intossicazione alimentare possono essere implicati stipiti tossinogenici di *S. aureus* e *C. perfringens*. Anche in questi casi occorre dimostrare la presenza della tossina nelle feci per giungere alla diagnosi. Un elemento indicativo può essere considerato la contemporanea presenza del microrganismo nell'alimento incriminato e nelle feci del paziente sintomatico.

9. Un'ultima evenienza nella quale si ricorre alla coprocoltura è la colite pseudomembranosa associata a trattamento antibiotico. L'isolamento dei clostridi, agenti causali della sindrome, può essere ottenuto con l'impiego di terreni nutritivi addizionati di antibiotici quali ciclo serina e cefoxitina.

B. Virus



I rotavirus e gli agenti di Norwalk non sono coltivabili sui comuni substrati impiegati in virologia. La nuova diagnostica più impiegata è una metodica ELISA, che utilizza lo stesso tipo di approccio comunemente impiegato in diagnostica sierologica. La sua sensibilità è confrontabile con quella dei metodi radioimmunologici (RIA) che utilizzano anticorpi anti-rotavirus marcati, successivamente individuati con contatori di particelle radioattive; presenta inoltre il vantaggio di non porre problemi per l'eliminazione dei reagenti impiegati. Altre tecniche prevedono l'impiego del microscopio elettronico, con il quale è possibile evidenziare le caratteristiche delle particelle dei rotavirus in casi di infezione conclamata. Una variante di questa tecnica è l'immunolettromicroscopia, basata sul trattamento dell'estratto fecale con siero antirotavirus allo scopo di provocare l'aggregazione delle particelle virali, eventualmente presenti, e di facilitare quindi l'esame morfologico. Per quanto riguarda l'agente di Norwalk e gli altri virus implicati nelle sindromi diarroiche dell'uomo, le metodiche diagnostiche sono, in pratica, ancora limitate alla microscopia elettronica e alla immunolettromicroscopia.

C. Miceti

I miceti possono essere coltivati utilizzando un terreno solido opportunamente addizionato di glucosio e di cloramfenicolo, che svolge il ruolo di agente inibitore della flora batterica concomitante. Assume estrema importanza l'apprezzamento critico della carica micotica, poiché *Candida albicans* è di norma presente nell'intestino. In pazienti immunodepressi, o sottoposti a prolungate terapie antibiotiche, tuttavia, la moltiplicazione incontrollata di questo lievito nel lume intestinale può portare ad una successiva invasione del sistema vascolare e ad una micosi sistemica. Le colonie sviluppatesi sul terreno solido vengono identificate come lieviti, mediante esame microscopico, previa colorazione di Gram. La successiva identificazione dei lieviti come *C. albicans* può essere ottenuta con la prova della filamentazione in siero: una sospensione del lievito in 0,5 ml di siero bovino, dopo incubazione per 2-3 ore a 35°C, permette di evidenziare, all'esame microscopico a fresco, la presenza di piccole ife germinanti dal corpo della cellula del lievito. La presenza di questi abbozzi iniziali di vera ifa patognomica per *C. albicans*. In alternativa può essere eseguito il trapianto delle colonie di lievito su terreno solido (alla patata-carota-bile) sul quale in 24-48 h *C. albicans* forma delle particolari strutture, le damidospore, evidenziabili all'esame microscopico. Occorre notare, tuttavia, che il riscontrare in cariche elevate specie diverse da *C. albicans* può assumere significato clinico in pazienti immunodepressi o politrattati.

D. Parassiti

La diagnosi di laboratorio delle malattie parassitarie basata soprattutto sull'esame morfologico diretto delle feci con il quale si possono ricercare le cisti protozoarie, particolari forme di resistenza del patogeno, oppure le uova di elminti o, in alcuni casi, anche le forme vegetative (trofozoiti) di alcuni protozoi. E' necessario sottoporre all'attenzione del patologo un consistente numero di campioni di feci, poiché la probabilità di reperire l'agente etiologico aumenta con il numero dei prelievi esaminati. I campioni di feci raccolti in contenitori sterili contenenti soluzione di formalina al 10%, prima di essere sottoposti ad esame microscopico, vanno arricchiti mediante filtrazione, ripetuti lavaggi con soluzione fisiologica e formalina, ripetute centrifugazioni con risospensione del sedimento ed estrazione finale con etere etilico. Con quest'ultimo passaggio si ottiene la solubilizzazione dei grassi in etere e si rende molto più agevole e chiaro il successivo esame microscopico del sedimento, ove si sono concentrate le strutture biologiche ricercate. L'esame microscopico si esegue a 100-400 ingrandimenti,



ponendo sul vetrino portaoggetti un po' di materiale stemperato in soluzione fisiologica, eventualmente accentuando i contrasti con una goccia di liquido di Lugol.

1. Tra i protozoi i reperti possibili sono costituiti dalle cisti di *Entamoeba histolytica*, tetranucleate, che vanno distinte da quelle a 8 nuclei quando mature, di *Entamoeba coli*, specie apatogena presente nelle feci di una cospicua quota della popolazione adulta sana. *Balantidium coli* viene ritrovato nelle feci come trofozoita ed è facilmente distinguibile per le grosse dimensioni (50-60 x 40-60 μ). Le cisti di *Giardia lamblia* sono di frequente osservazione, devono essere ricercate con particolare attenzione per le loro piccole dimensioni. Le oocisti di *Cryptosporidium* nelle feci possono essere ricercate con numerose tecniche di colorazione utilizzando, ad esempio, soluzione di Giemsa al 10% o Blu di metilene all'1%. Una metodica molto semplice e di rapida esecuzione consiste nel mescolare una goccia di sospensione di materiale fecale con una goccia di carbolfucsina allo 0,5% su un vetrino portaoggetti. Può essere utile fare precedere la colorazione da un arricchimento mediante flottazione o mediante concentrazione in etereformalina. Il preparato deve essere osservato al microscopio al più presto, non appena si sarà asciugato. La diagnosi di infezione da *Isospora belli* si basa sulla ricerca microscopica delle oocisti.

2. Per la diagnosi d'infestazione da nematelminti la morfologia delle uova di *Ascaris lumbricoides* consente di distinguerle agevolmente da quelle di *Ancylostoma duodenalis* e *Necator americanus*: di queste ultime due specie è praticamente impossibile differenziare le uova. E' difficile reperire uova di *Strongyloides stercoraiis*; la diagnosi viene effettuata di solito in base al ritrovamento della larva nelle feci.

3. Tra i plateminti è agevole la distinzione tra i generi *Taenia*, *Hymenolepis*, *Dyphillobotrium* per la morfologia caratteristica delle uova. La diagnosi differenziale tra *T. solium* e *T. saginata* può essere ottenuta attraverso l'esame macroscopico delle proglottidi, emesse all'esterno, dopo la chiarificazione con acido acetico per poter apprezzare la morfologia delle ramificazioni uterine.

4. L'esame colturale viene riservato ai protozoi, ma ha scarsa rilevanza ai fini diagnostici. I terreni di coltura sono simili a quelli utilizzati in batteriologia; su di essi viene fatta sviluppare una coltura batterica, per esempio *E. Coli* che viene successivamente bloccata per l'aggiunta di antibiotici e che costituirà un buon pabulum per il protozoo. Si procede, poi, all'inoculo del materiale fecale e alla incubazione a 37° C per più giorni, previa ulteriore addizione di antibiotici per inibire la crescita di batteri concomitanti.

Esame delle Feci: caratteristiche normali

Esame Fisico:	Consistenza	solida; poltacea
	Colore	tonalità brunastra; (dieta latte: giallo chiaro)
Esame microscopico:	Fibre vegetali	da rare a numerose
	Fibre muscolari	da rare a numerose, completamente digerite
	Residui amilacei	assenti



Grassi neutri assenti

ESAME DELLE URINE

Campione: urine del mattino**Tempo di refertazione:** 2 gg

Note:

L'analisi delle urine può consentire di rilevare malattie che non possono essere notate fino a quando esse non producono sintomi evidenti. Alcuni esempi sono il diabete mellito, varie forme di glomerulonefrite e infezioni croniche delle vie urinarie. Il sistema più usato con un buon rapporto costo/beneficio è un dipstick su carta o plastica. Questo sistema di microchimica è disponibile da molti anni e consente analisi qualitative e semiquantitative in 1 minuto con una semplice ma attenta osservazione. Per ottenere i risultati le variazioni di colore che si hanno in ognuno dei segmenti della striscia sono comparate ai colori di riferimento. L'analisi del sedimento urinario richiede solo un semplice microscopio ottico.

ANALISI MACROSCOPICA

La prima parte dell'esame delle urine è rappresentata dalla osservazione diretta. Le urine fresche normali sono da giallo chiaro a giallo scuro o ambra e sono trasparenti. Il volume normale delle urine va da 750 a 2.000 ml/24 h.

La torbidità può essere causata da un'eccessiva quantità di materiale cellulare o di proteine nelle urine o può svilupparsi per cristallizzazione o precipitazione dei sali quando le urine rimangono a temperatura ambiente o vengono messe in frigo. La chiarificazione del campione dopo aggiunta di piccole quantità di acido indica che la precipitazione dei sali è la probabile causa della torbidità. Un colore rosso o rosso-bruno (anormale) può essere dovuto ai coloranti alimentari, dall'aver mangiato barbabietole fresche, o può essere dovuta alla presenza di emoglobina o mioglobina. Se il campione contiene globuli rossi, si può presentare da torbido a rosso.

ANALISI CHIMICA DELLE URINE

pH

Il filtrato glomerulare del plasma sanguigno è generalmente acidificato dai tubuli renali e dai dotti collettori dal pH 7.4 a circa 6 nelle urine finali. Tuttavia, in dipendenza dello stato dell'equilibrio acido-base, il pH urinario può andare da meno di 4.5 a più di 8.0.

Peso specifico

Il Peso Specifico (che è direttamente proporzionale all'osmolarità urinaria che misura la concentrazione dei soluti) misura la densità urinaria o la capacità del rene a concentrare e diluire le urine. Alcuni dipstick misurano anche il Peso Specifico anche se con una certa approssimazione. Molti Laboratori misurano il p.s. con un riflettometro. Un p.s. fra 1.002 e 1.035 su un campione random di urine dovrebbe essere considerato normale se la funzionalità renale è normale. Poiché il peso specifico del filtrato glomerulare nello Spazio di Bowman va da 1.007 a 1.010, ogni misurazione sotto questo range indica idratazione e ogni misura sopra questo range indica una relativa disidratazione. Se il p.s. non è > 1.022 dopo 12 ore senza mangiare o bere, la capacità di concentrazione renale è diminuita ed il paziente può avere una diminuita funzionalità renale o un diabete insipido nefrogenico. Nella fase avanzata della



malattia renale, il p.s. tende ad essere tra 1.007 e 1.010. Un'urina che ha un p.s. oltre 1.035 può essere sia contaminato, sia contenere un elevato livello di glucosio, o il paziente può avere recentemente ricevuto un colorante radiopaco I. V. per studi radiografici o soluzioni di destrano a basso peso molecolare. Bisogna sottrarre 0.004 per ogni 1% di glucosio per determinare la concentrazione dei soluti che non sono glucosio.

Proteine

Il test di screening mediante dipstick viene eseguito sulle urine intere, ma un test semiquantitativo per le proteine urinarie dovrebbe essere eseguito sul sovratanante delle urine centrifugate dato che le cellule in sospensione nelle urine normali possono portare a sovrastima delle proteine. Normalmente solo una piccola parte delle proteine plasmatiche viene filtrata dai glomeruli e viene riassorbita dai tubuli renali. Tuttavia, una piccola quota di proteine plasmatiche filtrate e di proteine secrete dai tubuli (proteine di Tamm-Horsfall) possono essere ritrovate nelle urine normali. Normalmente l'escrezione delle proteine totali non deve eccedere i 150 mg/24 h o i 10 mg/100 mL in ogni singolo campione.

Un'escrezione > 150 mg/die viene definita proteinuria.

Una proteinuria > 3.5 gr/24 h viene definita severa ed è conosciuta come Sindrome Nefrosica.

Il dipstick rivela le proteine mediante produzione di colore con un indicatore colorato, il bromofenolo blu, che è molto sensibile all'albumina ma quasi per niente alle globuline e alla Proteina di B-J. La precipitazione al calore è il miglior metodo semiquantitativo, ma non è un metodo molto sensibile. Il test all'acido solfosalicilico è il test di precipitazione più sensibile. Esso può consentire di rilevare l'albumina, le globuline e la proteina di B-J a basse concentrazioni. In termini abbastanza grossolani, il risultato espresso come:

- tracce corrisponde a circa 10 mg/100 mL o a 150 mg/24 h (il limite superiore di normalità)
- 1+ corrisponde a circa 200-500 mg/24 h
- 2+ a 0.5-1.5 gr/24 h
- 3+ a 2.5 gr/24 h
- 4+ a 7 mg/24 h o più elevate

Glucosio

Meno dell'1 % del glucosio normalmente filtrato dai glomeruli compare nelle urine (< 130 mg/24 h). La glicosuria (eccesso di zucchero nelle urine) dipende generalmente dal diabete mellito. I dipstick che impiegano la reazione della glucosio-ossidasi per lo screening sono specifici per il glucosio ma possono non rilevare altri zuccheri riducenti come il galattosio ed il fruttosio. Per questo motivo, molte urine di neonati ed infanti sono routinariamente screenate per gli zuccheri riducenti con metodi diversi dalla glucosio ossidasi.

Chetoni

I chetoni (acetone, acido acetacetico, acido beta-idrossibutirmco), che derivano sia dalla chetosi diabetica che da deprivazione calorica, sono facilmente rilevati usando sia i dipstick che tavolette contenenti sodio nitroprussiato.

Nitriti



Un test positivo per i nitriti indica che batteri possono essere presenti in numero significativo nelle urine. Cocchi gram-negativi come l'*E. coli* danno più facilmente un test positivo.

Esterasi leucocitaria

Una positività del test per la esterasi leucocitaria può essere dovuta alla presenza di globuli bianchi sia cellule intere che lisate. La piuria può essere rilevata anche se il campione di urine contiene globuli bianchi danneggiati o lisati. Un test per la esterasi leucocitaria negativa fa pensare che un'infezione è improbabile e che, senza altre evidenze di infezione delle vie urinarie, esame microscopico e urinocultura non sono necessari.

ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO

Metodologia

Un campione di urine ben miscelato (generalmente 10-15 ml) è centrifugato a bassa velocità (circa 2-3.000 rpm) per 5-10 minuti fino a quando non si produrrà un bottone di sedimentazione sul fondo della provetta. Il sovrantante viene decantato e viene lasciato nel tubo un volume di 0.2-0,5 mL. Il sedimento viene quindi risospeso nel rimanente sovrantante mediante agitazione della provetta. Una parte del sedimento viene posto su un vetrino portaoggetti e coperto con un vetrino coprioggetto.

Esame

Il sedimento è primariamente esaminato a piccolo ingrandimento per identificare molti cristalli, cilindri, cellule squamose e altri oggetti di grosse dimensioni. Il numero di cilindri viene generalmente riportato come numero di ognuno dei tipi rilevati per campo a piccolo ingrandimento (LPF). Ad esempio: 5-10 cilindri ialini/numero di cilindri/LPF. Dato che il numero degli elementi trovati in ogni campo può variare considerevolmente da un campo all'altro, devono essere esaminati diversi campi. Quindi, l'esame deve essere eseguito ad ingrandimento maggiore per identificare i cristalli, le cellule ed i batteri. I vari tipi di cellule sono generalmente descritti come numero di ogni tipo rilevato in media per campo ad ingrandimento maggiore (HPF). Ad esempio 1-5 WBC/HPF.

Globuli Rossi

Ematuria è la presenza di un numero anormale di Globuli Rossi nelle urine dovuto a:

- danno glomerulare
- tumori che erodono le vie urinarie
- traumi renali
- calcoli delle vie urinarie
- infarto renale
- necrosi tubulare acuta
- infezione delle alte e basse vie urinarie
- nefrotossine
- stress fisico

Globuli rossi possono anche contaminare le urine dalla vagina in donne mestruali o per trauma prodotto dalla cateterizzazione vescicale. Teoricamente, non dovrebbe essere ritrovato alcun globulo rosso, ma alcuni sono ritrovati nelle urine anche in molti soggetti sani. Tuttavia, se vengono rinvenuti uno o più globuli rossi in ognuno dei campi esaminati a maggiore ingrandimento e se può essere esclusa la contaminazione, il campione è probabilmente anormale. I globuli rossi possono presentarsi di forma normale, rigonfi nelle urine diluite



(tanto che si possono rinvenire solo cellule fantasma ed emoglobina libera) o crenati nelle urine concentrate. Sia i globuli rossi rigonfi, parzialmente emolizzati, che quelli crenati possono essere distinti con difficoltà dai WBC delle urine. Inoltre, i globuli rossi fantasma possono essere simili ai lieviti.

Globuli Bianchi

Per piuria si intende un numero anormale di leucociti che può rilevarsi nelle infezioni sia delle alte che delle basse vie urinarie o nelle glomerulonefriti acute. Generalmente, i WBC sono rappresentati dai granulociti. Globuli rossi provenienti dalla vagina, specialmente in presenza di infezioni vaginali o cervicali o del meato esterno sia nei maschi che nelle femmine possono contaminare le urine. Se in più campi ad ingrandimento maggiore compaiono 2 o più leucociti in urine non contaminate, il campione è probabilmente anormale. I leucociti hanno nuclei lobati e citoplasma granulato.

Cellule Epiteliali

Cellule tubulari epiteliali renali, generalmente più grandi dei leucociti, contenenti un nucleo rotondo o ovale, desquamano nelle urine in piccolo numero. Tuttavia, nelle sindromi nefrosiche e in condizioni che portano a degenerazione tubulare, il numero che desquama è maggiore. Quando si ha lipiduria, queste cellule contengono grassi. Quando queste cellule sono ripiene di numerose gocce di grasso sono chiamate corpi ovali grassosi. Le cellule epiteliali transizionali dalla pelvi renale, dall'uretere o dalla vescica hanno margini cellulari più regolari, nuclei più grandi e minor grandezza complessiva rispetto alle cellule epiteliali squamose. Le cellule epiteliali tubulari renali sono più piccole e più rotonde delle cellule dell'epitelio transizionale ed il loro nucleo occupa la maggior parte del volume totale della cellula.

Cilindri

I Cilindri urinari sono formati solo nel tubulo convoluto distale o nei dotti collettori (nefrone distale). I tubuli convoluti prossimali e l'ansa di Henle non sono luogo di formazione dei cilindri. I cilindri ialini sono composti primariamente da una mucoproteina (proteina di Tamm-Horsfall) secreta dalle cellule tubulari. Anche quando c'è un danno glomerulare che causa un'aumentata permeabilità alle plasma proteine con risultante proteinuria, la maggior parte della matrice che cementa i cilindri urinari è rappresentata dalla mucoproteina di Tamm-Horsfall, benché siano anche incorporate l'albumina ed alcune globuline. I Fattori che favoriscono la formazione dei cilindri proteici sono una riduzione del flusso, una concentrazione salina elevata ed un pH basso, cioè quelle condizioni che favoriscono la denaturazione e precipitazione delle proteine, particolarmente della proteina di Tamm-Horsfall. I cilindri proteici con code lunghe e sottili formati alla giunzione fra ansa di Henle e tubulo convoluto distale sono chiamati Cilindroidi. I cilindri ialini possono essere osservati anche in soggetti sani. I globuli rossi possono attaccarsi tra loro e formare i cilindri di globuli rossi. Questi cilindri sono indicativi di glomerulonefrite, con filtrazione dei globuli rossi dai glomeruli, o di severo danno tubulare. I cilindri di globuli bianchi sono tipici di pielonefrite acuta, ma possono anche essere presenti nelle glomerulonefriti. La loro presenza indica infiammazione del rene, dato che questi cilindri non possono essere formati fuori dal rene. Quando questi cilindri cellulari rimangono nel nefrone per qualche tempo prima di fluire nelle urine vescicali, possono degenerare e diventare dei cilindri grossolanamente granulari, in seguito cilindri finemente granulari e, infine, cilindri cerei. I cilindri granulari e cerei si pensa che possano derivare dai cilindri delle cellule tubulari renali. I cilindri chiari si pensa che possano derivare dai tubuli danneggiati e dilatati e pertanto sono visti nella fase finale



dell'insufficienza renale cronica. Il cosiddetto "telescoped" sedimento urinario è quello in cui i globuli rossi, i globuli bianchi, i corpi grassi ovali e tutti i tipi di cilindri sono rinvenuti in più o meno eguale profusione. Le condizioni che possono portare ad un sedimento "telescoped" sono: 1) la nefrite lupica ; 2) l'ipertensione maligna; 3) la glomerulosclerosi diabetica e 4) una glomerulonefrite rapidamente progressiva. Nello stadio finale delle malattie renali di ogni causa, il sedimento urinario spesso diventa molto scarso poiché i pochi nefroni che rimangono producono urine molto diluite.

Batteri

Il rinvenimento di Batteri nei campioni di urine è comune a causa dell'abbondante flora microbica normale della vagina e del meato uretrale e a causa della loro abilità di moltiplicarsi rapidamente nelle urine a temperatura ambiente. Pertanto, i microrganismi ritrovati anche nelle urine raccolte nella maniera più scrupolosa dovrebbero essere interpretati in rapporto ai sintomi clinici. La diagnosi di Batteriuria in un caso di sospetta infezione delle vie urinarie richiede un'urinocultura. Generalmente, la presenza di un microrganismo nella misura di 100000/mL riflette una batteriuria significativa.

Microrganismi multipli riflettono una contaminazione del campione

Tuttavia, la presenza di ogni microrganismo presenta in un campione prelevato per cateterismo o puntura sovrapubica dovrebbe essere considerata significativa.

Funghi

Cellule fungine possono contaminare il campione o rappresentare una vera infezione urinaria. Sono molto spesso difficili da distinguere dai globuli rossi e da cristalli amorfi ma possono essere distinti per la loro tendenza a gemmare. Molto spesso essi sono rappresentati dalla Candida, che può colonizzare la vescica, l'uretra o la vagina.

Cristalli

I cristalli possono essere visti comunemente anche nei soggetti sani e sono rappresentati da cristalli di ossalato di Calcio, cristalli triplofosfato e fosfato amorfo. Cristalli meno comuni comprendono: cristalli di cistina nelle urine di neonati con cistinuria congenita o in epatopatie severe, cristalli di tirosina nella tirosinasi congenita o nell'insufficienza epatica severa ed i cristalli di leucina in pazienti con epatopatie severe o nella malattia con urine a sciroppo d'acero.

Miscellanea

Oggetti non identificabili possono essere rinvenuti in alcuni campioni, specie quelli di pazienti che portano il campione da casa. Qualche volta possono essere visti degli spermatozoi. In Egitto, possono essere viste uova da infestazione della vescica da schistosomiasi.

METODI PER LA RACCOLTA DELLE URINE

1) Una raccolta random può essere fatta in qualunque periodo della giornata senza alcuna precauzione per le contaminazioni. Il campione può essere diluito, isotonic o ipertonico e può contenere globuli bianchi, batteri ed epitelio squamoso. Nelle donne, il campione può contenere contaminanti vaginali come trichomonas, funghi e, durante le mestruazioni, globuli rossi.



2) Raccolta di urine di prima mattina prima dell'ingestione di ogni liquidi.

Questo campione è generalmente ipertonico e riflette la capacità del rene di concentrare le urine durante la disidratazione che si ha durante la notte. Se tutti i liquidi sono stati sospesi prima delle 18 del giorno prima della raccolta, il p.s. generalmente eccede i 1.022 nei soggetti sani.

3) Raccolta del fiotto centrale delle urine dopo pulizia del meato esterno uretrale.

E' utile a tale scopo un tampone imbevuto con benzalconio idrocloridico che non provoca irritazione. Il fiotto urinario centrale è quello in cui è scaricata la prima metà delle urine vescicali. La prima parte del fiotto urinario serve per portar via le cellule contaminanti ed i microbi dall'uretra prima della raccolta.

4) Il cateterismo vescicale attraverso l'uretra per la raccolta delle urine è eseguita solo in circostanze speciali, ad es. nei pazienti comatosi o conusi. Questa procedura presenta il rischio di portare ad infezioni e traumatismi dell'uretra e della vescica, producendo quindi infezione iatrogena o ematuria.

5) Aspirazione della vescica mediante un ago per puntura sovrapubica. Quando viene eseguita nelle condizioni ideali, questa procedura fornisce un campione puro delle urine vescicali. Può essere un buon metodo per neonati e infanti. Un importante fattore è rappresentato dall'intervallo di tempo trascorso dalla raccolta all'esame nel Laboratorio.

Le variazioni che si hanno in rapporto al tempo trascorso dalla raccolta sono:

- diminuzione della trasparenza in rapporto alla cristallizzazione dei soluti;
- aumento del pH
- perdita dei corpi chetonici
- perdita della bilirubina
- dissoluzione di cellule e cilindri
- aumento della possibilità di contaminazione da parte di microrganismi

Generalmente, un esame delle urine può non essere sovrapponibile a quello delle urine fresche se è più vecchio di 1 ora.

Intervalli di riferimento per l'esame microscopico delle Urine

Costituente	Intervalli di riferimento
Eritrociti	Assenti
Leucociti	Maschi: 0-3/campo; Femmine: 0-5/campo; Bambini 0-3/campo
Cellule Basse vie	Alcune
Cellule Alte vie	Assenti
Cilindri	Assenti o 1/campo (ialini)
Cristalli	Urati; Ossalati; Fosfati

Esami collegati: Creatinina, Azotemia, Clearance della Creatinina, Clearance dei fosfati, Clearance dell'urea, Clearance degli urati, Calcoli Urinari



ESTRIOLO LIBERO O FREE-ESTRIOL ESTRIOLO PLASMATICO

Metodo: EIA	<i>Campione:</i> siero o plasma (è necessario indicare la settimana di gravidanza)
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Rappresenta la quota di estriolo non coniugato circolante nel sangue. I livelli sierici rappresentano un indice della funzionalità fetoplacentare, in quanto viene prodotto dalla placenta.

Trova la sua particolare indicazione, insieme all'AFP ed alla beta-HCG, nell'effettuazione del Tri-test.

ESTRONE

Metodo: EIA	<i>Campione:</i> 2 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

E' uno steroide e metabolicamente è interconvertibile con il 17-beta-estradiolo.

I livelli elevati di estrose sono riscontrabili nel corso di irsutismi periferici, tumori androgeno-secerenti, sindrome dell'ovaio policistico, dove tali livelli elevati portano ad un caratteristico aumento del rapporto E1/E2 che risulta spesso maggiore di 1.

FATTORI DELLA COAGULAZIONE

La determinazione dei singoli fattori della coagulazione viene eseguita utilizzando un reagente contenente tutti i fattori salvo quelli di cui si sospetti la carenza. Il metodo si basa sulla capacità del plasma del paziente di accorciare il tempo di coagulazione di un plasma carente di un singolo fattore. Solitamente si utilizza il PT per i Fattori VII, X, V e II e l'aPTT per i Fattori VIII, IX, XI e XII. Per esempio un sangue carente di Fattore VII darà un PT molto lungo ; se a questo plasma si aggiunge il plasma da esaminare si otterrà un accorciamento del PT se il plasma conterrà almeno il 50% di Fattore VII. Se il plasma in esame non contiene Fattore VII (o lo contiene in concentrazione molto bassa) si avrà un mancato o ridotto accorciamento del PT. Recentemente sono stati messi a punto dei test cromogenici dotati di elevata affidabilità. Significato clinico: Sono stati descritti difetti congeniti per tutti i Fattori della coagulazione.

Campione: plasma (provetta con citrato di sodio).

E' necessaria un'accurata anamnesi prima dell'esecuzione di questi test (indagare per malattie epatiche, ipovitaminosi K, coagulopatie da consumo)

FATTORE XIII

Sia il FXIII piastrinico che quello plasmatici sono convertiti dalla trombina in FXIIIa (forma enzimatica attiva). In presenza di Calcio, il FXIIIa catalizza la formazione di legami peptidici



tra le molecole adiacenti del monomero di fibrina, realizzando così il coagulo di fibrina a cui conferisce stabilità chimica e meccanica.

La stabilizzazione della fibrina è necessaria perché il processo emostatico risulti efficace.

Nei pazienti con carenza congenita di questo Fattore i valori del plasma sono inferiori all'1% del normale. Il disordine è ereditato come carattere autosomico recessivo.

Quasi tutti i pazienti con deficit di Fattore XIII presentano sanguinamento dal cordone ombelicale e per tutta la vita avranno disordini emorragici caratterizzati da ecchimosi, ematomi, e prolungato sanguinamento dopo traumi.

In alcuni casi si ha anche una ritardata guarigione delle ferite.

In alcuni pazienti il sanguinamento è ritardato di 12-36 da trauma (essendo la fase piastrinica e buona parte della fase coagulativa nell'ambito della normalità).

Campioni: Plasma anticoagulato con citrato di sodio (per l'esecuzione del test)
Plasma coagulato con EDTA (usato come controllo)

Il test si basa sul fatto che i coaguli che si formano nel plasma normale sono insolubili in Urea (5M) a causa dell'azione del FXIII.

La scomparsa del coagulo in Urea, ma non in soluzione salina, indica la carenza di FXIII.

Se i coaguli si dissolvono in soluzione salina che in urea si deve sospettare un'eccessiva fibrinolisi. Sono disponibili oggi anche dei test di tipo immunologico.

Esami collegati: Tempo di sanguinamento, PT, aPTT, Fibrinogeno, Fattori della Via Intrinseca, Estrinseca e Comune.

FENOBARBITALE

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il fenobarbitale è un barbiturico a lunga durata d'azione ed è uno dei farmaci più comunemente impiegati nella terapia delle epilessie. Viene principalmente usato nelle convulsioni generalizzate tonico-cloniche e nell'epilessia parziale. Convulsioni parziali complesse ed assenze non rispondono a tale trattamento. Il fenobarbitale ha un'emivita di circa 96 ore nell'adulto e di 67 ore nel bambino. Danni epatici di qualsiasi tipo diminuiscono il metabolismo del fenobarbitale, mentre il danno renale ne diminuisce la clearance.

L'acido valproico aumenta le concentrazioni di fenobarbitale al massimo del 40% (per l'acidificazione delle urine).

Urine alcaline aumentano la velocità di escrezione del farmaco.

Esami collegati: Fenitoina, Acido Valproico, Carbamazepina.

FERRITINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

L'interesse dei clinici per la ferritina nacque dall'inizio degli anni '70, quando si capì che il siero umano contiene piccole quantità di ferritina. La ferritina sierica ha un contenuto di ferro molto basso ed è composta quasi esclusivamente da subunità L e G, quest'ultima essendo pressoché identica alla L, ma glicosilata (p.m. 23.000 daltons). La ferritina sierica glicosilata



(60-80% nei soggetti normali) deriva prevalentemente dalle cellule reticolo-endoteliali, dove la sua sintesi è regolata dal ferro, ed è rimossa dal circolo delle cellule parenchimali epatiche. Il rimanente 20-40% non è glicosilata e rappresenta verosimilmente ferritina tissutale che entra in circolo attraverso lisolisi cellulare o esocitosi. Il siero contiene livelli molto bassi o indosabili di ferritina acida ricca in subunità H, in quanto esistono una o più proteine sieriche che sono in grado di legare tali ferritine e determinare verosimilmente una rapida clearance. Da un punto di vista fisiopatologico esistono due pool di ferritina: quella intracellulare o citoplasmatica (>99% del totale) e quella sierica, pool quantitativamente trascurabile, ma clinicamente importante. La ferritina sierica o plasmatica viene sintetizzata a livello del reticolo endoplasmatico rugoso e glicosilata nell'apparato del Golgi prima di essere escreta. Anche se la sua funzione non è nota c'è una stretta correlazione fra la sintesi di ferritina che deve essere esportata dalla cellula e quella della ferritina a destinazione intracellulare (prodotta in funzione del ferro intracellulare): questo è il supposto biologico per l'impiego della ferritina per la valutazione dei depositi corporei di ferro.

La concentrazione sierica della ferritina, infatti, riflette fedelmente i depositi di ferro dell'organismo e rappresenta il metodo più semplice e meno invasivo per la loro valutazione.

Nei soggetti normali la ferritina sierica è direttamente proporzionale al ferro di deposito che può essere rimosso mediante salassi ripetuti, ed è inoltre proporzionale sia al ferro colorabile del midollo che al ferro epatico. Per quanto la variabilità sia notevole, negli adulti si assume che 1µg/L di ferritina sierica corrisponda a 8-10 mg di ferro di deposito.

Il rapporto tra ferritina sierica e depositi corporei di ferro si conserva anche nel corso di modificazioni patologiche dei depositi stessi ed in particolare negli stadi di carenza e sovraccarico marziale. Nei soggetti normali la concentrazione sierica di ferritina varia da 15 a 300 pg/l e riflette le modificazioni dell'equilibrio del ferro corporeo dovute all'età ed al sesso. Nella normalità, i livelli medi, lievemente più elevati alla nascita, si abbassano durante l'infanzia fino al raggiungimento della pubertà. Nella *carenza di ferro* la ferritinemia si riduce a valori inferiori a 15µg/l, valori che consentono di porre con certezza la diagnosi di sideropenia, essendo questa l'unica situazione nota per essere in grado di ridurre la concentrazione di ferritina nel siero (escludendo rari casi di ipotiroidismo e scorbutto).

Il sovraccarico marziale, come nell'**emocromatosi idiomatica o nelle trasfusioni multiple**, determina un incremento della ferritina sierica ed i valori sono superiori alla soglia di 300 pg/L, raggiungendo nei casi conclamati valori largamente superiori a 1000µg/L.

La ferritina sierica basica può modificarsi anche nel corso di varie condizioni patologiche in cui non è primitivamente coinvolto lo stato del ferro nell'organismo: si tratta dei processi infettivi ed infiammatori, delle epatopatie e delle neoplasie.

L'infezione e l'infiammazione sono caratterizzate da sequestro di ferro da parte del reticolo-endotelio (sideropessi), con iposideremia e valori normali o elevati di ferritina sierica: questo è il quadro tipico della cosiddetta "**anemia da malattia cronica**". L'aumentata sintesi di ferritina nelle condizioni flogistiche è sostanzialmente dovuta all'effetto di alcune citochine infiammatorie, quali IL-1 beta ed IL-6.

Anche nei **pazienti epatopatici** la ferritina è tendenzialmente elevata e non rispecchia fedelmente i depositi marziali. Il fegato è il principale organo di deposito del ferro ed è implicato nel metabolismo della ferritina sierica contribuendo sia alla sua produzione che alla sua clearance. Ogni qualvolta vi è citolisi epatocitaria, si possono trovare livelli particolarmente elevati di ferritina sierica per il passaggio in circolo di ferritina



intracellulare. La compressione della funzionalità epatocitaria comporta inoltre una ridotta clearance della ferritina sierica, contribuendo ad elevare la concentrazione sierica di ferritina. Numerosi studi hanno documentato valori elevati di ferritina sierica in pazienti affetti da **neoplasia** ed alcuni autori hanno proposto l'uso di questo parametro come marker tumorali. E' stato dimostrato che l'iperferritinemia dei pazienti neoplastici riguarda esclusivamente isoferritine basiche composte da subunità L e C, e non è dovuta a presenza del siero di isoferritine acide ricche in subunità H. Le cause degli elevati livelli di ferritina nelle neoplasie sono molteplici:

- (a) le neoplasie, come l'infezione e l'infiammazione, provocano una sideropessi istioide (blocco reticolo endoteliale del ferro) con incremento della sintesi e della secrezione di ferritina da parte del reticoendotelio;
- (b) in alcuni casi le stesse cellule neoplastiche producono ferritina nell'ambito di un aumento generalizzate della sintesi proteica (come ad es. leucemie acute);
- (c) infine i processi citolitici che si associano alle neoplasie, in particolare alla terapia citostatica, comportando il passaggio in circolo di ferritina intracellulare.

Concentrazioni elevate di ferritina si riscontrano anche nei pazienti affetti da **ipertiroidismo** (300-1000 µg/l): si ritiene che questo rientri nel generale processo di aumentata sintesi proteica indotto dall'eccessiva produzione di ormoni tiroidei. Più recentemente sono state descritte famiglie in cui si trasmette come carattere autosomico dominante una combinazione di iperferritinemia (non dovuta a sovraccarico di ferro) e di cataratta congenita. E' stato ormai chiaramente dimostrato che queste famiglie hanno mutazioni puntiformi dell'IRE (Iron Responsive Element) dell'mRNA della subunità L della ferritina, che ne riducono l'affinità per l'IRP (Iron Responsive Protein). Siccome il legame IRE-IRP inibisce la traduzione dell'RNA, una riduzione di affinità di legame comporta maggior sintesi di ferritina ed iperferritinemia.

Questa causa di iperferritinemia va tenuta presente quando non vi siano altre spiegazioni plausibili e nei casi familiari. In particolare, questa condizione non deve essere confusa con l'emocromatosi idopatica.

Campione: Siero o plasma.

Esami collegati: Vitamina B12, Sideremia, Transferrina, Acido Folico, Emocromo, TPA, CEA.

FIBRINOGENO (TEMPO DI TROMBINA)

Metodo: coagulativo

Campione: 2 ml sangue citrato

Tempo di refertazione: 2 gg

Note:

Il Fibrinogeno è un fattore essenziale della coagulazione. Viene sintetizzato dal fegato e dal reticolo endoteliale. Per mezzo della trombina si trasforma in fibrina per un processo di polimerizzazione, intervenendo nella formazione del coagulo. Il fibrinogeno può essere dosato con metodiche diverse basate su differenti principi (metodi immunologici, metodi indiretti in rapporto al PT). Il principio che riguarda il Tempo di Trombina si basa sul fatto che la trombina agisce direttamente sul fibrinogeno trasformandolo in fibrina. Il tempo necessario affinché il plasma coaguli dopo l'aggiunta di trombina in eccesso (affinché il tempo sia solo in funzione della concentrazione di fibrinogeno) è definito appunto Tempo di Trombina.



La rapidità di formazione del coagulo è pertanto funzione della concentrazione del fibrinogeno o della concentrazione di inibitori che impediscono la formazione del legame trombina–fibrinogeno (ad es. FDP).

Campione: plasma anticoagulato con citrato di sodio.

Il risultato del test può essere alterato dall'eccessiva agitazione del campione o da prelievi traumatici. Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici o con presenza di microcoaguli.

Le trasfusioni di sangue, plasma o sue frazioni un mese prima del test possono falsare i risultati. Diggiuno per almeno 8 ore prima del prelievo.

Esami collegati: Antitrombina III, PTT, PT, D-Dimeri.

FOSFATASI ACIDA

Metodo: cinetico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

Le fosfatasi sono enzimi i cui substrati sono molecole che contengono un gruppo fosfato. Esse catalizzano la liberazione del gruppo fosfato dalla molecola. La fosfatasi acida è chiamata così perché ha un'attività ottimale a pH 5. Essa è presente in molti tessuti (globuli rossi, piastrine, fegato, milza, muscoli), ma la prostata è il tessuto dove raggiunge i livelli più elevati. Livelli elevati si trovano anche nel latte umano e nel liquido seminale (tanto che la sua determinazione nelle secrezioni vaginali, che normalmente non ne contengono, viene usata come diagnosi di recente rapporto sessuale nella diagnosi di stupro).

Determinazione

Si basa sull'impiego di un substrato specifico per la fosfatasi acida di origine prostatica che è la timolftaleina. Ciò permette di separare e calcolare l'attività della fosfatasi acida di origine prostatica da quella proveniente da altri tessuti. Oggi si può anche usare un test radioimmunologico (RIA) che sfrutta le proprietà antigeniche dell'enzima.

Applicazioni diagnostiche

Alti livelli di questo enzima sono stati ritrovati nel *carcinoma prostatico invasivo e nelle metastasi dello stesso tumore.*

Livelli lievemente elevati possono essere presenti nell'*ipertrofia prostatica benigna e nel carcinoma della prostata che non abbia invaso la capsula.*

Utile è anche la determinazione di questo enzima per monitorare il paziente cui sia stata asportata la prostata per un Ca, in rapporto alla eventuale recidiva.

Il massaggio prostatico o l'esplorazione rettale possono causare un aumento dei livelli ematici dell'enzima che si protrae per almeno 48 ore.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Il massaggio prostatico o l'esplorazione rettale possono causare un aumento dei livelli ematici dell'enzima che si protrae per almeno 48 ore.

Esami collegati: PSA, PSA libero.

FOSFATASI ALCALINA

Metodo: colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:



La Fosfatasi Alcalina viene prodotta dal duodeno, ossa, fegato, rene, prostata, granulociti, placenta a cui corrispondono diversi isoenzimi. E' aumentata nella cirrosi biliare primitiva, atresia congenita delle vie biliari, colestasi extra epatica, iperparatiroidismo, metastasi ossee, morbo di Cushing, morbo di Paghette, plasmocitoma, ittero ostruttivo incompleto, epatiti, mononucleosi, colangite, fratture ossee.

Numerosi farmaci possono elevarne i valori. Tra questi ricordiamo il metiltestosterone, alfametil-Dopa, metimazolo, eritromicina, sulfamidici. I farmaci che possono falsare i livelli di fosfatasi alcalina debbono essere sospesi 72 ore prima del prelievo.

FOSFATASI ALCALINA (TERMOSTABILE)

La Fosfatasi Alcalina Termostabile da valutare sempre il rapporto alla fosfatasi alcalina totale, è utili in caso di livelli elevati, a discriminare tra origine epatica o renale della iperproduzione. La conservazione del campione di sangue a temperatura ambiente per lungo tempo e l'emolisi possono causare falsi incrementi della fosfatasi alcalina.

E' consigliabile eseguire il prelievo dopo 12 ore di digiuno.

FOSFORO

Metodo: molibdato-UV	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Fosforo è contenuto per l'80 % nel tessuto scheletrico e la restante parte nel tessuto muscolare e nei liquidi organici. Viene assorbito nelle porzioni prossimali dell'intestino, eliminato per via fecale e principalmente per via urinaria. La concentrazione nel sangue è regolata dal paratormone in equilibrio con quella del calcio. E' aumentato nelle seguenti condizioni:

- disidratazione,
- ipoparatiroidismo e pseudoipoparatiroidismo,
- ipervitaminosi D,
- metastasi ossee,
- insufficienza renale cronica,
- acromegalia,
- morbo di Addison,
- ipertiroidismo,
- diabete mellito con chetosi,
- osteolisi,
- sarcoidosi.

E' diminuita nelle seguenti condizioni:

- ipopituitarismo infantile,
- iperinsulinismo,
- iperparatiroidismo primitivo e pseudoiperparatiroidismo,
- ipovitaminosi D,
- rachitismo vitamina D-resistente,
- sepsi,
- emodialisi cronica,



- vomito,
- tubulopatie,
- ipercorticosurrenalismo,
- malassorbimento intestinale.

Il fosforo risultato aumentato nei bambini a causa del rapido accrescimento osseo.

I valori variano con un ritmo circadiano con maggiori concentrazioni durante la notte.

Possono causare iperfosforemia:

- sodio-fosfato,
- eparina,
- difenilidantoina,
- androgeni.

Possono causare ipofosforemia:

- acetazolamide,
- idrossido di alluminio,
- insulina,
- epinefrina,

Campione: può essere usato siero o plasma eparinizzato. Non usare EDTA o Citrato come anticoagulanti.

Il mannitolo può far aumentare i livelli di colesterolo. Evitare l'amolisi del campione di sangue che fanno aumentare i livelli della sostanza.

Esami collegati: Calcio, PTH, Vitamina D, Calcitonina.

FSH

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

L'FSH è una glicoproteina consistente di 2 subunità (alfa e beta). La subunità beta è quella che conferisce la specie-specificità all'ormone. L'FSH induce nei due sessi la maturazione delle cellule germinali senza nessun effetto sulla steroido genesi.

Nel maschio l'aumento è dovuto ad ipogonadismo primitivo:

- con cariotipo normale (da castrazione, postorchitico, da irradiazione, agenesia testicolare, aplasia germinale);
- con cariotipo anormale (sindrome di Klinefelter, sindrome di Turner maschile).

E' diminuito nell'ipogonadismo ipotalamo-ipofisario.

Nella donna è aumentato per:

- insufficienza ovarica primitiva congenita (sindrome di Turner, sindrome di Morris)
- acquisita (cisti, malattia policistica, neoplasia, irradiazione).

E' diminuito:

- nell'insufficienza ovarica secondaria a malattie ipofisarie,
- alterazioni neuroipotalamiche,
- malattie sistemiche.

FT3

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
----------------------------------	--------------------------------



Tempo di refertazione: 3 gg**Note:**

L'FT3 rappresenta solo una piccolissima percentuale del T3 presente in circolo (0,3 %). Infatti sia la T3 che la T4 circolano legate a tre proteine di trasporto, la TBG, la TBPA e l'albumina. In pazienti con livelli alterati di TBG, la valutazione dell'FT3 offre un quadro della funzionalità tiroidea più attendibile della frazione legata. Livelli di FT3 possono essere aumentati in gravidanza, durante terapia estrogeniche, assunzione di eroina o metadone, in corso di patologia tumorale estrogeno-secerne. Una diminuzione dei livelli di FT3 può verificarsi in seguito a terapia con androgeni, glucocorticoidi, eparina, salicilati, anticonvulsivanti, sulfonamidi e farmaci antitiroidei.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

La terapia con ormoni tiroidei deve essere sospesa un mese prima dell'esecuzione del test. Tutti i farmaci che possono interferire con i livelli di FT3 devono essere sospesi 72 ore prima del test.

Esami collegati: Tireoglobulina, Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi antitireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, TSH, FT4.

FT4

Metodo: chemiluminescenza**Campione:** 1 ml di siero

Tempo di refertazione: 3 gg**Note:**

L'FT4 rappresenta solo una piccolissima percentuale della T4 presente in circolo (0.1-0.3%). Infatti sia la T3 che la T4 circolano legate a tre proteine di trasporto, la TBG, la TBPA e l'albumina. La FT4, oltre ad essere responsabile di tutti gli effetti della tiroxina e quindi dello stato metabolico tiroide-dipendente di un individuo, esercita anche con un meccanismo di feedback negativo il controllo della secrezione del TSH.

Pertanto in tutti quei casi in cui si hanno variazioni delle concentrazioni di TBG sia nel senso di un aumento che di una diminuzione varia la quota di T4 totale, ma non quella di FT4 e conseguentemente non varierà lo stato metabolico del soggetto. Ad esempio, in gravidanza col passare dei mesi aumentano i livelli di T4 totale ma non quelli di FT4. Da quanto detto risulta che il miglior test per valutare lo stato metabolico di un individuo è la determinazione dell'FT4.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Tireoglobulina, Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi anti-tireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, TSH, FT3.

HAV (EPATITE VIRALE A)

Metodo: ELFA**Campione:** 1 ml di siero

Tempo di refertazione: 3 gg**Note:**

Il virus dell'Epatite A è uno dei sei virus (A,B,C,D,E,G) in grado di causare un epatite. La trasmissione bevendo acqua o mangiando cibo contaminato con materia fecale contenente il



virus. Molluschi contaminati sono una sorgente frequente di infezione. Altre sorgenti di infezione sono il contatto diretto con una persona infettata e la contaminazione con aghi usati. Come per le altre epatiti una persona infettata con l'epatite A può non essere nessun sintomo. I sintomi più comuni ricordano l'influenza. Questi includono fatica, vomito, dolore nell'area epatica, urine scure e febbre. I tests di funzionalità epatica spesso molto elevati, confermeranno la diagnosi. La maggior parte delle persone guarisce entro i sei mesi.

Non vi è nessun specifico trattamento per l'epatite A. La maggior parte dei pazienti va tenuta a riposo da uno a quattro settimane dopo la diagnosi. Anticorpi IgM appaiono precocemente e scompaiono nel giro di poche settimane rappresentando quindi un marker di infezione acuta. In un secondo momento compaiono anticorpi IgG che persistono tutta la vita e conferiscono l'immunità alla malattia. Da poco tempo è disponibile in Italia il vaccino per l'epatite A.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Non eseguire il test su lipemico od emolizzato. Consigliabile eseguire il prelievo dopo un digiuno di almeno 12 ore.

Esami collegati: Bilirubina, gamma-GT, Transaminasi, Anticorpi Anti Virus B, Anticorpi Anti Virus Epatite C.

HBV (EPATITE VIRALE B)

Metodo: chemiluminescenza/ELFA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

PREVALENZA

La prevalenza dei portatori di HBsAg varia, in Italia, dallo 0.5% al 5.6% nelle diverse regioni, ed è massima in Puglia, Campania e Sardegna. Differenze più marcate si osservano nella prevalenza dell'HBsAg nelle diverse aree del globo. Nei paesi ad elevato livello igienico-sanitario essa è inferiore 0.5%. Al contrario in alcune zone dell'Africa e dell'Estremo Oriente supera il 10%. Anche la prevalenza dell'AntiHBs, che rispecchia quella del corrispondente antigene, varia dal 3-4% al 45-50%. In alcune popolazioni o "gruppi a rischio", la prevalenza complessiva dei due marcatori dell'HBV si avvicina al 100%.

EPIDEMIOLOGIA

L'epatite B si manifesta di solito in modo sporadico. La sorgente di infezione è rappresentata dall'uomo malato di epatite acuta (sintomatica o inapparente) e dai portatori cronici. La trasmissione avviene attraverso sangue infetto o suoi derivati (TRASMISSIONE PARENTERALE).

Lo screening per l'identificazione dei donatori di sangue portatori del virus ha ridotto praticamente a zero l'insorgenza dell'epatite B post-trasfusionale.

Tuttavia poiché la minima quantità di sangue capace di trasmettere l'infezione è di 0.000001 ml, le siringhe e gli strumenti (chirurgici e non) contaminati con sangue infetto rappresentano importanti veicoli di trasmissione. Alte concentrazioni del virus sono state dimostrate in differenti materiali biologici di malati e portatori: saliva, bile colecistica, secreto nasofaringeo, latte materno, sperma, secreto vaginale. L'infettività è a, tutt'oggi controversa per altri materiali biologici come lacrime, sudore ed urine. Anche l'HBV come l'HAV raggiunge



l'intestino con la bile, ma le feci non sono infettanti per la presenza di un inibitore intestinale (di Piazza), che inattiva l'HBV. Ciò rende conto della mancata trasmissione Oro-fecale.

La minima quantità di sangue che deve penetrare nel torrente circolatorio per provocare infezione, giustifica quella modalità di trasmissione, detta "parenterale in apparente", che si verifica tra il portatore ed il soggetto recettivo per semplice contatto tra superfici cutaneo-mucose che presentino anche modeste soluzioni di continuo. Oltre alla "trasmissione orizzontale", particolare importanza riveste la "trasmissione verticale o materno fecale" che raramente avviene durante la gravidanza (a meno che non siano presenti lesioni placentari).

Le probabilità di trasmissione sono elevate se la donna presenta una Epatite Acuta B nel terzo trimestre di gravidanza.

In assenza di profilassi immunitaria la probabilità di trasmissione varia dal:

- 12 % circa per le madri HBsAg⁺ ed Anti-Hbe⁺
- 25 % circa per le madri HBsAg⁺ ed HBeAg⁻/ AntiHBE⁻
- 90-100 % per le madri HBsAg⁺ ed HBeAg⁺.

Poiché il 90 % dei neonati che contraggono la malattia dalla madre diviene portatore cronico di HBsAg, la trasmissione verticale ha un ruolo importante nel perpetuare l'infezione.

IL VIRUS

L'HBV appartiene alla famiglia degli HepaDNAviridae. Resiste ad una larga varietà di agenti chimici la sua infettività persiste per almeno 15 anni a -20 °C, per 6 mesi a temperatura ambiente e per 4 ore a 60°C. Il **virione** è costituito da particelle sferiche di 42 nm con una parte centrale ("core") di 27 nm ed un doppio rivestimento esterno ("surface").

Contiene un DNA circolare a doppia elica incompleta ed una DNA-polimerasi. Caratteristica dell'infezione da hepaDNA viridae, e quindi dell'HBV, è di dar luogo a forme virali incomplete circolanti (tubulari, sferiche di 22 nm di diametro). Proprio su queste particelle incomplete dell'HBV, oltre che sulle particelle circolanti del virus completo ("particelle di Dane") venne inizialmente localizzato il primo antigene specifico dell'HBV scoperto da Blumberg nel 1965: l'**Antigene Australia o HBsAg**. Oltre all'HBsAg sono stati successivamente identificati numerosi altri marcatori antigenici dell'infezione da HBV con i relativi anticorpi.

HBsAg

Antigene di superfici, di pertinenza delle forme tubulari e sferiche di 22 nm e della capsula della particella di Dane; fu il primo antigene ad essere identificato e fu inizialmente denominato Antigene Australia, per essere stato riscontrato in un aborigeno australiano. Costituito da lipoproteine e carboidrati, è identificabile con **metodi immunologici** nel sangue circolante (RIA o immunoenzimatici) e nel citoplasma degli epatociti infetti (immunofluorescenza). Occasionalmente è identificabile in altri organi come rene, cute e liquido sinoviale. Presenta diversi sottotipi antigenici, alcuni sempre presenti, altri mutuamente esclusivi (i più comuni: adr, adw, ayr, ayw) che possono essere utilmente utilizzati per ricerche epidemiologiche.

ANTI-HBs

Anticorpo specifico dell'antigene di superficie; compare tardivamente, dopo epatite acuta da Virus B (tranne che nell'epatite fulminante dove può comparire molto precocemente) e può persistere indefinitivamente. Indica, in genere epatite di tipo B pregressa. Molto raramente può essere presente insieme all'HBsAg.

HBcAg



Antigene del nucleo centrale (core) della particella di Dane, reperibile nel nucleo e nel citoplasma degli epatociti, nel sangue, all'interno della particella di Dane. Contiene DNA circolare in parte a doppia elica e DNA-polimerasi specifica.

Anti-HBc

Anticorpo specifico dell'HBcAg, che compare precocemente dopo l'inizio dell'epatite. *Ad alto titolo* e quando è costituito da globulina della classe IgM, è interpretabile come segno indiretto di attiva replicazione virale: è quindi indice di infezione da Virus B recente o di stato di portatore cronico di Virus B. In questi casi si associa abitualmente alla presenza di HBsAg circolante. *A basso titolo* e costituito in prevalenza da IgG può persistere in circolo molto a lungo, come segno di pregressa infezione epatitica B ed acquisita immunità.

HBeAg

Caratterizzato in modo incompleto, sembra associato al core della particella di Dane ma in posizione superficiale. Reperibile in circolo solo in pazienti portatori di HBsAg e con particelle di Dane circolanti, e nel citoplasma degli epatociti (dubbia la sua presenza nel nucleo). E' costituito da proteine. La sua presenza in circolo è correlabile con la infettività del sangue che lo contiene e con la presenza di epatopatia (acuta o cronica evolutiva), ma tale rapporto può non essere vero nel singolo paziente. Raramente presente nei portatori asintomatici di HBsAg.

Anti-Hbe

Anticorpo specifico dell'antigene e. La sua comparsa in ciclo in genere tardiva nel corso dell'infezione da epatite B, è di massima, indice di superamento dell'infezione e di guarigione.

Anti-Particella di Dane

Anticorpo specifico della particella di Dane completa (ancora non definito nelle sue caratteristiche fisico-chimiche e nella sua esatta localizzazione il corrispondente antigene). Compare molto precocemente nel corso dell'epatite acuta ma non in tutti i casi. La sua comparsa sembra indice di normale risposta immunitaria di difesa e di evoluzione dell'epatite verso la guarigione. La sua essenza farebbe prevedere una tendenza della malattia alla cronicizzazione.

Pre-S1 e Pre-S2

Sono due proteine antigeniche identificate più di recente. Hanno un peso molecolare maggiore rispetto all'HBsAg e si ritrova nel siero prevalentemente sulle particelle di Dane e sulle forme tubulari. La loro presenza nel siero sembra correlarsi con la replicazione virale e la loro persistenza con la cronicizzazione della malattia.

DNA-Polimerasi

E' in grado di allungare il filamento corto del DNA virale e sembra possedere un'attività di transcriptasi inversa. Rappresenta uno degli indici più sensibili di replicazione virale.

HBV-DNA

Può essere ricercato attualmente con metodiche di ibridazione (ma anche più semplici) sia nel siero che nei tessuti. Rappresenta il marcatore di infezione da HBV che di replicazione più sensibile e più specifico. Numerose sostanze possono interferire nel dosaggio dando false positività.

Campione: siero.

E' consigliabile una dieta ipolipidica ed ipocalorica nei 3 giorni che precedono il test. Il test deve essere eseguito a digiuno da 12 ore. Tutti i farmaci debbono essere sospesi 24 ore prima del test.



Esami collegati: Bilirubina, gamma-GT, Anticorpi Anti Virus Epatite A, Transaminasi, Anticorpi Anti Virus Epatite C.

HCG (GONADOTROPINA CORIONICA UMANA)

E' costituito da 273 aminoacidi con una quota di carboidrati di circa il 30 %. Come gli altri ormoni glicoproteici (LH, SH, TSH), l'HCG consiste di 2 subunità α e β , collegate tra loro in modo covalente. Solo l'intera molecola intatta è biologicamente attiva. La concordanza strutturale maggiore è con l'ormone luteinizzante (LH) e ciò porta a simili comportamenti di legame con i recettori e gli anticorpi. Anche l'effetto fisiologico dell'HCG rassomiglia a quello dell'LH: all'inizio della gravidanza viene stimolata la unzione del corpo luteo con influenza sulla sintesi e secrezione degli ormoni placentari.

L'HCG viene prodotta durante la gravidanza nei sincizio trofoblastico della placenta. In detta sede le due subunità vengono sintetizzate separatamente, riunite in modo non covalente e secrete dopo glicosilazione.

Nelle forme non neoplastiche

Nelle forme ad elevata produzione cellulare non si sono potute dimostrare elevate concentrazioni di HCG.

Nelle forme neoplastiche

I tumori nei quali compaiono aumentate concentrazioni sieriche di HCG o β -HCG sono riassunti nella tabella:

SITO	FREQUENZA delle CONCENTRAZIONI AUMENTATE (%)
Tumori del testicolo a cellule germinative	48-86
non seminomatose	
Seminoma	10-22
Coriocarcinoma	100
Mola Vescicolare	97
Carcinoma pancreatico	
adenocarcinoma	11-50
carcinoma insulocellulare	22-50
Carcinoma gastrico	0-23
Tumori del tenue	13
Carcinoma del colon	0-20
Epatoma	17-21
Carcinoma bronchiale	0-12
Carcinoma epiteliale ovarico	18-41
Carcinoma mammario	7-25
Carcinoma renale	10

**Valutazione:**

Come quello dell'alfafetoproteina, anche la determinazione dell'HCG e delle subunità β nel siero non è consigliabile come screening per i tumori maligni. Può però avere significato in pazienti a rischio (pazienti in remissione completa dopo tumore del testicolo). Concentrazioni superiori a 10 UI/L, se si esclude la gravidanza, sono con grande certezza a favore dell'esistenza di un tumore maligno. Nei tumori trofoblastici, alla determinazione dell'HCG, spetta il ruolo fondamentale dato che non sono applicabili gli usuali criteri di malignità. Controllo del decorso dopo toilette chirurgica sono allo stato attuale considerati premessa indispensabile all'ulteriore procedere prognostico; la concentrazione dell'HCG si normalizza al più tardi dopo 12 settimane; il tempo di diminuzione è prolungato fino a 4 giorni circa. Concentrazioni ulteriormente aumentate o in fase di aumento sono sicuro indice di tessuto proliferante o di degenerazione maligna, il cui sviluppo viene segnalato in questo modo alcune settimane o mesi prima delle manifestazioni cliniche.

Avvertenze:

Nel I Trimestre di gravidanza concentrazioni molto elevate di HCG sono fisiologiche. Solo con la mancanza di caduta delle concentrazioni nel corso della gravidanza oppure con l'ulteriore aumento affiora il sospetto di tumore trofoblastico. In donna in fase postmenopausale con insufficienza renale e necessità di dialisi sono state evidenziate nel siero concentrazioni di HCG aumentate fino a 10 volte, senza che fosse presente il tumore.

Test con gonadotropina corionica umana (HCG)

Quando si inietta HCG, questa si lega al recettore per l'LH sulle cellule del Leydig e stimola la secrezione di testosterone. Pertanto, nel maschio, la funzionalità delle cellule del Leydig può essere valutata direttamente mediante un'iniezione giornaliera per due giorni per via I.M. di 2.000 U.I. Si parla di risposta normale quando i livelli di testosterone si raddoppiano dopo l'ultima iniezione. Soggetti con ipogonadismo primario presentano una risposta ridotta, mentre quelli con insufficienza delle cellule del Leydig secondaria ad insufficienza ipotalamica o ipofisaria, hanno una risposta normale.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

HCV

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il virus dell'epatite C è stato identificato nel 1989 e dal 1990 è disponibile un test per gli anticorpi Anti-HCV. Il genoma è costituito da una molecola di RNA a catena singola di circa 9.400 basi. Il genoma dell'HCV comprende una regione strutturale, in posizione 5', che codifica per le proteine componenti la particella virale, ed una regione non strutturale, in posizione 3', che codifica per le proteine di funzione.

All'estremità 5' del genoma dell'HCV è localizzata una sequenza, si324-341 nucleotide che non viene tradotta in proteine (5'-NCR). Tale regione contiene le sequenze regolatrici per la replicazione e la traduzione dell'intero genoma virale.

Anche all'estremità 3' dell'RNA virale è presente una corta regione (27-45 nucleotide non tradotta (3'-NCR).

Le proteine strutturali, codificate dalla porzione N-terminale comprendono:



- **la proteina del core p-22, codificata dal gene C.** Questa proteina possiede la capacità di legarsi all'RNA e l'associazione specifica tra p-22 ed RNA è connessa alla formazione del nucleocapside;
- **la proteina gp33 che è codificata dal gene E1;**
- **la proteina gp70 che è codificata dal gene E2/NS1.**

La regione non strutturale del genoma codifica per le proteine funzionali e cioè:

- **una proteasi-ciclastasi, codificata dal gene NS3;**
- **una RNA polimerasi RNA-dipendente o replicasi, codificata dal gene NS5;**
- **una proteina p10 ed una proteina p27, codificata dal gene NS4,** (attualmente ha funzione sconosciuta);
- **una proteina p23, codificata dal gene NS22** (attualmente ha funzione sconosciuta).

L'HCV può essere trasmesso tramite trasfusione di sangue. Attualmente tutti i campioni di sangue vengono testati per la presenza del virus. Il virus resiste ad alte temperature quindi non viene facilmente eliminato dalle procedure di sterilizzazione routinaria eseguita dagli odontoiatri e dermatologi che eseguono piccoli interventi di chirurgia ambulatoriale.

Chiunque venga a contatto con sangue infetto, aghi (da siringa ma anche per tatuaggi o piercing), strumenti chirurgici è a rischio per l'epatite C. Il rischio di trasmettere l'epatite C sessualmente è sconosciuto. Esistono solo pochissimi casi certi e documentati. Il ruolo del profilattico come protezione effettiva al 100% nei normali rapporti sessuali è tutto da dimostrare. Non esiste al momento attuale un vaccino per l'epatite C.

TEST PER GLI ANTICORPI

La determinazione degli anticorpi diretti verso antigeni del virus è stato il primo approccio disponibile per la diagnosi di infezione. Inizialmente è stato messo a punto un sistema immunoenzimatico (**ELISA**) utilizzando un antigene ricombinante (**C-100**) prodotto dal primo clone isolato (5-1-1), corrispondente alla parte carbossiterminale della proteina codificata dalla regione non strutturale NS3 ed alla proteina codificata dalla regione NS4.

Sono stati quindi allestiti sistemi diagnostici in grado di identificare altri anticorpi. Essi si sono rivelati più sensibili e più specifici dei test iniziali.

Gli anticorpi di cattura che sono stati aggiunti nei test di II generazione sono:

- **l'antigene nucleo-capsidico C22;**
- **l'antigene C-200 (che deriva dalla fusione di C-100 con la proteina non strutturale C-33c).**

I test di III generazione includono:

- antigeni della regione nucleo-capsidica
- antigeni delle regioni non strutturali NS3, NS4, NS5.

TEST DI CONFERMA (RIBA)

La positività dei sistemi immunoenzimatici talora dovuto al legame aspecifico (ad es. aggregati di Ig), riscontrata specie nei test di prima generazione, ha indotto a formulare dei test di conferma. Questi si basano essenzialmente sul **riconoscimento specifico di antigeni virali applicati su strisce di nitro cellulosa.**

Il test è ritenuto positivo se sono riconosciuti due antigeni:

- il 75-80 % degli individui positivi ai test di conferma presentano segni di infezione in atto, come dimostrato dalla presenza di viremia con positività all'HCV nel siero.



Pazienti positivi per i test di conferma, ma negativi per HCV-RNA possono essere:

1. soggetti con infezione pregressa che hanno quindi eliminato il virus;
 2. soggetti con livelli di viremia al di sotto della soglia di sensibilità del sistema utilizzato per la identificazione dell'HCV-RNA;
 3. soggetti in cui la reattività anticorpale non è specifica (nonostante un insieme di evidenze cliniche sia a sfavore di questa ipotesi.
- Talvolta la positività anti-HCV si associa al riscontro di reattività verso un singolo antigene a livello del test di conferma. Questo profilo, definito indeterminato:
 1. può indicare un legame aspecifico delle Ig;
 2. può essere espressione di un'infezione guarita;
 3. può essere espressione di un'infezione in atto.

L'interpretazione di questo dato dev'essere calata nella realtà individuale del soggetto in esame perché ad es. questo pattern, in caso di infezione acuta, può significare una iniziale comparsa anticorpale a cui successivamente farà seguito la positivizzazione verso altri determinanti antigenici. Consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono il prelievo.

Esami collegati: Bilirubina, gamma-GT, Anticorpi Anti-Virus Epatite A, Anticorpi Anti-Virus.

HCV RNA (QUAL. E QUANTITATIVO)

Metodo: real time-PCR

Campione: Sangue EDTA

Note:

Attualmente la diagnosi sierologia dell'infezione da HCV si basa principalmente sulla presenza o meno del siero del paziente di anticorpi specifici diretti contro antigeni strutturali (che fanno cioè parte del virus; gli antigeni non strutturali non fanno parte della struttura del virus ma entrano in gioco durante la fase di replicazione virale).

La presenza degli anticorpi comunque non indica immunizzazione ma al contrario spesso si associa alla persistenza del virus nell'organismo. I tests sierologici presentano peraltro problemi di non specificità e non sono indicatori attendibili della replicazione virale. Pertanto, la trascrizione inversa (RT) dell'HCV-RNA seguita dall'amplificazione mediante PCR del cDNA, è attualmente il miglior metodo per dimostrare la viremia da HCV.

La determinazione dell'HCV-RNA mediante PCR è una metodica altamente sensibile in grado di rilevare anche bassissime concentrazioni di acido nucleico del Virus C nel siero. Infatti, pur se in un numero limitato di casi, soggetti negativi alla ricerca degli anticorpi con il metodo RIBA mostrano positività per HCV-RNA. In tali soggetti la viremia si è rivelata transitoria o fluttuante, ciò nonostante il loro sangue deve essere considerato potenzialmente infettante. Nel sangue, l'RNA del virus può essere dimostrato mediante PCR già 1-2 settimane dopo l'infezione, circa un mese prima dell'aumento delle transaminasi (Piazza,1984) e mediante RT nested PCR anche dopo pochi giorni dall'infezione (Houghton,1996), in quanto questo metodo è in grado di rilevare fino ad un minimo di 20-25 copie virali per mL di plasma. Ed è proprio la diversa sensibilità delle suddette metodiche che spiega tale differenza di tempi nelle capacità di rilevazione. Un altro metodo per la rilevazione della viremia sviluppato recentemente è il cosiddetto bDNA (branched DNA), il quale per altro è meno sensibile delle tecniche che utilizzano la PCR: infatti questo metodo è in grado di **rilevare** 350.000 equivalenti genomici per mL mentre con le tecniche di PCR se ne possono rilevare 2.500.

**TAB. Sensibilità dei metodi per la rilevazione del genoma HCV***Unità virali/mL di siero rilevabili*

<i>metodo</i>	<i>1-10</i>	<i>10-100</i>	<i>100-1000</i>	<i>1000-10.000</i>	<i>10.000-100.000</i>
PCR	-	-	-/+	+++	
Nested PCR	+/-	+++			
bDNA	-	-	-	-	+++

Nel caso dell'epatite, l'inizio della malattia può essere ricondotto all'introduzione nell'organismo del virus C che è l'agente causale. Esiste quindi un primo intervallo nel quale è presente solo il virus, senza altre manifestazioni evidenti, pur esistendo la malattia. Il secondo intervallo è quello segnalato da manifestazioni subcliniche della malattia che non sono evidenti all'esame obiettivo, ma che possono essere messe in evidenza dall'aumento delle transaminasi o dalla presenza di anticorpi nel siero. Il terzo intervallo è quello manifesto della malattia nel quale il malato è itterico e presenta evidenti disfunzioni all'esame clinico.

E' chiaro che fino a che non è stata possibile la rilevazione diretta della presenza del paziente del virus HCV, l'inizio della malattia non è stato rilevabile. Le tecniche oggi disponibili ci rendono in grado di identificare la presenza del virus HC nei soggetti da esso infettati, anche molto tempo prima di qualunque altra manifestazione clinica. La viremia di HCV in soggetti affetti da epatite clinicamente evidente è definita dallo studio collaborativo *Eurohep* coordinato dalla Croce Rossa olandese in 360.000 molecole virali per mL di plasma. E' quindi logico che individui con viremia più bassa abbiano manifestazioni della malattia molto meno visibili, inclusa la possibilità di non generare anticorpi o di generare una quantità non rilevabile o comunque di impiegare un tempo superiore alla norma per generarli. E' altresì chiaro che una bassa viremia può condurre più facilmente alla completa eliminazione del virus dal plasma permettendone o soltanto l'eventuale localizzazione intracellulare nelle cellule bianche circolanti o addirittura l'eliminazione, situazione che è stata anche descritta clinicamente (Barrea, 1996; Schmidt, 1996; Mangia, 1996). Nel caso di sacche di plasma trovate positive alla nested PCR ma non alla PCR appartenenti a pazienti apparentemente in buona salute o comunque che non presentano anticorpi Anti-HCV a distanza di alcuni mesi, si può dunque ragionevolmente pensare che tali pazienti abbiano avuto una viremia così bassa da non mostrare sintomatologia né altri marcatori attualmente considerati (transaminasi, anticorpi), ma evidenziabile solamente con PCR + nested PCR. Tali pazienti potrebbero non mostrare mai alcuna situazione di epatite in quanto completamente guariti, così come manifestarla a distanza di molto tempo. Per altro, il plasma di tali pazienti, contenendo una sia pur minima carica virale va considerato potenzialmente infettante.

Quando bisogna ricercare l'HCV-RNA?

Quando i test di screening ed i test supplementari orientano alla sua ricerca.

In quali casi si può eseguire l'HCV-RNA anche senza aver eseguito il profilo sierologico o con profilo sierologico negativo?

- *sospetta infezione acuta*
- *neonati da madri HCV positive*
- *soggetti che siano punti recentemente (negli ultimi quattro mesi) con aghi o con altri strumenti potenzialmente infetti;*
- *soggetti monodepressi nei quali la risposta anticorpale non sia attendibile;*



- *acquisizione passiva di anticorpi*

Falsi negativi

Quanto fin qui esposto rende anche conto della non costante ripetibilità della ricerca del menoma virale in un soggetto che presenti una viremia così bassa. Infatti, data la presenza di pochissime copie virali e della minima quantità di campione che viene utilizzata per l'esame, è possibile che nel prendere l'aliquota di campione necessaria alla reazione di amplificazione non venga raccolta nemmeno una copia del menoma virale e quindi non venga eseguita l'amplificazione. Solo in questo caso limite (che però è numericamente possibile) possiamo parlare di falsi negativi non certo per i limiti dovuti per la tecnica in sé.

Falsi positivi

Sono possibili qualora venga amplificata una regione di acido nucleico non propria del virus ma appartenente ad un'altra sequenza genica. In questo caso però bisogna che gli iniziatori della reazione (primers) siano errati e corrispondano ad una diversa sequenza genica.

Non è infatti possibile per le leggi riconosciute della biologia molecolare che primers corretti amplifichino una regione sbagliata. Comunque pur volendo ammettere un errore la seconda amplificazione a carico della medesima sequenza virale dovrebbe essere anch'essa sbagliata, altrimenti la sequenza virale amplificata potrebbe non essere rilevata poiché scarsa, ma non è certo possibile che una seconda sequenza specifica per il virus produca un altro errore.

Infine, anche volendo considerare tutte le eventuali più sfavorevoli dobbiamo ricordare che il sistema finale di rilevazione è costituito dalla reazione di ibridazione con la sonda specifica che può agganciarsi solo ed esclusivamente alla sequenza virale eventualmente presente, e non si tratta di una calamita che attira tutto ma di molecole che hanno una selettività enorme e reagiscono solo a determinate condizioni. Pertanto, in caso di errore è possibile il falso negativo ma non il falso positivo che si può verificare solo in caso di inquinamento manuale da parte dell'operatore nell'esecuzione delle reazioni.

HDL

Metodo: enzimatico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Colesterolo HDL è contenuto in proteine ad alta densità (high-density lipoproteins). E' diminuito nel diabete mellito, iperlipoproteina tipo IV, nefropatia, epatopatia. La sua diminuzione è un fattore di rischio aterogenico (infarto miocardio, vasculopatie cerebrali, periferiche). Inoltre, dai valori del colesterolo HDL, possono essere riconosciuti i pochi individui nei quali un lieve aumento del colesterolo totale dipende dall'aumento del colesterolo HDL in presenza di valori normali del colesterolo LDL. E' usato per valutare il rischio di sviluppare una coronopatia, ma il range di normalità non è sufficiente per l'interpretazione dei risultati.



Rischio relativo di coronopatia in funzione dell'HDL colesterolo (Framingham Hearth Study)

HDL colesterolo mg/dL	Rischio relativo	
	MASCHI	FEMMINE
30	1.82	
35	1.49	
40	1.22	1.94
45	1.00	1.55
50	0.82	1.25
55	0.67	1.00
60	0.55	0.80
65	0.45	0.64
70	0.52	

E' aumentato in caso di contraccettivi orali, insulina, ACTH, idantoinici, clofibrato. Individui che assumono alte dosi di Vitamina C possono presentare bassi livelli di HDL. Prima del prelievo è opportuno osservare una dieta equilibrata per due settimane. Evitare di ingerire alcool 24 ore del test. Digiuno nelle 12 ore prima del prelievo.

Campione: può essere usato sia siero che plasma anticoagulato con EDTA o Eparina.

Esami collegati: Colesterolo, Trigliceridi, Colesterolo LDL, Apolipoproteine.

HELICOBACTER PILORI

L'infezione di Helicobacter pilori è una delle più comuni infezioni croniche dell'uomo. Benché la maggior parte delle infezioni da H.P. sia clinicamente silente, questo microrganismo è associato con una sostanziale morbilità e mortalità poiché può causare sia ulcera peptica che Ca gastrico. Oggi sono disponibili test sierologici (anticorpi IgG) per la diagnosi di infezione da H.P. e la FDA ha approvato l'Urea Breath Test, che è l'unico capace di rilevare l'infezione attiva. Consigliabile il digiuno da 12 ore.

Esami collegati: Gastrina, Amilasi, Ca19-9.

HERPES VIRUS I E II (ANTICORPI)

I virus dell'Herpes simplex di tipo I (VHS-1) e 2 (VHS-2) sono due dei sei virus erpetici, fino ad ora conosciuti, che infettano l'uomo. Questi virus sono ubiquitari nella popolazione umana, che ne rappresenta l'unico naturale serbatoio. Tre virus erpetici VHS-1, VHS-2 e il Varicella-Zoster (VVZ) sono neurotropi, mentre gli altri tre, citomegalovirus, virus di Epstein-Barr e il virus erpetico umano numero 6 sono linfotropi. Per neurotropismo e linfotropismo si intende l'affinità che il virus ha per il tessuto nel quale esso si ritrova latentemente dopo la prima infezione. Infatti, gli Herpes virus sono caratterizzati dalla capacità di stabilire un'infezione latente successiva all'infezione primaria e di stabilirsi nell'ospite per tutta la vita. Il virus latente si riattiva periodicamente, in seguito a una serie di stimoli diversi e per un diminuzione della risposta immunitaria cellulo-mediata, dando luogo alle infezioni ricorrenti. I VHS sono stati suddivisi in due tipi in base a caratteri biochimici, biologici, immunologici, epidemiologici e clinici. In generale i VHS-1 sono responsabili di casi di gengivostomatite primaria, herpes recidivante perilabiale cheratite erpetica, encefalite e infezione cutanea della regione sopra-ombelicale. I VHS-2 sostengono invece le infezioni localizzate ai genitali femminili e maschili e alla cute della regione sotto-ombelicale. L'Herpes neonatale può essere causata da entrambi i tipi di VHS. L'interesse per la malattia neonatale scaturisce da considerazioni di tipo epidemiologico e clinico. Infatti, le casistiche riportano un incremento dei casi di infezione genitale e herpes neonatale. Inoltre, l'infezione contratta in epoca perinatale dà luogo a un quadro anatomico-clinico che, a differenza di ciò che avviene per l'infezione primaria contratta



in epoca post-natale e per le recidive che compaiono successivamente, è gravato da un alto tasso di mortalità. Si tratta infatti, nella maggior parte dei casi, di un'infezione generalizzata con disseminazione pluriviscerale a evoluzione sfavorevole nel 70-80% dei casi. La frequente localizzazione a carico delle meningi e dell'encefalo è inoltre responsabile dell'alta incidenza di sequele neurologiche e/o oculari, che compaiono nel 50% dei sopravvissuti all'infezione, anche a distanza di tempo. Il 50-90% dei soggetti adulti è stato a contatto con il virus Herpes simplex e ciò rende difficilmente interpretabili i risultati di questo test sierologico in caso di reinfezione. Importante in quest senso è la determinazione degli anticorpi IgM-IgG, in particolare nel caso di sospetta infezione in gravidanza. L'inattivazione con il calore del siero in esame può dare falsi risultati positivi. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Toxotest, Rubeotest, Cytomegalovirus.

HERPES VIRUS I E II (RICERCA DIRETTA)

L'isolamento dei VMS in coltura cellulare, partendo dal liquido delle vescicole che contengono i virus infettanti, avviene con buona percentuale, mentre dalle pustole o da lesioni crostificate tale isolamento è pressoché negativo. I campioni di VHS possono essere raccolti per aspirazione del liquido dalle vescicole con l'ausilio di una siringa da insulina, o mediante un piccolo tampone di cotone. I campioni così raccolti possono essere inoculati direttamente nelle colture cellulari oppure conservati a -80°C per lungo periodo, a 4°C per poche ore.

Le linee Hep-2, Vero, BEL, BHK e RSC sono cellule permissive più usate per la crescita del virus dove esso produce uno specifico effetto citopatico in poche ore o giorni, in dipendenza della dose infettante. La sierconversione è un evento usuale ed è prova dell'infezione primaria, mentre i saggi immunologici sono utili per diagnosticare le infezioni ricorrenti, dato che l'aumento del titolo anticorpale non si accompagna sempre con le recidive. Le tecniche di immunofluorescenza e immunoperossidasi possono essere usate per determinare gli antigeni di VHS tuttavia queste tecniche sono meno sensibili all'isolamento virale.

L'analisi citologica delle inclusioni nucleari evidenziate con i Tzanck test dà un'alta percentuale di falsi negativi, ma è ugualmente utilizzata come esame di primo livello per la semplicità e i bassi costi. Le tecniche di diagnostica molecolare basate sull'identificazione degli acidi nucleici virus-specifici (DNA e RNA) si sono affiancate con successo alle metodiche immunologiche e all'isolamento del virus su cellule in coltura. In particolare, le tecniche di ibridazione DNA-DNA e DNA-RNA su filtro *in situ* hanno permesso l'identificazione dei VHS da lisati grezzi, senza previo isolamento dei virioni o degli acidi nucleici, oppure su tessuti. Più recentemente la tecnica di amplificazione genica o PCR, sia di DNA che di RNA ha consentito un più celere utilizzo delle tecniche molecolari per l'identificazione dei VHS. Questa metodica, utilizzando una coppia di oligonucleotidi sintetici, è in grado di rilevare la presenza dei VHS distinguendoli eventualmente dagli altri virus erpetici. Inoltre, con due diverse coppie di oligonucleotidi è possibile differenziare tra loro i due tipi di VHS. Non è necessaria l'interruzione di terapie antibiotiche.

Esami collegati: Candida, Mycoplasma, Gardnerella.

HGV (VIRUS DELL'EPATITE G)

L'HGV è un virus ad RNA a catena singola appartenente alla famiglia dei Flavivirus.



L'analisi per omologia della sequenza con altri virus della stessa famiglia ha evidenziato una corrispondenza di fatto con il virus GBV-C. Altri virus simili, associati con epatiti umane ed animali (GBV-A, GBV-B ed HCV) rappresentano specie differenti. Per quanto attiene all'AGV, studi di sequenza hanno dimostrato aree ad alta conservazione della regione strutturale 5' e l'analisi delle regioni E1 ed E2 mostra che, a differenza dell'HCV non esistono aree ipervariabili. Le ricerche condotte hanno portato all'identificazione di 5 proteine non strutturali (NS2, NS3, NS4b, NS5 ed NS5b). La zincoproteasi di NS2b, identificata originariamente nell'HCV, è stata riscontrata anche nell'HGV.

Metodi di rilevamento dell'HGV

E' stato sviluppato un metodo per l'identificazione di infezione dell'HGV tramite la tecnologia degli Ac. Nucleici. L'HGV-RNA viene estratto da siero o plasma ed attraverso una trascrizione inversa si ottiene il DNA complementare; primer della regione non coding ed NS5 vengono impiegati in una reazione di amplificazione singola tramite PCR modificata.

Come ulteriore passo in avanti è stato approntato un test immunoenzimatico per la determinazione dell'HGV anti-E2. Anticorpi contro la proteina E2 sono stati rinvenuti dopo negativizzazione di HGV-RNA nel siero e sono indicativi di remissione da infezione da HGV.

Rilevanza clinica

Dai primi studi clinici riportati in letteratura, l'infezione da HGV risulta particolarmente comune in individui ad alto fattore di rischio per l'esposizione virale di tipo parenterale, come i politrasfusi ed i tossicodipendenti. In soggetti si riscontra una coinfezione con il virus dell'epatite C ma, tuttora, non è ancora stato stabilito con certezza il ruolo dell'HGV per quanto riguarda l'induzione o il peggioramento del danno cellulare evidenziato.

Esistono anche numerosi studi sull'HGV in epatiti acute e croniche NA-NB, in epatiti fulminanti con frequenza variabile nei diversi studi dallo 0 al 65 %, nella cerrosi criptogenica ed in diverse patologie epatiche ad etiologia sconosciuta. Da studi recenti sembrerebbe che l'HGV possa anche svolgere un ruolo significativo in patologie extra-epatiche ed in disordini sistemici. Non ultimo sembrerebbe importante nei quadri di infezione da HBV ed HCV per una diversa risposta alla terapia con Interferone.

HIV

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

L'HIV è un retro virus (virus ARNA) del genere dei lentivirus. I lentivirus provocano malattie caratterizzate da un lungo periodo di incubazione e da un decorso prolungato. L'AIDS rappresenta solo lo stadio terminale di un processo patogenetico continuo e progressivo. Questo processo comincia con una primaria infezione da HIV, continua con una fase cronica di solito asintomatica, porta a sintomi progressivamente più severi e conduce, alla fine, a profonda immunodeficienza. Quest'ultima rende le sue vittime suscettibili a varie infezioni opportunistiche e a rare forme di tumori maligni, che sono la causa della morte diretta dell'individuo.

L'infezione delle cellule bersaglio



Nei soggetti infetti il livello di HIV nel sangue e nello sperma è alto, nel siero e nelle secrezioni vaginali è piuttosto basso e in altri liquidi corporei, come urina, saliva e lacrime, è ancora più basso. Le principali vie di trasmissione sono pertanto i rapporti sessuali, le trasfusioni di sangue o di emoderivati, l'uso in comune di siringhe e la trasmissione per via transplacentare da madre infetta a figlio. Tutte queste vie di trasmissione probabilmente coinvolgono il virus associato a cellule (macrofagi, cellule dendritiche e linfociti). Quando il virus entra in circolo, esso infetta le cellule bersaglio. Il recettore cellulare principale dell'HIV è il CD4. Esso si trova su: linfociti TH, macrofagi, monociti, cellule dendritiche dei linfonodi, cellule di Langerhans, cellule staminali emopoietiche, alcune cellule della mucosa rettale e cellule della microglia. Poiché i massimi livelli di CD4 sono espressi dai linfociti TH, l'HIV è l'infocitotropo. L'HIV, dopo essersi legato al suo recettore, fonde il suo involucro con la membrana della cellula bersaglio. Il nucleocapside è inglobato nella cellula, l'RNA virale si libera e viene trascritto in DNA dalla trascrittasi inversa del virus. Il DNA virale poi si integra nel genoma della cellula ospite dando luogo a un provirus. Il provirus può rimanere allo stato latente per un periodo di tempo indeterminato. Il DNA virale rimane permanentemente associato al DNA della cellula ed è trasmesso alle cellule figlie a ogni divisione cellulare. Nello stato di latenza i geni virali non sono espressi e il virus rimane nascosto al sistema immunitario. Il provirus rimane allo stato latente fino allo stato in cui si verificano determinati eventi che innescano l'attivazione del provirus. Con l'attivazione i geni strutturali del virus vengono trascritti in mRNA ed esso viene tradotto nelle proteine virali. Queste cominciano ad assemblarsi e contemporaneamente la membrana della cellula ospite viene modificata dall'inserimento della gp 41 e della gp 120. Poi l'RNA virale e le proteine del capsido si assemblano a ridosso della membrana cellulare modificata. Essa costituirà l'involucro attraverso un processo di gemmazione. La serie di eventi descritta viene chiamata *ciclo litico*. L'attivazione del provirus e la gemmazione delle particelle virali neoformate in alcuni casi porta alla lisi della cellula infettata, in altri casi permette la sopravvivenza della cellula infettata. Il destino della cellula infettata è influenzato dal livello di CD4 che essa esprime. Cellule che esprimono un alto livello di CD4 (come i linfociti TH) liberano molti virioni e vanno incontro a lisi, cellule che esprimono un basso livello di CD4 (come macrofagi, monociti e cellule dendritiche dei linfonodi) liberano pochi virioni e sopravvivono. Quindi macrofagi e cellule dendritiche possono accogliere il virus, proteggerlo dalla risposta immunitaria e funzionare da compartimento di riserva. Da questo compartimento il virus può diffondere in tutto l'organismo oppure può essere trasmesso ad altri soggetti.

Dall'infezione alla malattia

A grandi linee l'andamento della malattia può essere diviso in tre fasi:

- l'infezione primaria decorre asintomatica in più del 50% dei soggetti.
- il periodo di latenza è quello che intercorre tra la sieroconversione e la comparsa dell'AIDS conclamata. La sua durata media è stimata attorno agli 11 anni. Esso è caratterizzato dalla diminuzione più o meno lenta o più o meno progressiva del numero dei linfociti T CD4⁺ circolanti. Spesso è presente una linfadenomegalia generalizzata (Linfadenopatia Persistente Generalizzata, PGL). Durante questa fase possono comparire una serie di quadri clinici correlati all'infezione dell'HIV. La presenza di questi quadri non è indicativa della sindrome conclamata.



- il periodo dell'AIDS conclamato è caratterizzato dalla comparsa di infezioni da opportunisti o di condizioni patologiche correlate all'infezione da HIV un presenza delle quali si può dare la diagnosi di AIDS.

Attualmente i CDC definiscono l'AIDS conclamato in un adulto, o in un adolescente di 13 anni o più, come la presenza di una delle 25 condizioni indicative di severa immunosoppressione (come la polmonite da *Pneumocystis carinii*) associata all'infezione da HIV o la presenza dell'infezione da HIV in un soggetto con numero di linfociti T CD4⁺ inferiore alle 200 cellule /ml di sangue (vedi riquadro).

La distruzione dei linfociti T CD4⁺

Come detto sopra, una delle prime osservazioni sulle compromissioni del sistema immunitario presenti nell'infezione da HIV è stata la presenza di ridotti livelli di linfociti T CD4⁺ circolanti. I soggetti non infetti presentano nel sangue periferico un numero di linfociti T CD4⁺ pari a circa 1100 cellule/ml. Nei soggetti con AIDS questo numero diminuisce drammaticamente, scendendo sotto le 200 cellule/ml nello stadio avanzato della malattia. In questo stadio il soggetto diventa estremamente suscettibile alle infezioni opportunistiche e alle neoplasie. Circa il 40% dei pazienti con AIDS e infezioni opportunistiche non presenta nessuna cellula CD4⁺ evidenziabile nel sangue periferico. Questo gruppo di pazienti ha la più breve aspettativa di vita tra i pazienti con AIDS. Il rapporto numerico tra linfociti T CD4⁺ e linfociti T CD8⁺ nel sangue periferico nei soggetti non infetti è di circa 2, mentre nei soggetti con AIDS è inferiore a 1 e, a volte, è inferiore a 0.2. La deplezione dei linfociti T CD4⁺ riguarda sia quella infettate dal virus che quelli non infettati. La deplezione dei linfociti T CD4⁺ infettati dall'HIV avviene attraverso tre meccanismi: lisi diretta indotta dal virus, risposta immunitaria umorale e risposta immunitaria cellulo-mediata che uccidono le cellule infettate. Per spiegare la deplezione dei linfociti T CD4⁺ non infettati dall'HIV sono stati proposti vari meccanismi possibili: formazione di sincizi (cellule giganti multinucleate derivanti dalla fusione di linfociti T CD4⁺) che producono molti virioni e poi muoiono, distruzione dei linfociti T CD4⁺ mediata dalla gp120 solubile, interferenza della gp120 solubile con la maturazione timica dei linfociti T CD4⁺, morte cellulare programmata inopportuna dei linfociti T CD4⁺ mediata dalla gp120 solubile. Il collasso del sistema immunitario che si verifica nell'infezione da HIV mette in risalto il ruolo centrale svolto dai linfociti T CD4⁺ nelle risposte immunitarie sia umorale che cellulo-mediata.

Le altre alterazioni immunologiche provocate dall'infezione da HIV

L'ingresso dell'HIV in circolo produce un'iniziale viremia. In questa fase i virioni sono riscontrabili nel plasma e nei linfociti circolanti. Poco dopo l'infezione il soggetto produce anticorpi efficaci contro il virus. Questi anticorpi circolanti formano complessi con i virioni e il virus scompare dal sangue periferico. Nella maggior parte dei casi l'HIV ricompare in circolo dopo una decina di anni. Durante la risposta anticorpale alcuni virioni sono eliminati altri infettano i tessuti linfoidi periferici (linfonodi, milza, tonsille, adenoidi). Questi tessuti contengono le cellule follicolari dendritiche che possono essere infettate e funzionare da compartimento di riserva per una continua infezione dei linfociti T CD4⁺.

Biopsie dei tessuti linfatici periferici di soggetti infettati hanno rivelato che il virus si replica attivamente in questi tessuti e raggiunge i livelli 10-100 volte superiori rispetto a quelli riscontrabili nei linfociti T CD4⁺ circolanti. I linfonodi infettati vanno incontro a progressive e profonde alterazioni strutturali con l'avanzare della malattia. Nei soggetti con l'AIDS allo



stadio intermedio (con un numero di linfociti T CD4⁺ pari a 200-499 cellule/l) i linfonodi cominciano a presentare segni di disgregazione strutturale. Nei soggetti con AIDS allo stadio avanzato (con un numero di linfociti T CD4⁺ inferiore alle 200 cellule/l) i linfonodi presentano danni estesi e necrosi tessutale. Le cellule follicolari dendritiche muoiono e, conseguentemente, i centri germinativi scompaiono. La distruzione della struttura dei linfonodi riduce la loro capacità di intrappolare le particelle virali e di fornire l'ambiente adatto all'attivazione dei linfociti B e T. Aumenta così la quantità di virus in circolo e peggiorano le manifestazioni cliniche dell'AIDS. Altre alterazioni del sistema immunitario conseguenti all'infezione da HIV sono: ridotta risposta all'antigene da parte dei linfociti TH, inefficacia della risposta anticorpale, produzione sbilanciata di citochine, riduzione della risposta DTH, riduzione dell'attività dei linfociti T citotossici attivi (CTL) e delle cellule Natural Killer (NK), alterata regolazione della risposta immunitaria.

Il genoma e la variabilità genetica dell'HIV

Come per tutti i retrovirus, il genoma dell'HIV contiene tre geni principali: gag, pol, ed env. Questi geni dirigono la formazione dei componenti di base dell'HIV.

Il **gene gag** codifica per una poliproteina che è scissa da una proteasi virale codificata da pol, in quattro proteine: p24, p7, p9 e p17.

Il **gene pol** codifica per una poliproteina che è scissa da una proteasi virale, codificata da pol, in tre enzimi: trascrittasi inversa, proteasi ed integrasi.

Il **gene env** codifica per una poli proteina (gp160) che è scissa da una proteasi della cellula ospite nelle glicoproteine dell'involucro gp120 e gp41.

L'HIV ha la capacità di mutare geneticamente con facilità: la frequenza di mutazione dell'HIV è 65 volte quella del virus dell'influenza, il quale ha a sua volta una elevata frequenza di mutazione. L'elevata frequenza di mutazione dell'HIV è dovuta alla trascrittasi inversa del virus che introduce approssimativamente una mutazione ogni 2000 nucleotidi incorporati. Questa elevata frequenza di mutazione produce varianti dell'HIV nel medesimo soggetto infetto. Esse possono resistere alla risposta immunitaria, essere più citotossiche, generare sincizi più rapidamente o resistere alla terapia farmacologica.

Studi filogenetici hanno identificato gruppi di geni env dell'HIV-1, che si sono originati con la progressione epidemica dell'AIDS in tutto il mondo. Questi gruppi di geni env, influenzano il fenotipo dell'HIV-1, producendo così diversi sottotipi.

Il profilo sierologico dall'infezione da HIV

In seguito all'infezione da HIV si verifica una serie di fenomeni sierologici utilizzati per la diagnosi dell'infezione. Inoltre l'osservazione dello sviluppo dei dati sierologici può servire predire la progressione dalla fase di latenza alla fase litica, che culmina con la diagnosi di AIDS conclamato. Poco dopo l'infezione il virus si replica molto attivamente e la proteina p24 del core virale può essere rivelata nel siero mediante tecniche ELISA o RIA. L'antigene p24 rimane nel siero solo per poche settimane e scompare nel momento in cui compare la risposta anticorpale (sieroconversione). In genere tra l'infezione e la sieroconversione passano circa sei settimane, ma in alcuni soggetti passano più di 3 anni.

Nel momento della siero conversione possono essere trovati anticorpi anti-HIV di tipo IgM nel volgere di poche settimane essi si riducono e appaiono anticorpi anti-HIV di tipo IgG. Questi ultimi sono specifici per varie proteine strutturali del virus (gp120, gp41, p24 e p17).



La comparsa e la persistenza degli anticorpi anti-HIV core (anti-p24) è correlato con la fase di latenza del virus: fino a quando i livelli di anticorpi anti-HIV core sono elevati il soggetto rimane asintomatico. Quando i livelli di anticorpi anti-HIV core calano, aumentano i livelli di antigene p24. Questi cambiamenti sono associati con la progressione dell'HIV dallo stato di latenza al ciclo litico e sono utilizzati, nella pratica clinica, per diagnosticare la progressione verso la malattia conclamata.

Il profilo sierologico dell'infezione da HIV

In seguito all'infezione da HIV si verifica una serie di fenomeni sierologici utilizzati per la diagnosi dell'infezione. Inoltre l'osservazione dello sviluppo dei dati sierologici può servire a predire la progressione dalla fase di latenza alla fase litica, che culmina con la diagnosi di AIDS conclamato. Poco dopo l'infezione il virus si replica molto attivamente e la proteina p24 del core virale può essere rivelata nel siero mediante tecniche ELISA o RIA. L'antigene p24 rimane nel siero solo per poche settimane e scompare nel momento in cui compare la risposta anticorpale (sieroconversione). In genere tra l'infezione e la sieroconversione passano circa sei settimane, ma in alcuni soggetti passano più di tre anni. Nel momento della sieroconversione nel siero possono essere trovati anti-HIV di tipo IgM. Nel volgere di poche settimane essi si riducono e appaiono anticorpi anti-HIV di tipo IgG. Questi ultimi sono specifici per varie proteine strutturali del virus (gp120, gp41, p24 e p17). La comparsa e la persistenza degli anticorpi anti-HIV core (anti-p24) è correlata con la fase di latenza del virus: fino a quando i livelli di anticorpi anti-HIV core sono elevati, il soggetto rimane asintomatico. Quando i livelli di anticorpi anti-HIV core calano, aumentano i livelli di antigene p24. Questi cambiamenti sono associati con la progressione dell'HIV dallo stato di latenza al ciclo litico e sono utilizzati, nella pratica clinica, per diagnosticare la progressione verso la malattia conclamata.

Il protocollo diagnostico

Lo schema del protocollo diagnostico si deve adattare alla storia clinica del soggetto, ovvero deve tener conto dei fattori di rischio o delle patologie in corso. Risposte negative dei test di screening in presenza di patologie indicatrici di AIDS (es. linfadenopatia generalizzata persistente [PGL] o risposte indeterminate in presenza di fattori di rischio (es. tossicodipendenza) richiedono test di conferma e di apprendimento.

Lo schema generale del protocollo diagnostico

Il test per lo screening di base dell'infezione da HIV è la ricerca nel siero degli anticorpi anti-HIV mediante test ELISA indiretto o test EIA d'adsorbimento. In questi due saggi immunoenzimatici gli antigeni virali (lisato virale, peptici ricombinanti gag ed env e/o peptici sintetici codificati dal gene env) sono adsorbiti su fase solida (pozzetti di una piastra di microtitolazione o biglie di plastica). Il siero di individui infettati da HIV dopo la sieroconversione contiene anticorpi diretti contro le proteine virali.

Nel test ELISA indiretto:

- il siero da analizzare viene seminato sulla piastra da elisa e lasciato reagire
- gli anticorpi che non si legano agli antigeni virali sono poi lavati via
- vengono aggiunti anticorpi di capra anti-immunoglobuline umane coniugati con un enzima, l'eccesso di anticorpo è lavato via
- è aggiunto un substrato dell'enzima



- il prodotto di reazione colorato che si forma è misurato mediante lettori spettrofotometrici.

Nel EIA DAGS (saggio immunoenzimatico a due passi basato sul principio del sandwich a doppio antigene per la determinazione simultanea di tutte le classi di immunoglobuline):

- il siero da analizzare viene incubato con una biglia rivestita di antigeni ricombinati;
- se il siero del soggetto contiene anticorpi anti-HIV, essi reagiscono con gli antigeni fissati alla biglia;
- dopo l'incubazione il materiale non legato è aspirato e la biglia è lavata;
- le immunoglobuline umane che rimangono legate alla fase solida vengono rilevate incubando il complesso biglia-antigene-anticorpo con una soluzione contenente proteine ricombinanti e peptici sintetici coniugati con l'enzima perossidasi;
- il coniugato enzimatico non legato viene aspirato e le biglie vengono lavate;
- al complesso biglia-antigene-anticorpo-antigene coniugato con l'enzima viene aggiunto un substrato dell'enzima;
- il prodotto di reazione colorato che si forma è misurato mediante lettori spettrofotometrici.

La positività della reazione nel test ELISA indiretto o nel test EIA dags indica la presenza di anticorpi anti-HIV nel siero del soggetto e quindi la sua esposizione al virus.

Tra l'infezione virale e la comparsa di una quantità sufficiente di anticorpi evidenziabili mediante il test ELISA o il test EIA dags intercorre un periodo definito "fase finestra". In genere esso è di sei settimane dall'infezione, ma, raramente, può essere più lungo. Nelle fasi finali della malattia i soggetti con AIDS possono risultare negativi alla ricerca di anticorpi anti-HIV. Infatti la deplezione dei linfociti TH causa l'abbassamento del livello degli anticorpi nel siero. Quindi, nella fase finestra e nella fase finale della malattia, i soggetti con infezione da HIV possono risultare negativi alla ricerca nel siero degli anticorpi anti-HIV mediante test ELISA indiretto o test EIA dags. I sistemi immunoenzimatici (ELISA e EIA dags) attualmente in uso sono quelli di seconda e terza generazione. Essi utilizzano come antigeni virali peptici sintetici da soli o in combinazione con lisato virale e proteine ricombinanti. La ricerca nel siero degli anticorpi anti-HIV viene effettuata sia per l'HIV-1 che per l'HIV-2. Di norma si effettuano due test ELISA o due test EIA dags di screening che utilizzano componenti antigeniche differenti dal virus. Il test di screening può dare tre diverse risposte: risposta positiva, risposta negativa oppure risposte indeterminata. In presenza di un test di screening negativo o indeterminato e di un quadro clinico che suggerisca un'infezione da HIV, si usano come test diagnostici il test ELISA per la determinazione dell'antigene p24, il Western blot e la PCR. Il test di conferma più usato è il Western blot.

Nel Western blot le proteine e le glicoproteine virali sono separate mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide e trasferite su una membrana di nitrocellulosa. Sono commercialmente disponibili Kit che forniscono queste membrane con adesivi per gli antigeni virali.

La membrana di nitrocellulosa viene trattata prima con il siero da analizzare e poi con anticorpi di capra anti-immunoglobuline umane coniugate con un tracciante enzimatico. L'eventuale reazione antigene-anticorpo viene evidenziata mediante l'aggiunta di un substrato cromogeno precipitante. La presenza di bande colorate in corrispondenza delle varie proteine e glicoproteine virali indica la presenza di anticorpi anti-HIV nel siero del soggetto.

Il Western blot viene effettuato sia per l'HIV-1 che per l'HIV-2. Anche questo test può dare tre diverse risposte: risposta positiva, risposta negativa o risposta indeterminata. Attualmente



non esiste un criterio universale per interpretare i risultati del test Western blot. Esistono criteri diversi adottati da enti internazionali.

Criteri per l'interpretazione del Western blot

ASTPHLD: (Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors)/CDC (Centers for Disease Control)

p24 e gp41 o gp120 e gp160

FDA (Food and Drug Administration)

p24 e p31 e gp41 o gp120/160

American Red Cross

almeno tre bande: una per gruppo di prodotti genici (gag, pol e env)

CRSS Consortium for Retrovirus Serology Standardization)

almeno due bande: p24 o p31 e gp41 o gp120/160

WHO (World Health Organization)

almeno due bande env

In caso di indeterminatezza del Western blot si usa la PCR. La Polymerase Chain Reaction è una tecnica sofisticata, rapida e potente che utilizza DNA ricombinante. Essa può essere utilizzata per amplificare un piccolo numero di copie di DNA provirale da una grossa quantità di DNA cellulare. L'identificazione del DNA provirale dell'HIV mediante PCR avviene in tre fasi: separazione e lisi delle cellule mononucleate a partire da sangue intero, amplificazione del DNA provirale e rivelazione dell'amplificato. La PCR richiede che le sequenze del DNA che si trovano all'estremità del DNA provirale siano note, affinché possano essere sintetizzati brevi oligonucleotidi che fungono da primer (innescano). La miscela di DNA cellulare viene estratta e denaturata a singoli filamenti mediante un breve trattamento a caldo. Poi il DNA è raffreddato in presenza di un eccesso di primer oligonucleotidici. Essi ibridizzano con ssDNA complementare. E' quindi aggiunta una DNA polimerasi termostabile (Taq polimerasi) insieme ai quattro desossiribonucleotidi trifosfato. Ciascun filamento è copiato. I due filamenti di DNA appena sintetizzato vengono denaturati a singoli filamenti mediante un brevetrattamento a caldo e il ciclo è ripetuto. In ciascun ciclo la presenza di DNA provirale è duplicata. Quindi, dopo alcuni cicli, la sequenza sarà amplificata moltissime volte (in teoria esponenzialmente), fino a diventare preponderante rispetto a tutte le altre. La resa di ogni singolo passaggio non è del 100 %, ma è fra il 60 e 80 %. In 20-30 cicli la sequenza di DNA provirale può essere amplificata fino a un milione di volte. Sono stati sviluppati vari metodi di rilevazione del prodotto amplificato. Essi utilizzano l'ibridazione dell'amplificato con una sonda specifica adesa su micropiastre e l'evidenziazione dell'ibrido con una reazione enzimatica colorimetrica, il dott-blot oppure l'elettroforesi capillare. Questa tecnica ha evidenziato una infezione da HIV in soggetti che erano risultati negativi all'ELISA indiretto e al Western blot. In caso di indeterminatezza del test di screening, l'infezione può essere diagnosticata, oltre che con il Western blot, rivelando l'antigene p24 attraverso tecniche ELISA.

I test ELISA per la determinazione dell'antigene p24, attualmente disponibili in commercio, si basano sul principio del sandwich. Essi consentono sia un risultato qualitativo (risposta positiva o negativa) che un dosaggio quantitativo dell'antigene. I test ELISA per la determinazione dell'antigene p24 utilizzano anticorpi monoclonali murini adesi su fase solida. A questi anticorpi il siero da analizzare viene aggiunto e lasciato reagire. Se il siero del soggetto contiene gli antigeni p24, essi reagiscono con gli anticorpi immobilizzati. Dopo l'incubazione il materiale non è legato è lavato via. Viene poi aggiunto un secondo anticorpo coniugato con un enzima e specifico per un altro epitomo dell'antigene. Il coniugato



enzimatico non legato è lavato via ed è aggiunto il substrato dell'enzima. Il prodotto di reazione colorato che si forma è misurato mediante lettori spettrofotometrici. I test che utilizzano gli antigeni virali per la diagnosi dell' HIV cambiano periodicamente, in relazione all'enorme variabilità genetica del virus. I nuovi test devono contenere le componenti antigeniche dei nuovi ceppi del virus (per es. il sottotipo 0 dell'HIV-1). I criteri per orientarsi nella scelta fra le varie ditte che producono i test dell'HIV sono dapprima la sensibilità e la specificità del test, poi la rapidità, la possibilità di automazione e il costo del test.

HPL (ORMONE LATTOGENO PLACENTARE)

Campione: 1 ml di siero

Metodo: RIA

Note:

L'HPL (ormone lattogeno placentare) viene prodotto dal sinciziotrofoblasto e immesso quasi esclusivamente nella circolazione materna. Dimostrabile nel siero e nelle urine della gestante a partire dalla sesta settimana, aumenta progressivamente durante la gravidanza e decade rapidamente dopo il parto. L'emivita dell'HPL nel circolo materno è variabile da 10 a 30 minuti; è quindi un importante indice per la valutazione delle funzionalità placentare. Brusche diminuzioni del'HPL sono associate a minaccia di aborto e sofferenza fetale. Livelli aumentati si possono riscontrare nel caso di diabete mellito, eritroblastosi, gravidanze gemellari.

Consigliabile il digiuno nelle 6-8 ore che precedono il prelievo.

IMMUNOGLOBULINE (IGA, IGG, IGM)

Metodo: immunoturbidimetrico

Campione: 1 ml di siero

Tempo di refertazione: 3 gg

Note:

Solo in poche malattie che comportano un aumento policlonale delle Ig, la determinazione quantitativa delle IgA, IgG ed IgM è clinicamente significativa. Infatti, non c'è un tipo specifico di Ig che compaia esclusivamente in una determinata malattia infettiva o malattia autoimmune e che pertanto sia un parametro diagnostico oggettivo.

La determinazione quantitativa delle Ig, in caso di aumento policlonale, è importante nei seguenti casi:

Diagnosi differenziale

- Aumento isolato delle IgM Indica la prima infezione dell'organismo da parte di un agente patogeno.
Nel neonato un aumento delle IgM, riscontrato ad es. nel cordone ombelicale, deve essere interpretato come risultato di un'infezione acquisita in sede intrauterina.
- Aumento isolato delle IgG Nelle infezioni acute, questo quadro indica l'avvenuta infezione dell'organismo da parte di un agente patogeno già noto all'organismo.



- Forte aumento delle IgG con In infezioni croniche provocano prevalentemente l'aumento delle IgM l'aumento isolato delle IgG, le infezioni croniche attive provocano l'aumento delle IgG ed anche delle altre Ig.
- Aumento isolato delle IgA Nelle epatopatie, un aumento isolato o relativamente più intenso delle IgA, indica per lo più danno tossico, come quello causato dall'alcool o dai contraccettivi.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Quadro proteico elettroforetico.

IMMUNODIFFUSIONE RADIALE

Viene richiesta a completamento delle indagini relative ad un'alterazione qualitativa e/o qualitativa delle proteine e riveste particolare importanza nella diagnosi delle ipogammaglobulinemie. Difetta di riproducibilità e, per questo motivo, è stata pressoché completamente sostituita da altre tecniche (nefelometria; vedi Immunoglobuline) nella quantificazione delle proteine sieriche.

IMMUNOFISSAZIONE

Metodo: elettroforesi gel agarosio	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 giorni	

Note:

Consiste nell'applicare sulla banda proteica da esaminare, separata con la tecnica dell'elettroforesi, una striscia di acetato di cellulosa impregnata dell'antisiero specifico, ottenendo una banda di precipitazione che corrisponde all'avvenuta formazione del complesso antigene-anticorpo. E' anch'essa una tecnica qualitativa, di completamento o di rifinitura dell'immuno-elettroforesi, da eseguirsi qualora il risultato di quest'ultima sia dubbio o inaspettatamente negativo (mancata formazione dell'arco di precipitazione per eccesso di antigene o mancata evidenziazione delle catene leggere associate a componente monoclonale IgM).

IMMUNOCOMPLESSI CIRCOLANTI

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Rivestono al momento scarsa importanza per quanto riguarda la diagnosi e la prognosi delle malattie reumatiche, mentre trova un suo valido impiego per il monitoraggio delle malattie connettivistiche ad impronta vasculistica, già diagnosticate ed in trattamento. I complessi Antigene-Anticorpo si possono formare in circolo o nei tessuti. L'anticorpo è in genere, ma non sempre, una immunoglobulina di classe IgG. In condizioni di normalità gli immunocomplessi sono rimossi dal circolo dal SRE; una diminuita capacità di clearance per qualche anomalia del SRE potrebbe spiegare la persistenza in circolo degli IC e



successivamente il loro deposito in vari tessuti (glomeruli, piccoli vasi cutanei, articolazioni) e l'attivazione del Complemento con l'induzione della flogosi. Non tutti gli Immunocomplessi circolanti possono essere evidenziati con le attuali metodiche.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Consigliabile il digiuno per almeno 12 ore prima del test.

INSULINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

L'Insulina è un ormone proteico sintetizzato dalle cellule beta delle isole pancreatiche sotto forma di proinsulina inattiva costituita da due catene polipeptidiche, la A e la B, connesse da un polipeptide (peptide C) dal cui distacco origina l'insulina attiva. La concentrazione dell'insulina può essere elevata in pazienti con insulinoma, acromegalia, nell'obesità, nella sindrome di Cushing e nelle donne che assumono contraccettivi orali. La diagnosi di insulinoma si fonda sull'associazione dell'iperinsulinemia con ipoglicemia. Dopo carico orale di glucosio nei soggetti normali, l'insulina ha un picco dopo 60 minuti; in caso di diabete latente od obesità, il picco si ha dopo 2 ore. E' aumentata inoltre nella gravidanza, nell'ipertiroidismo, nella distrofia mioclonica, nell'intolleranza a fruttosio e galattosio.

La somministrazione di insulina o agenti ipoglicemizzanti orali nelle 8 ore che precedono il test può interferire con i risultati del dosaggio.

Esami collegati: Peptide C, Glicemia, Emoglobina Glicosilata, Fruttosamina.

L.A.C. (LUPUS ANTICOAGULANTE)

Campione: plasma citratato (inviare entro 4 ore o congelare a -20° C)	Metodo: coagulativo
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Gli Anticoagulanti lupici sono inibitori aspecifici non diretti contro i Fattori della coagulazione, ma contro i fosfolipidi a carica negativa. Si tratta di Immunoglobuline che influenzano in vitro i test di coagulazione dipendenti dai fosfolipidi, ad es. PT, APTT e sue varianti) ed il test del veleno di vipera *Russel* diluito (*diluted Russel's Viper Venom Test*, DRVVT). L'aggiunta del plasma normale al plasma del paziente in diverse proporzioni non è in grado di correggere l'allungamento dei tempi di coagulazione di questo test.

Il termine "lupus" suggerisce che questi inibitori siano sempre in relazione con il lupus eritematoso sistemico (SLE); tuttavia questa è una denominazione non del tutto pertinente, in quanto la maggior parte de pazienti con inibitore lupico non sono affetti da LES.

L'anticoagulante lupico può insorgere spontaneamente oppure essere associato a diverse situazioni cliniche, ad esempio malattie autoimmuni, infezioni, malattie neoplastiche o in seguito all'assunzione di determinati farmaci (ad es. procainamide, etc.).

Nonostante l'allungamento dei tempi di coagulazione, nei pazienti con anticoagulante lupico non si verifica insorgenza di emorragie, a meno che non sia contemporanea mente presente un deficit di uno o più fattori della coagulazione. Pertanto l'anticoagulante lupico è stato inizialmente considerato soltanto un artefatto di laboratorio e la sua ricerca una mera curiosità.



Tuttavia l'interesse è nuovamente cresciuto dopo che è stato riconosciuto che questo inibitore poteva essere associato a trombosi venose e arteriose o aborti ripetuti.

Lo screening di laboratorio dell'anticoagulante lupico è reso difficile dalla mancanza di un test specifico e sensibile. Sebbene non esista consenso generale sui criteri diagnostici, è stata recentemente proposta una serie di regole generali per la formulazione di una corretta diagnosi:

- il primo criterio è il prolungamento di almeno uno dei test di coagulazione dipendente dai fosfolipidi;
- il secondo criterio consiste nella dimostrazione che il prolungamento sia effettivamente dovuto alla presenza di un inibitore;
- il terzo criterio nella dimostrazione che l'inibitore sia effettivamente diretto contro i fosfolipidi.

Per soddisfare il primo criterio bisogna disporre di un test di laboratorio dipendente dai fosfolipidi di semplice esecuzione e che consenta una sicura interpretazione dei risultati.

L'APTT è dotato di queste caratteristiche. Il tempo di coagulazione con caolino (*kaolin clotting time*, KCT) rappresenta una variante dell'APTT molto utile per la diagnosi dell'anticoagulante lupico. Il plasma povero di piastrine viene trattato con caolino come attivatore. Dato che questo test non contiene fosfolipidi, esso dovrebbe essere più sensibile dell'APTT alla presenza dell'anticoagulante lupico. Lo svantaggio sostanziale del KCT è rappresentato dalla sua difficile automatizzazione. Il DRVVT è stato invece finora utilizzato con successo nella diagnosi di laboratorio dell'anticoagulante lupico ed il suo impiego è risultato soddisfacente in base ai risultati di numerosi studi. Per soddisfare il secondo criterio bisogna dimostrare che l'anormalità del test della coagulazione è da attribuire alla presenza di un inibitore. Ciò può essere documentato ripetendo il test su una miscela in parti eguali del plasma del paziente e di un plasma normale. Se il tempo di coagulazione della miscela si avvicina a quello del plasma del paziente, l'allungamento del tempo di coagulazione è da attribuire alla presenza di un inibitore. Il test della miscela può essere eseguito con APTT, KCT e DRVVT. Si tratta di una procedura di semplice esecuzione, anche se talvolta i risultati dei test non sono facilmente interpretabili.

Per il terzo criterio bisogna dimostrare che l'inibitore sia diretto contro i fosfolipidi. Questo viene ottenuto mediante un test di conferma. I test di conferma si basano su due principi:

- aumento della concentrazione o cambiamento della conformazione dei fosfolipidi, al fine di attenuare l'effetto dell'anticoagulante;
- diminuzione della concentrazione dei fosfolipidi, al fine di accentuare l'effetto dell'anticoagulante.

Il primo principio viene realizzato con APTT oppure DRVVT con aggiunta di fosfolipidi concentrati oppure piastrine lavate e lisate (procedimento di neutralizzazione con piastrine), il secondo mediante diluizione dell'APTT oppure mediante test di inibizione della tromboplastina tissutale diluita. Qualunque sia il test di screening o di conferma scelto per la diagnosi dell'anticoagulante lupico, si dovrà tenere presente che esiste una notevole eterogeneità di questi inibitori nei diversi pazienti e che pertanto nessun test o reagente è in grado di svelare da solo tutti i pazienti affetti. Inoltre, dato che nessuno dei procedimenti indicati può distinguere con sicurezza fra eparinizzazione e presenza dell'inibitore, è opportuno escludere la presenza di eparina (tempo di trombina) prima dell'esecuzione dei test di screening e di conferma.

Gli anticorpi Lupus Anti-Coagulant (LAC) sono positivi in differenti stati patologici tra cui:



- alcuni stati infiammatori cronici,
- patologie del collagene,
- nel postpartum.

Sono presenti in circa il 10% di pazienti affetti da LES e con frequenza ancora maggiore in pazienti con altri processi autoimmuni e con positività degli anticorpi antinucleo.

Le terapie con fenotiazine può provocare positivizzazione dei LAC.

Non eseguire il dosaggio durante terapia estro-progestinica.

Campione: plasma anticoagulato con Citrato di sodio (bisogna centrifugare più volte il plasma e filtrarlo per eliminare completamente le piastrine).

Non possono essere testati campioni emolizzati o con rapporto fra sangue ed anticoagulante non rispettato. Non possono essere usati campioni prelevati da cateteri venosi.

Si consiglia il digiuno da almeno 12 ore.

Esami collegati: PT, aPTT, Anticorpi Anti-Cardiolipina IgG e IgM, Anticorpi anti-nucleo, anti-DNA, VDRL.

LDH (LATTATO DEIDROGENASI)

Metodo: UV/NADH	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

L'LDH è virtualmente ubiquitaria. Essa catalizza la conversione reversibile del Lattato a Piruvato. E' un tetramero che contiene 4 subunità di 2 possibili tipi molecolari diversi: *la subunità M* (da muscle di 34.000 D) e *la subunità H* (da Heart di 34.000 D).

Le 2 subunità sono codificate da differenti geni e danno origine a differenti isoenzimi (5) che forniscono all'LDH un elemento di specificità tessutale. La clearance dell'LDH è eseguita dal SRE.

Tecniche di misurazione

L'attività totale dell'LDH del siero può essere determinata sia utilizzando il lattato che il piruvato e questo può condurre a differenze di standardizzazione nei vari laboratori. Attualmente tende a diffondersi l'impiego della reazione LD-L (che usa il lattato come substrato).

Per distinguere gli isoenzimi possono venire utilizzate diverse tecniche:

- alcune sfruttano la differenza di termostabilità (LD5 è termolabile, LD1 è termoresistente);
- il metodo più usato è l'elettroforesi: data la differente carica esistente tra le subunità H ed M, a migrazione avvenuta, LD1 è l'isoenzima più vicino all'anodo, mentre LD5 è il più vicino al catodo.

Molta cura deve essere usata per evitare l'emolisi, che aumenterà marcatamente i livelli dell'LDH. Gli isoenzimi dell'LDH (specie quelli ricchi in subunità M) sono inattivati quando tenuti a bassa temperatura o congelati, mentre sono stabili a temperatura ambiente per giorni.

Applicazioni diagnostiche

L'attività latticodeidrogenasica totale del siero risulta elevata in ogni patologia dove sia presente *danno o morte cellulare*. Anche se questa mancanza di specificità può costituire uno



svantaggio per l'identificazione dell'organo interessato, il dosaggio dell'LDH costituisce un indicatore sensibile dell'esistenza di qualche processo patologico.

Diagnosi di IMA

L'LDH plasmatico è aumentato oltre il limite di riferimento da 8 a 12 ore dopo l'inizio dell'IMA con un picco fra la 28^a e 48^a ora. L'LDH dopo IMA si normalizza dopo 10 giorni.

Nel plasma umano LDH-2 è presente in grande abbondanza rispetto all'LDH-1.

Il rapporto LDH1 / LDH2 è normalmente inferiore a 0.76. Quando si ha necrosi miocardica, viene rilasciato più LDH1 che LDH2 e la percentuale dell'LDH1 rispetto all'LDH2 aumenta.

Processi associati con aumento del rapporto LDH1/LDH2 in assenza di IMA

Vi sono altre possibili cause che possono alterare questo rapporto oltre l'IMA:

- gli eritrociti hanno un abbondante riserva di LDH1 ed LDH2 ed un'emolisi intra- o extravascolare potrà aumentare i livelli di LDH1 ed LDH2;
- in pazienti con malattie muscolari croniche o danno muscolare ricorrente, l'LDH1 ed LDH2 sono riespressi nei muscoli scheletrici con conseguente rilascio in circolo;
- un elevato rapporto LDH1/LDH2 può aversi anche in atleti sani e ben allenati;
- altre cause di anormalità del rapporto LDH1/LDH2 comprendono tumori germinali (seminoma testicolare o disgerminoma) e malattie del pancreas, dello stomaco e del rene.

Steroidi anabolizzanti, anestetici, aspirina, alcool, narcotici, clofibrati possono elevare i livelli ematici dell'LDH.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante)

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

I farmaci interferenti devono essere sospesi almeno 24 ore prima del prelievo.

Esami collegati: Monotest (VCA), Emocromo, Transaminasi, CK, CKMB.

LDL-COLESTEROLO

Metodo: enzimatico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Colesterolo LDL è la frazione del colesterolo legata alle proteine a bassa densità (low-density proteins).

Valutazione: nella maggior parte degli individui con ipercolesterolemia grave (> 250 mg/dL), si ha un aumento del colesterolo LDL, mentre solo in un piccolo numero di individui è aumentato l'HDL. A differenza di questi ultimi, i primi sono esposti al rischio di una cardiopatia coronarica. Il colesterolo LDL in questi casi serve per una valutazione del rischio.

I portatori di gravi fattori di rischio (ipertensione, diabete, fumo, età giovanile, colesterolo HDL < 35 mg/dL) devono avere un colesterolo LDL <135 mg/dL.

Prima del prelievo è opportuno osservare una dieta equilibrata per due settimane. Evitare di ingerire alcool 24 ore prima del test. Digiuno di almeno 12 ore prima del prelievo.

Campione: siero o plasma anticoagulato con eparina o EDTA

Esami collegati: Colesterolo, Trigliceridi, Colesterolo HDL, Apolipoproteine, Lipidogramma.



LEISHMANIA

La Leishmaniosi, ed in particolare la Leishmaniosi viscerale, rappresenta un problema sanitario emergente in molti paesi che si affacciano sul Mediterraneo.

Due fattori hanno contribuito all'aumento delle diagnosi di Leishmaniosi in Italia:

- l'attuazione di programmi di sorveglianza molto attiva in alcune regioni endemiche italiane;
- il fenomeno delle co-infezioni HIV-Leishmania.

Attualmente, vengono proposti per la Leishmaniosi viscerale i seguenti schemi diagnostici:

Per i soggetti HIV negativi (o senza evidenza di immunodeficienza):

- sierologia specifica (in caso di negatività si può escludere la Leishmaniosi Viscerale)
- dimostrazione del parassita mediante microscopia o coltura (in caso di sierologia positiva)

Per i soggetti HIV positivi o comunque profondamente immunodepressi:

- dimostrazione del parassita mediante microscopia o coltura.

SIEROLOGIA: tra le tecniche sierologiche specifiche, il "golden standard" rimane l'Immunofluorescenza Indiretta.

Il titolo soglia di una Leishmaniosi Viscerale non trattata è di 1:160, ma negli ammalati si ritrovano spesso titoli tra 1:280 e 1:10240.

Nei soggetti HIV positivi con Leishmaniosi Viscerale la sensibilità del test è molto limitata: circa il 40% ha una Immunofluorescenza Indiretta negativa.

La specificità del test è invece molto alta (98%) sia in soggetti HIV negativi che positivi.

Falsi positivi, con titoli fra 1:80 e 1:320, possono aversi in soggetti con ipergammaglobulinemia.

A causa della tossicità dei farmaci anti-Leishmania non può essere usato il criterio *ex-juvantibus* e quindi è sempre necessaria la dimostrazione del parassita in caso di positività della sierologia.

DIMOSTRAZIONE del PARASSITA: La tecnica di elezione è quella dello striscio di materiale su vetrino e colorazione con Giemsa.

In ordine di sensibilità, gli organi da cui effettuare il prelievo mediante agoaspirato in soggetti HIV negativi sono:

- milza
- midollo osseo
- fegato
- linfonodi profondi

Con questa tecnica è possibile mettere in evidenza le forme amastigote della Leishmania intracellulare o extracellulari.

La sensibilità di uno striscio midollare in una Leishmaniosi Viscerale non trattata (3 preparati osservati per 1 ora) varia dall'80% al 95% in rapporto all'esperienza dell'osservatore.

Una volta effettuato un aspirato può essere utile associare allo striscio la coltura in terreno agar-sangue.

Nei soggetti HIV positivi il riscontro di Leishmanie nel sangue periferico è molto frequente.

**LH**

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

L'LH (ormone luteotropo) è una glicoproteina costituita da due subunità, la alfa e la beta. La catena beta conferisce la specificità immunologica all'ormone anche se esiste una similarità strutturale con la catena beta della gonadotropina corionica. Viene prodotto dalle cellule basofile del lobo anteriore dell' ipofisi, sotto il controllo pulsatile dell'ormone ipotalamico GnRH.

L' attività delle ghiandole ipotalamica ed ipofisaria è regolata a sua volta, dal livello degli steroidi gonadici circolanti. Nel ciclo riproduttivo normale questo ormone ha un andamento caratteristico, il cui elemento più evidente è un picco con

- livelli ematici generalmente superiori a 40 mU/mL, che segue di 14-24 ore quello degli estrogeni;
- precede di 12-16 ore l'ovulazione;
- l'inizio del picco precede l'ovulazione di 32-36 ore.

Nell'uomo agisce come stimolo per la spermatogenesi e la produzione di testosterone.

Nell'uomo l'aumento è dovuto ad ipogonadismo primitivo:

- con cariotipo normale (da castrazione, postorchitico, da irradiazione, agenesia testicolare, aplasia germinale)
- e con cariotipo anormale (sindrome di Klinefelter, sindrome di Turner maschile).

E' diminuito nell'ipogonadismo ipotalamo-ipofisario.

Nella donna è aumentato per insufficienza ovarica primitiva congenita (sindrome di Turner, sindrome di Morris) e acquisita (cisti, malattia policistica, neoplasie, irradiazione).

E' diminuito nell'insufficienza ovarica secondaria a malattie ipofisarie, alterazioni neuroipotalamiche e malattie sistemiche.

La somministrazione di androgeni ed estrogeni determina una diminuzione dei livelli di LH.

In caso di disturbi mestruali trattati con estro-progestinici è consigliabile eseguire il monitoraggio mensile dell'LH, dopo interruzione, il mese successivo al primo flusso spontaneo.

Tutti i farmaci che possono interferire con i livelli di LH debbono essere sospesi 48 ore prima del test.

Determinazione dell'LH e FSH dopo somministrazione di GnRH

La capacità secretoria dell'ipofisi per LH ed FSH può essere valutata mediante somministrazione di GnRH sintetico. Il GnRH stimola direttamente le cellule gonadotrope dell'adenoipofisi e fa secernere LH ed FSH.

Ci si attenderebbe che la determinazione di LH e FSH, successive alla somministrazione di GnRH, permettano di distinguere le lesioni ipotalamiche da quelle ipofisarie, ma ciò non è vero in tutti i casi. Il test viene eseguito somministrando 100 µg di GnRH per via E.V. e raccogliendo i campioni a tempi stabiliti di -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 180 minuti.

In genere la risposta normale si ha quando c'è un aumento da 2 a 5 volte rispetto ai valori basali di LH e circa 2 volte quello dell'FSH.

Nelle donne si ha una risposta deficitaria nei casi di amenorrea primaria.



Risposte esagerate si hanno in donne con lieve deficit estrogenico prevalentemente con ipo-oligomenorrea e con amenorrea secondaria di breve durata

I maschi con lesioni distruttive dell'ipofisi e quelli con ipogonadismo di lunga durata dovuto a disordini ipotalamici, possono avere un test al GnRH negativo.

Tuttavia, se il fattore rilasciante è somministrato mediante iniezioni ripetute o con una pompa ad infusione per 7-14 giorni in maniera pulsatile, i soggetti con lesioni ipotalamiche possono presentare una ricomparsa della risposta.

Nei soggetti con deficit ipofisario la risposta è negativa.

I soggetti con insufficienza primaria testicolare potranno rispondere con un aumento esagerato di LH ed FSH. Se è presente solo un danno dei tubuli seminiferi si avrà una risposta anomala di FSH e normale risposta di LH.

Test al clomifene

Il clomifene citrato blocca i recettori per gli estrogeni e porta di conseguenza ad ipersecrezione di GnRH e gonadotropine.

La comparsa di un normale ciclo mestruale dopo circa 12 giorni dalla somministrazione di clomifene o la presenza di segni di una avvenuta ovulazione, indicano risposta positiva al test. Viceversa, il mancato aumento dell'LH dopo 5-10 giorni dalla somministrazione di clomifene, con un normale test al GnRH, indica una lesione ipotalamica.

Campione: le tecniche di dosaggio a disposizione (RIA, EIA, ecc.) sono precise ed affidabili sia per misure sul sangue che sulle urine (ma si dovrebbe preferire dosare l'LH sulle urine delle 24 ore per evitare alla donna di doversi sottoporre a prelievi ripetuti di sangue e per attenuare gli effetti della pulsilità della secrezione ipofisaria e la conseguente variabilità dei livelli plasmatici.)

Esami collegati: FSH, 17-beta-Estradiolo, Progesterone, Prolattina, Testosterone, Deas, Androstenedione, DHT, Liquido Seminale.

LIPASI

Metodo: enzimatico	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Si tratta di un gruppo di enzimi che catalizza la scissione dei trigliceridi della dieta in acidi grassi e glicerolo. Le Lipasi sono di origine esclusivamente pancreatica e quindi un loro aumento nel siero è altamente indicativo di patologia pancreatica. I livelli più elevati vengono riscontrati in caso di Pancreatite Acuta.

Si possono avere modesti aumenti in caso:

- di carcinoma pancreatico
- di ascesso o pseudocisti pancreatica
- di ostruzione delle vie biliari
- di ingestione di farmaci tossici per il pancreas
- di infiammazione della cavità addominale

La lipasi non viene eliminata con le urine e quindi presenta il vantaggio di rimanere a livelli elevati anche dopo che l'amilasi si è normalizzata.



La somministrazione di morfina e di agenti colinergici, che fanno contrarre lo sfintere di Oddi, produce un innalzamento dei livelli sierici di amilasi e lipasi.

Non è un test semplice da eseguire in quanto i suoi substrati sono di natura lipidica e quindi insolubili nelle miscele acquose.

Esami collegati: Amilasi, Bilirubinemia.

LIQUIDO SEMINALE

Metodo: osservazione al microscopio	Campione: liquido seminale
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

L'esame del liquido seminale, troppo spesso in passato sottovalutato ed erroneamente ritenuto da molti di estrema semplicità, si rivela un'indagine molto delicata che richiede un'adeguata standardizzazione e una buona esperienza personale dell'esaminatore per poter risultare di ausilio al Clinico nella diagnosi delle varie forme di infertilità maschile. La valutazione di base del liquido seminale dovrà comprendere non solo l'esame clinico-fisico e microscopico, ma anche l'analisi dei principali caratteri biochimici dell'eiaculato, per alcuni dei quali si può parlare ormai di veri e propri markers.

Raccolta del campione

Per ottenere un'analisi affidabile è necessario che la raccolta dell'eiaculato venga il più possibile standardizzata. In questo senso è opportuno che il paziente venga informato sull'esatta modalità di raccolta del campione. Sarà utile che il Laboratorio fornisca, al momento del ritiro del contenitore sterile per la raccolta, un breve schema con le indicazioni per il paziente, raccomandando sempre l'invio di almeno tre campioni successivi per ottenere un risultato veramente affidabile e definitivo. Sarà utile raccogliere, inoltre, una breve anamnesi del paziente.

Indicazioni per la raccolta del campione

- osservare un periodo di astinenza sessuale da 3 a 5 gg
- non effettuare la raccolta mediante uso di Condom o mediante "coitus interruptus"
- usare per la raccolta il contenitore fornito dal Laboratorio
- mantenere il campione a temperatura ambiente durante il trasporto
- consegnare il campione entro trenta minuti dall'emissione

Molti sono i fattori che possono interferire con una raccolta corretta del campione di liquido seminale:

- farmaci,
- sostanze spermicide,
- contaminazione microbica,
- salivare,
- lubrificanti,
- raccolta impropria del campione.

Metodo di analisi

L'esame del liquido seminale comprende l'analisi delle caratteristiche fisico-chimiche e microscopiche dell'eiaculato e lo studio dei principali componenti biochimici del plasma seminale. E' utile, anche se superfluo, precisare che l'eiaculato è costituito da una parte



corpuscolata, gli spermatozoi, ed una parte liquida, il plasma seminale, alla cui composizione contribuiscono le varie strutture afferenti all'apparato genitale maschile.

Esame chimico-fisico

Costituisce la prima fase dell'analisi del liquido seminale e comprende l'esame di parametri importanti, in quanto l'alterazione di uno solo di essi può comportare una riduzione del potere fecondante del seme. Il volume dovrà essere compreso tra le 5 ml: si parla di ipospermia se il volume è inferiore a 1 ml e iperspermia se superiore a 5 ml.

Il periodo di astinenza influisce sul volume; se troppo breve potremo avere una sua riduzione, se troppo prolungato potremo avere un suo aumento.

Il colore è normalmente bianco-grigio: un colore tendente al giallo può essere indice di flogosi (piospermia); un colore rosato può indicare presenza di sangue (emospermia).

Anche il pH e l'aspetto possono essere indicativi di fenomeni flogistici: un pH maggiore di 8 è suggestivo di una possibile flogosi; una diminuzione del pH può invece indicare una ostruzione dei dotti eiaculatori con prevalenza di secreto prostatico acido.

Il coagulo e la sua liquefazione rivestono un ruolo importante nella diagnostica seminale; normalmente il processo di coagulazione avviene immediatamente dopo l'emissione, per azione di un substrato di origine vescicolare (fibrina seminale).

In condizioni normali si ottiene una completa liquefazione in 20-30 minuti ad opera di un processo proteolitico dovuto alla Seminina di origine prostatica e dell'attività fibrinolitica prodotta da 2 attivatori del plasminogeno presenti nel plasma seminale.

La mancata presenza del coagulo può essere indicativa di una agenesia delle Vescichette Seminali o di ostruzione dei Dotti Eiaculatori; la mancata liquefazione è indicativa di una ridotta attività prostatica. Anche la viscosità, se alterata, potrà far sospettare una patologia prostatica.

Esame microscopico

L'esame microscopico comprende tre fasi: il conteggio degli Spermatozoi, la valutazione della loro mobilità, vitalità e sopravvivenza e il Morfocitogramma.

Prima fase dell'esame microscopico è il conteggio dei nemaspermi:

la concentrazione nemaspermica viene comunemente valutata mediante conta in camera di Thoma-Zeiss dopo diluizione 1:20 con una soluzione immobilizzante gli Spermatozoi (soluzione fisiologica lievemente acidificata); viene espressa rispetto al mmc o in ml.

I limiti entro i quali possiamo parlare di "normalità" sono compresi tra 20 milioni/ml e 200 milioni/ml; al disotto di tali limiti si parla di oligozoospermia, al di sopra si parla di polizoospermia (è necessario sempre distinguere la vera polizoospermia dalla falsa, dovuta ad aumentata concentrazione cellulare da carenza di plasma seminale).

Quello che noi andiamo a valutare con il conteggio dei nemaspermi è un range entro il quale le possibilità di ottenere il concepimento sono massime; peraltro, da diversi Autori è dimostrato che si possono avere gravidanze anche con meno di 10 milioni/ml e talora anche con un solo milione/ml.

Un altro parametro che va correttamente valutato nell'esame del liquido seminale è l'indice di mobilità e il grado di sopravvivenza che noi valutiamo a un'ora e a due ore dall'emissione. La motilità viene analizzata mediante osservazione al microscopio ottico di una goccia di sperma tra vetrino portaoggetto e coprioggetto; viene normalmente valutata la percentuale di Spermatozoi mobili e la qualità del loro movimento.



Si può definire normale un campione in cui almeno il 60% degli Spermatozoi sia mobile e almeno il 70% abbia movimenti progressivi.

Dopo due ore dall'emissione dovrà essere mantenuta una percentuale di forme mobili non inferiore al 60%. Andrà inoltre valutata la vitalità degli Spermatozoi, in quanto non sempre le cellule vitali sono mobili.

Se la motilità totale di un eiaculato è inferiore al 40% possiamo differenziare l'acinetospermia dalla necrospermia vera mediante l'uso dell'Eosina Test: l'Eosina in soluzione acquosa allo 0,5% colora, infatti, i nemaspermi non vitali, che hanno perduto l'integrità anatomico-funzionale della membrana cellulare.

Morfocitogramma

Consiste nell'analisi delle caratteristiche delle cellule della spermatogenesi e di eventuali altri elementi presenti nell'eiaculato (Leucociti, Emazie, cellule di sfaldamento).

Per l'analisi degli elementi figurati si usa la colorazione di May-Grunwald-Giemsa.

Si usa una semplice classificazione che comprende forme tipiche ed eventuali variazioni fisiologiche, forme atipiche o degenerative e inoltre, se presenti, vengono evidenziate le percentuali delle cellule della linea spermatogenetica (Spermatogoni, Spermatoцитi, Spermatoидi) solitamente non superiori al 5% degli Spermatozoi maturi.

Le più frequenti anomalie nemaspermiche

<i>Anomalie della testa:</i>	macrocefali microcefali testa tonda acefali profilo irregolare della testa
<i>Anomalie del tratto intermedio:</i>	deconnessione testa-flagello angolati immaturi
<i>Anomalie del flagello:</i>	flagello avvolto flagello corto
<i>Altre:</i>	testa duplice flagello duplice forme multiple forme in lisi

Recenti indagini hanno dimostrato che la presenza anche del 50% di spermatozoi atipici non necessariamente compromette la fertilità.

Test biochimici e Immunologici

I più comuni markers biochimici determinabili nel plasma seminale

<i>Prostata:</i>	Acido Citrico Zinco Fosfatasi Acida γ -GT
<i>Epididimo:</i>	Carnitina Glicerofosforilcolina Maltasi



V. seminali: Fruttosio
C. del Sertoli: Trsferrina

Ognuno di questi elementi ha un sito prevalente di produzione; la modificazione della sua concentrazione può essere indicativa dell'alterazione funzionale di uno degli organi annessi all'apparato genitale. L'acido citrico, androgeno-dipendente, e lo zinco rappresentano i markers più comuni della secrezione e funzionalità prostatica; l'acido citrico ha un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'equilibrio osmotico del seme, e la sua determinazione è particolarmente utile come supporto nella diagnosi di infezioni delle vie seminali. Lo zinco è importante nella regolazione della spermatogenesi e dei processi che rendono lo spermatozoo in grado di fecondare. La carnitina è coinvolta nel metabolismo energetico dello spermatozoo: è indice di funzione epididimaria in quanto è a questo livello che essa viene assorbita dal sangue e concentrata, per poi essere utilizzata. I markers epididimari hanno, peraltro, perso una parte del loro significato clinico in quanto è stato accertato che una loro riduzione non dimostra la presenza di fenomeni ostruttivi come si riteneva in passato.

Il fruttosio è prodotto dalle vescicole seminali e utilizzato come marker della loro funzionalità; ha un ruolo fondamentale nel metabolismo energetico dei nemaspermi; è assente nell'agenesia delle vescicole seminali e nella ostruzione dei dotti eiaculatori. La transferrina è secreta nel lume tubulare dalle cellule del Sertoli: sembra partecipi alla sintesi di enzimi respiratori nelle cellule germinali; negli ultimi tempi sta perdendo l'importanza che le si era attribuita nella diagnosi differenziale tra azoospermia ostruttiva e di origine tubulare.

Altre indagini sono ormai entrate nell'uso comune della diagnosi di infertilità maschile; ci limiteremo a dire che è importante valutare, quando necessario, alla luce del sempre maggiore coinvolgimento di fenomeni immunologici nelle cause di infertilità maschile, la presenza di anticorpi anti-spermatozoi sia su eiaculato (M.A.R.TEST) sia su siero (metodo ELISA o IFI).

Il problema maggiore rimane quello della standardizzazione del metodo di analisi.

Esami collegati: LH, FSH, Testosterone.

LIQUIDO SINOVIALE

Il liquido sinoviale è un ultrafiltrato plasmatico che presenta in condizioni normali la stessa concentrazione plasmatica degli elettroliti e delle sostanze a basso peso molecolare; non contiene proteine ad alto peso molecolare derivate dal plasma (in particolare fibrinogeno e IgM), ma in compenso possiede l'acido ialuronico prodotto dai sinoviociti che conferisce al liquido la sua particolare viscosità; presenta infine una scarsa cellularità composta quasi esclusivamente da monociti in numero inferiore a 200/mmc.

Lo studio del liquido sinoviale si avvale dei seguenti esami:

- esame macroscopico: *il colore, la trasparenza, la viscosità, il volume;*
- esame microscopico: *la conta delle cellule, la presenza di eventuali cristalli o di batteri;*
- esame biochimico: *ricerca di particolari enzimi, dosaggio del glucosio del lattato, valutazione del pH;*
- esami immunocitologici: *ricerca dei ragociti, fattore reumatoide;*
- test immunologici: *ricerca del complemento ecc..*

Dopo il prelievo si annoterà il volume, il colore, la trasparenza, la viscosità e la coagulabilità:

- il colore: normalmente giallo paglierino, può presentarsi giallo o giallo-verde nei processi flogistici, emorragico (traumi, neoplasie, disordini della coagulazione), purulento (artriti settiche);



- la trasparenza: normalmente presente scompare in maniera più o meno completa in relazione alla gravità del processo infiammatorio o settico;
- la viscosità: normalmente si forma un lungo filamento quando il liquido gocciola dalla siringa. La bassa viscosità che si apprezza nei processi flogistici è dovuta alla diminuzione del contenuto di acido ialuronico e alla sua depolimerizzazione. Può essere valutata in maniera quantitativa con il test del coagulo mucinico: aggiungendo acido acetico al liquido sinoviale, si forma, in condizioni di normalità un coagulo solido; in caso di liquido sinoviale flogistico il coagulo è invece friabile.
- la coagulabilità: il liquido sinoviale, che normalmente non coagula, può farlo nelle artropatie infiammatorie, per la presenza di fattori responsabili della coagulazione quali fibrinogeno, protrombina o altri normalmente assenti.

Viene inviato al laboratorio in tre provette:

- una contenente EDTA per la conta delle cellule;
- una sterile per l'esame microscopico e colturale;
- una per l'esame a fresco e al microscopio a luce polarizzata per la ricerca di cristalli.

Il numero di globuli bianchi che normalmente è minore di 200/mmc, aumenta a più di 5.000/mmc nelle spondiloartriti sieronegative, fino a 10.000 nell'AR e nelle artriti microcristalline ed oltre 50.000 nelle forme settiche. La neutrofilia è caratteristica dei processi infiammatori. Una certa eosinofilia è presente nei versamenti tumorali, mentre una monocitosi può essere espressione di una infezione virale.

Al microscopio a luce polarizzata si possono dimostrare diversi tipi di cristalli:

- di urato nella gotta,
- di pirofosfato di calcio diidrato nella condrocalcinosi,
- di idrossiapatite nell'osteoartrosi,
- di colesterolo nel liquido sinoviale di AR,
- di ossalato di calcio
- di frammenti metallici dopo artroplastica protesica,
- di esteri di corticosteroidi dopo infiltrazioni intra-articolari.

I cristalli di urato sono aghiformi e mostrano birifrangenza fortemente negativa (colore blu se ortogonali al piano del compensatore rosso di primo ordine); i cristalli di pirofosfato hanno estremità squadrate e presentano birifrangenza debolmente positiva (blu se paralleli al piano del compensatore). I cristalli di idrossiapatite sono scarsamente birifrangenti e vengono meglio identificati con il rosso di Alizarina che li mostra come aggregati amorfi di materiale rosso. I cristalli di colesterolo sono fortemente birifrangenti e presentano forma rettangolare con un angolo ritagliato. Nei liquidi infetti aumenta il contenuto proteico, mentre diminuisce il contenuto di glucosio. Nei liquidi settici aumenta anche la concentrazione dell'acido lattico. Nell'AR si ha aumento degli enzimi comprese le idrolasi (acetilglucosaminasi e fosfatasi acide) e le 5-nucleotidasi. L'aumento della fosfatasi acida del liquido rispetto a quello sierico è espressione di un processo infiammatorio e non artrosico.

I livelli del complemento sono bassi nell'AR ed elevati nella malattia di Reiter.

La titolazione del fattore reumatoide sul liquido sinoviale è parallela a quella del siero in pazienti affetti da AR, tuttavia ci può essere un'elevata incidenza di positività su pazienti non affetti da AR. Si possono infine trovare nell'AR le cosiddette RA cells, ossia neutrofilii contenenti fattore reumatoide, particelle proteiche ed enzimi liberati dai lisosomi.

**LIQUOR (CSF)**

Intervalli di riferimento

Colore	Aspetto	Proteine (g/L)	Glucosio mmol/L	cellule
Acqua di rocca	Limpido	neonati: 0.4-1.2 < 1 mese: 0.2-0.8 >1 mese: 0.1-0.4 Adulti: 0.08-0.3	bambini: 3.4-4.4 Adulti: 2.2-3.9 Adulti: 0-5	Prevalentemente mononucleati < 1 anno: 0-30 1-4 anni: 0-20 5-15 anni: 0-10

La quota di secrezione è:

0,35 ml/minuto oppure 500 ml al giorno.

L'intero liquido cerebrospinale è rinnovato entro 5-7 ore.

Il sodio ed il cloro sono attivamente trasportate nel liquido cerebrospinale da parte delle cellule del corion. Il 99% del liquido cerebrospinale è acqua (il plasma è composto da acqua per il 93%). L'osmolarità è praticamente identica, benché la concentrazione individuale di alcuni elettroliti possa essere alquanto differente. Le proteine sono trasportate nel liquido cerebrospinale sia mediante pinocitosi che mediante speciali meccanismi di trasporto.

In condizioni normali la barriera fra sangue e liquido cerebrospinale è chiusa alla filtrazione passiva delle proteine. L'82% delle proteine originano dal siero.

Il 18% delle proteine sono prodotte a livello locale.

Livelli di riferimento delle proteine specifiche del liquido cerebrospinale:

(queste incidono solo per l'1-2% delle proteine del CSF)

- tracce di proteine beta: (MW 23.000) circa 33 mg/L
- prealbumina: (MW 61.000) circa 17 mg/L
- t-proteine (beta-trasferrina): (MW 81.000) circa 6 mg/L

Le proteine del liquor cerebrospinale sono quelle che rimangono nel liquor in seguito alla formazione del liquor stesso per ultrafiltrazione del plasma dalla parete capillare della coroide. Alcune proteine che sono peculiari del CSF sono sintetizzate nel SNC.

In genere malattie che interrompono la integrità della barriera endoteliale capillare portano ad un aumento delle proteine del CSF.

Le proteine del CSF sono generalmente aumentate in:

- tutti i tipi di meningiti;
- infarto cerebrale;
- ascesso cerebrale;
- sifilide meningovascolare;
- emorragia subaracnoidea;
- alcuni tumori cerebrali;
- traumi cerebrali;
- alcuni casi di sclerosi multipla;
- encefalo mieliti;
- malattie neurologiche degenerative.



Le proteine del CSF possono essere diminuite in:

- intossicazione idrica
- ipertiroidismo
- filtrazione del CSF (CSF rinorea o otorrea)

Non possono essere usati campioni raccolti su EDTA.

Il destrano a 500 mg/dL ha mostrato un bias positivo sul normale livello delle proteine.

La metrizamide ha mostrato invece un bias negativo. L'acido ascorbico a 3 mg/dL ha mostrato un bias positivo. L'acido acetilsalicilico (ASA) a 3 mg/dL ha mostrato un bias positivo.

Il mannitolo ha mostrato un bias positivo. Nei campioni emolizzati, l'Hb presente nel CSF può portare ad un aumento delle proteine misurate.

Comparazione di alcuni valori di riferimento

analita	unità di misura	CSF	siero
Sodio	mmol/L	125-150	125-150
Potassio	mmol/L	2.6-3.6	3.5-5.5
Osmolarità	mosmol/Kg	306	280-296
Cloro	mmol/L	110-129	95-110
Glucosio	mg/dL	40-60	50-110
Lattato	mmol/L	1.4-1.8	2.2
Proteine totali	gr/L	0.150-0.450	60.0-80.0
Creatinina	mg/dL	1.2	0.5-1.2

ANALISI DEL GLUCOSIO

Valore di riferimento:

< 60 mg/dL (o in alternativa il 50-66% dei livelli sierici).

Il rapporto fra *glucosio del CSF/glucosio del siero*:

< 0.4 discrimina fra una meningite batterica ed una meningite asettica con:

SENSIBILITA' dell'80%

SPECIFICITA' del 98%

IN CASO DI DIABETE MELLITO: bisogna far passare 4 ore affinché venga raggiunto un equilibrio fra sangue e CSF.

In pazienti che mostrano elevati livelli di glucosio, una eterminata isolata del glucosio nel CSF non è rilevante.

Usare in questi casi, in alternativa, il rapporto fra glucosio del CSF e glucosio sierico.

- durante i primi mesi di vita non c'è una stretta relazione fra livelli del glucosio nel CSF e glucosio sierico.
- pertanto è molto difficile interpretare i livelli di glucosio nel CSF dei neonati.

Parametri di minor significato

Lattato: di significato simile a quello del glucosio.

LDH: di significato simile al glucosio; falsamente positivo in caso di emolisi.

PCR: di scarsa sensibilità; dipendente fortemente dalle reazioni organiche complessive.



Citochinine: fortemente dipendenti dalle reazioni organiche complessive;
costose e con tempi di analisi molto lunghi;
non utilizzabili in urgenza;
scarsamente standardizzate.

Beta-glucuronidasi: questi parametri non hanno dimostrato sufficiente isoenzimi del CK
sensibilità e specificità per l'applicazione clinica enolasi neurone-
specifici in singoli pazienti.
isomerasi della glucosio-6-fosfatasi

Valori di riferimento per gli adulti delle più importanti frazioni proteiche del
siero e del liquido cerebrospinale:

analita	unità di misura	siero	CSF
IgG	g/L	8,0-17,0	0,04
IgA	g/L	0,85-4,5	0,004
IgM	g/L	0,6-3,7	0,001
Kappa	g/L	2,0-4,4	non specificato
Lambda	g/L	1,1-2,4	non specificato
Albumina	g/L	35,0-55,0	0,1-0,3

Alcuni importanti parametri per la diagnosi differenziale fra CSF e secrezione
nasale:

analita	unità di misura	CSF	Secrez. Nasale
Glucosio	mg/dL	49-75	10
Proteine Totali	g/L	0.2-0.4	3.0-40
Sodio	mmol/L	3.0	17.0

POLYMERASE CHAIN REACTION

- è l'ideale per la diagnosi precoce delle encefaliti da Herpes-Virus (per la definitiva diagnosi clinica bisogna misurare gli specifici anticorpi intratecali (non prima di 10 giorni dall'inizio della malattia o anche più tardi);
- è usata per la diagnosi di infezione da virus della varicella-zoster;
- è abbastanza usata per la diagnosi rapida dell'infezione da micobattere tubercolare (fare attenzione ai frequenti risultati falsi positivi);
- rimane da stabilire l'utilità per la diagnosi di infezione da Borrelia Burgdorferi (al momento la misura degli specifici anticorpi nel siero e nel CSF è superiore).

LITIO

Metodo: potenziometria diretta

Campione: 1 ml di siero

Tempo di refertazione: 2 gg

Note:



Il Litio carbonato è utilizzato come agente psicoattivo nella terapia dei disturbi maniaco-depressivi. La terapia con litio va monitorizzata giornalmente fino al momento in cui non si stabilisce la corretta dose. I livelli di litio si riducono di circa la metà ogni giorno senza terapia. I segni di tossicità sono preceduti da sintomi quali letargia, secchezza delle fauci, tremore, dolori muscolari, disartria, anoressia, vomito, diarrea. La somministrazione cronica di litio può avere un effetto gozzigeno.

La tossicità da litio può avvenire anche in presenza di livelli sierici normali. Farmaci tiazidici possono causare un significativo aumento dei livelli di litio.

Il prelievo deve essere eseguito a digiuno da 12 ore.

MAGNESIO

MAGNESIO EMATICO

Metodo: colorimetrico clorofosfonazo III	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma eparinato)
Tempo di refertazione: 12 gg	

MAGNESIO URINARIO

Metodo: colorimetrico clorofosfonazo III	Campione: 10 ml di urine delle 24 ore (indicare la diuresi)
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Il Magnesio viene assorbito a livello del primo tratto dell'intestino tenue ed eliminato per via renale. Nel sangue è contenuto nei globuli rossi e nel plasma. È aumentato per insufficienza renale acuta, insufficienza renale cronica, pielonefrite cronica, glomerulonefriti croniche, ipertensione maligna, iperparatiroidismo, morbo di Addison. È diminuito per ridotta introduzione, ridotto assorbimento, aumentata perdita per via renale, ipertiroidismo, gravidanza. Lassativi e antiacidi contenenti magnesio, salicilati e litio possono aumentarne i livelli ematici. Le tiazidi diuretiche, l'acido etacrinico, il calciogluconato, l'amfotericina B, la neomicina, l'insulina, l'aldosterone e l'etanolo possono provocare una diminuzione dei livelli ematici. L'emolisi del campione può falsamente elevarne i valori.

È consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: Sodio, Cloro, Potassio, Calcio.

MCA (ANTIGENE ASSOCIATO CAR. MAMMARIO)

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

L'MCA è una glicoproteina ad elevato peso molecolare che viene prodotta dall'epitelio secernente del parenchima mammario. La molecola è stata identificata attraverso la produzione di anticorpi specificatamente sviluppati contro strutture del tessuto mammario neoplastico. I valori di MCA aumentano al crescere dell'estensione clinica della malattia, questo controindica il suo uso per finalità diagnostiche. Una volta fatta diagnosi di neoplasia il



riscontro di elevati livelli di MCA in una paziente con malattia ritenuta confinata solo a livello regionale può fare sospettare un coinvolgimento più esteso e la presenza di metastasi.

Dopo l'eradicazione chirurgica completa della neoplasia un aumento dell'MCA stabile e in aumento progressivo deve far sospettare metastasi a distanza. E' stato osservato un sensibile aumento dei valori di MCA nel terzo trimestre di gravidanza. Sia pure infrequentemente possono trovarsi concentrazioni al di sopra dei valori normali in soggetti affetti da patologia non neoplastica come malattie infiammatorie, sia acute che croniche di un certo rilievo.

Esami collegati: Ca15-3, TPA, CEA, PSA.

MICROALBUMINA (URINARIA)

Metodo: immunoturbidimetrico	Campione: campione di urine della mattina (è possibile anche su campione delle 24 ore)
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

E' stato appurato che la proteinuria (così come viene diagnosticata attualmente, ovvero mediante strisce reattive o metodi di precipitazione quantitativa) segnala l'inizio di un declino irreversibile della funzionalità renale. Viceversa, le manifestazioni più precoci, e potenzialmente reversibili, della nefropatia diabetica sono rappresentate da aumenti subclinici del tasso di escrezione dell'albumina (microalbuminuria) e dalla velocità di filtrazione glomerulare, e da ipertrofia renale. La disponibilità di nuovi metodi ad elevata sensibilità per la determinazione della albuminuria consente ora la determinazione della microalbuminuria; tale alterazione è presente nel 30% dei soggetti affetti da diabete mellito insulino-dipendente. Sembra che le alterazioni precoci a carico della struttura e della funzione renale siano reversibili e che il controllo della pressione arteriosa, una riduzione dell'assunzione delle proteine ed il mantenimento di una glicemia normale siano fattori in grado, da soli o nell'insieme, di impedire il deterioramento della funzionalità renale.

Da ciò sembra chiaro che il monitoraggio della microalbuminuria possa essere uno strumento prezioso per il controllo della nefropatia diabetica.

Noi raccomandiamo che nei pazienti diabetici venga eseguita la determinazione della microalbuminuria una volta all'anno dal momento della diagnosi.

Il risultato è riportato, nella maggior parte dei casi, in termini di massa di albumina nell'unità di tempo, con riferimento alle urine delle 24 h o a singoli campioni di urina.

In alternativa, il risultato può essere espresso in funzione dell'escrezione di creatinina.

MIOGLOBINA EMATICA

Metodo: ELFA	Campione: 0,5 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La mioglobina è una proteina a basso peso molecolare (17.800 D), composta da 153 aminoacidi, formata da una catena polipeptidica (globina) ed un gruppo prostetico contenente Ferro (eme). E' contenuta in abbondante quantità nel citoplasma delle cellule cardiache e muscolari scheletriche. In entrambi questi organi questa proteina svolge un importante ruolo nel trasporto dell'ossigeno dalle membrane cellulari ai mitocondri e funge da riserva di ossigeno. Non sono conosciute forme tessuto-specifiche della mioglobina, di conseguenza, il suo rilascio nella circolazione sanguigna non è un marcatore specifico di lesione miocardica,



in quanto si può verificare un'importante mioglobinemia anche in caso di trauma muscolo-scheletrico. L'utilizzo della mioglobina nella diagnostica dell'IMA è stato per lungo tempo limitato da problematiche metodologiche. Fino a pochi anni fa, erano infatti disponibili solo metodi radioimmunologici, che per l'idiosincrasia, la lunghezza dei tempi di esecuzione, la mancanza di automazione e l'utilizzo di materiali radioattivi rendevano impossibile l'impiego routinario della determinazione della mioglobina per la diagnosi di una situazione acuta come l'IMA. Da alcuni anni sono finalmente disponibili in commercio metodi immunochimici automatizzati che consentono la determinazione della mioglobina in tempi estremamente rapidi e con estrema accuratezza. Dopo un infarto la mioglobina è rapidamente rilasciata dalle cellule necrotiche miocardiche ed il suo aumento è rilevabile nel siero già dopo 2 ore dall'insorgenza della necrosi.

Il livello plasmatico raggiunge il valore di picco 6-12 ore dopo l'IMA e ritorna a valori basali dopo circa 24-36 ore. Essa viene rapidamente eliminata dalla circolazione attraverso l'emuntorio renale. La mioglobina è quindi un marcatore di IMA molto sensibile ma la sua presenza anche nel muscolo scheletrico ne limita la specificità; è quindi indispensabile escludere ogni possibile contemporanea causa di danno alla muscolatura scheletrica.

Quindi essa rappresenta un buon marker di esclusione dell'IMA.

Un'ulteriore applicazione della mioglobina riguarda la diagnosi di avvenuta riperfusione dopo trattamento trombolitico.

E' stato infatti dimostrato che la mioglobina raggiunge il valore di picco mediamente dopo 1 ora dalla riperfusione della coronaria occlusa, un tempo significativamente minore da quello evidenziato in pazienti non riperfusi.

Condizioni che possono alterare i livelli sierici della Mioglobina

Condizioni nelle quali i livelli sierici di mioglobina sono aumentati:

- IMA
- Chirurgia a cuore aperto
- Esercizi stressanti
- Danno dei muscoli scheletrici
- Pazienti e portatori di distrofia muscolare progressiva
- Shock
- Insufficienza renale severa
- in seguito ad iniezioni IM (in maniera variabile)

Condizioni in cui i livelli sierici di Mioglobina rimangono normali:

- Adulti sani
- Dolore toracico senza IMA
- Scempenso cardiaco congestizio con IMA
- Cateterismo cardiaco
- Cardioversione
- Esercizi muscolari non stressanti

Raccolta e preparazione dei campioni:

I campioni possono essere raccolti mediante le normali tecniche di prelievo venoso. I campioni di *plasma* possono essere raccolti in provette contenenti EDTA o Eparina.



I campioni di plasma possono dare valori superiori fino al 15% rispetto ai corrispondenti campioni di siero

Sostanze Interferenti:

<i>Proteine totali</i>	<i>da 18 g/dL</i>
<i>Emoglobina</i>	<i>da 2.000 mg/dL</i>
<i>Trigliceridi</i>	<i>da 1.000 mg/dL</i>
<i>Bilirubina</i>	<i>da 30 mg/dL</i>

Esami collegati: Isoforme del CKMB, Troponine, CKMB, CK, LDH.

MONOTEST (REAZIONE DI PAUL-BUNNEL)

Metodo: agglutinazione	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

Il Virus di Epstein Barr fa parte del gruppo degli Herpesvirus. Esso è causa della forma classica di mononucleosi infettiva ed è casualmente implicato nella patogenesi del linfoma di Burkitt, di alcuni carcinomi nasofaringei e di rari disordini ereditari linfoproliferativi.

Il Monotest viene usato come esame di screening nella diagnosi di mononucleosi infettiva da EBV. Per la conferma diagnostica è opportuno ricorrere alla determinazione degli anticorpi specifici. Il test necessita di controlli ripetuti perché solo nel 60% dei casi sono presenti anticorpi nella seconda settimana di malattia. Può rimanere positivo per 3-6 mesi dall'inizio dei primi sintomi. Può esserci una falsa positività nella rosolia, epatite, linfoma ed altre virosi. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: VCA, Transaminasi, Emocromo, LDH ed isoenzimi.

La risposta umorale è caratterizzata dalla:

- comparsa di anticorpi non specifici per l'EBV, cioè dai famosi **anticorpi eterofili (Monotest)**;
- dalla comparsa di anticorpi specifici diretti:
 - verso l'antigene del capsido virale (**VCA**)
 - verso gli antigeni precoci (**EA**)
 - verso gli antigeni di membrana (**MA**)
 - verso gli antigeni nucleari dell'EBV (**EBNA**)

Degli anticorpi specifici i meglio studiati sono gli:

- **anti-VCA** di tipo IgM ed IgG che si innalzano abbastanza precocemente. Gli IgM durano poco e scompaiono in pochi mesi;
- **anti-EA** che si innalzano per poi abbassarsi e scomparire abbastanza precocemente;
- **anti-EBNA** che non si ritrovano a livelli dimostrabili prima di 1-2 mesi dall'infezione acuta.

In fase acuta si ritrovano:

- ☉① anticorpi specifici anti-VCA IgM
- ☉① anticorpi anti-VCA IgG ad alto titolo (1:320 o superiori)
- ☉① anticorpi anti-EA a basso titolo (1:10 o superiori)
- ☉① assenza i anticorpi anti-EBNA

in persone sane che abbiano superato l'infezione da anni si ritrovano:



α) solo gli anticorpi IgG verso il VCA

Un elevato titolo di anticorpi può essere ritrovato anche:

- in bambini con Linfoma di Burkitt
- in soggetti con carcinoma naso-faringeo
- in condizioni che si associno a soppressione della funzione immunitaria cellulare (trapiantati, soggetti in chemioterapia, pazienti con AIDS).

E' consigliabile il digiuno nelle 12 ore che precedono l'esecuzione del test.

Esami collegati: Monotest, Transaminasi, Emocromo, LDH ed isoenzimi, Tipizzazione linfocitaria.

Tipizzazione linfocitaria

Può essere utile solo nella fase acuta prima della sierconversione e quando sia lo striscio periferico che i flagg degli analizzatori ematologici siano dubbi.

- prima della sierconversione

CD3+ aumentati

CD8+aumentati con antigeni di attivazione come il DR, il 25, il 71, il 38 ed il 69

CD4 nei limiti della norma

CD4/CD8 invertito

CD19 nella norma o ridotto

MUCOPROTEINE

Le Mucoproteine sono glicoproteine acide sintetizzate nel fegato, presenti nella fase acuta dei processi infiammatori.

Consigliabile il digiuno da almeno 8 ore.

MYCOPLASMA UREALYTICUM

Metodo: coltura

Campione: tamponi vari

Tempo di refertazione: 2 22

Note:

I Mycoplasmi sono tra i più piccoli e semplici microrganismi procarioti. Il Mycoplasma Urealyticum si caratterizza per la capacità di idrolizzare l'urea mentre il Mycoplasma Hominis idrolizza l'arginina. Sono responsabili di infezioni dell'apparato urogenitale.

Il prelievo va effettuato in condizioni di sterilità. Anche piccole concentrazioni di antibiotico nel campione possono inibire la crescita dei germi. Si consiglia la sospensione di qualsiasi terapia antibiotica almeno una settimana prima del prelievo.

Esami collegati: Candida, Gardnerella, Herpes Virus I e II (ricerca diretta).

NPM-22

L'NPM-22 è un nuovo test per la diagnosi di Ca vescicale che utilizza una nuova serie di marcatori tumorali: le proteine della matrice nucleare. Queste formano la struttura interna del nucleo e sono coinvolte nella replicazione del DNA, nella sintesi dell'RNA e nel rilascio ormonale. Esse sono specifiche con il tipo cellulare di origine e sono presenti nei tessuti maligni a concentrazioni 10 volte superiori che nei tessuti normali.



Il test è di tipo immunoenzimatico e dosa nelle urine, tramite 2 anticorpi monoclonali, il frammento solubile della proteina nucleare chiamata NuMA. La raccolta dei campioni di urina deve essere praticata ad almeno 5 giorni da un'eventuale cistoscopia, cateterismo vescicale o altra manovra endoscopica per evitare di rilevare valori di NPM elevati dovuti a danno tessutale. Nelle urine di soggetti sani l'NPM-22 è presente in concentrazioni basse.

Il valore di cut-off che viene usato è di 10 U/mL con il quale si ottiene un valore predittivo negativo del 73%.

In letteratura sono riportati aumenti occasionali dell'NPM-22 dopo intenso sforzo fisico, in caso di cistite interstiziale, in pazienti con Ca di altri distretti o in trattamento chemioterapico.

Campione: il contenitore per le urine viene fornito dal Laboratorio.

NSE (ENOLASI NEURONE-SPECIFICA)

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

L'NSE, enzima glicolitico, è prodotto dai neuroni del cervello e del tessuto nervoso periferico nonché nel tessuto neuroendocrino, specie nelle cellule APUD.

E' identificabile, inoltre, immunostochimicamente in carcinomi bronchiali microcellulari ed in APUDomi, di cui fanno parte specie carcinoidi dell'intestino, carcinomi tiroidei midollari, neuroblastomi e feocromocitomi.

Sensibilità

nei carcinomi bronchiali microcellulari (per valori superiori a 12 µg/L) ammonta a circa il 60-80%; nei neuroblastomi a circa il 90%.

Specificità

Ammonta a circa l'85%.

Dato che aumentate concentrazioni sieriche compaiono specie in pazienti con carcinomi bronchiali e neuroblastomi, l'NSE si presta bene per la diagnosi e il controllo delle terapie di questi tumori.

Nei bambini, la determinazione di questo marker, può contribuire alla diagnostica differenziale fra neuroblastomi e tumori di Wilms.

NUMERO DI DIBUCAINA

La succinilcolina viene utilizzata dagli anestesisti per indurre paralisi e rendere più agevole l'intubazione. La succinilcolina è facilmente idrolizzata dalla PCHE (e non dalla ACHE), pertanto dopo la fine dell'infusione questo enzima interviene per idrolizzare la succinilcolina con scomparsa della paralisi.

Alcuni soggetti, per una mutazione genica, possiedono un PCHE che non è in grado di idrolizzare la succinilcolina. E' chiaro che questi soggetti devono essere screenati prima che gli venga somministrata la succinilcolina.

A questo proposito si usa in **numero di dibucaina** che si basa sul presupposto che la PCHE dei soggetti normali è inibita dalla dibucaina, mentre la variante enzimatica è insensibile alla dibucaina (e quindi anche in presenza di questo inibitore, mostra una normale attività).



Caffeina, teofillina, chinidina, barbiturici, morfina, codeina, atropina, epinefrina, fenotiazine, acido folico e vitamina K possono diminuire i livelli ematici della colinesterasi.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

OMOCISTEINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

L'omocisteina è un aminoacido sulfidrilico derivato dalla conversione metabolica della metionina. L'omocisteina è ossidata nel plasma nei disolfidi omocisteina-omocisteina (omocisteina) ed omocisteina-cisteina.

L'omocisteina ed i 2 disolfidi si trovano sia in forma libera che legata alle proteine e sono comunemente chiamate *omocist(e)ina*.

Elevati livelli di omocisteina sono stati trovati in rari pazienti con *OMOCISTINURIA OMOZIGOTE* (prevalenza da 1:80.000 ad 1:200.000), che è usualmente dovuta ad un deficit dell'enzima cistationina beta-sintetasi, che trasforma l'omocisteina in cistationina ed è associata con precoce aterosclerosi e trombosi giovanile arteriosa e venosa.

Le complicanze vascolari dell'omocistinuria sono probabilmente dovute agli effetti tossici dell'omocisteina sulla parete vascolare ed alle conseguenti variazioni emostatiche.

Diversi studi hanno confermato che anche livelli moderatamente elevati di omocisteina, come quelli che possono essere trovati negli eterozigoti per il difetto enzimatico (prevalenza da 1:70 ad 1:200), sono associati con un aumentato rischio di aterosclerosi ed eventi trombotici arteriosi, come uno stroke, un'arteriopatia periferica ed un infarto del miocardio in età giovanile. In alcuni eterozigoti, livelli plasmatici di omocisteina elevati possono essere trovati solo dopo somministrazione di una consistente dose di metionina che testa metabolicamente la capacità individuale di convertire l'aminoacido in omocisteina.

Diversamente dalla trombosi arteriosa, vi sono pochi dati per quanto riguarda l'occorrenza di iperomocistinuria eterozigote e trombosi venosa, cosicché non possono essere ancora tirate delle conclusioni per quanto riguarda l'iperomocisteinemia come fattore di rischio per trombosi venosa.

I seguenti farmaci, methotrexate, carbamazepina, fenitoina, ossido nitroso e 6- azauridina triacetata, possono dare elevati livelli di omocisteina totale.

Esami collegati: Vit. B12, Ac. folico.

OSTEOCALCINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (congelare immediatamente)
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

L'Osteocalcina, proteina a catena singola con p.m. di 5.800D, viene sintetizzata nell'osso dagli osteoblasti ed è la principale proteina della matrice ossea. Presenta un'elevata affinità di legame per l'idrossiapatite. La sua funzione rimane sconosciuta .



La secrezione presenta un ritmo circadiano con uno zenit intorno alle 4 del mattino e un nadir intorno alle 5 del pomeriggio.

E' incorporata nella matrice dell'osso, ma una piccola frazione dell'osteocalcina neosintetizzata è liberata in circolo e può essere misurata con tecniche immunometriche.

È presente in quantità superiore al normale nei pazienti con:

- accentuato metabolismo osseo
- iperparatiroidismo primario o secondario
- morbo di Paget
- metastasi ossee

Non esiste accordo circa l'importanza dell'osteocalcina nell'osteoporosi poiché non è stata accertata alcuna differenza significativa fra pazienti osteoporotici e soggetti appartenenti a gruppi di controllo di età comparabile e senza alterazioni scheletriche.

Livelli significativamente ridotti di osteocalcina sono stati invece riscontrati in pazienti con osteoporosi a *basso turnover* e che presentavano anche ridotta osteopoiesi al test istomorfometrico. La terapia con calcio o con calcitonina può interferire con il dosaggio dell'osteocalcina. L'insufficienza renale e l'iperparatiroidismo primario possono modificare i livelli plasmatici.

Digiuno per almeno 8 ore prima del prelievo e sospensione di ogni terapia nelle 24 ore che precedono il test.

Esami collegati: Fosforo, Calcio Ionizzato, Calcitonina, Calcio, Paratormone.

PAP (FOSFATASI ACIDA PROSTATICA)

Metodo: chemiluminescenza

Campione: 1 ml di siero

Tempo di refertazione: 3 gg

Note:

Il PAP è aumentato solo nel 20% dei casi di carcinoma prostatico localizzato alla ghiandola. Aumenta nel 75% dei casi solo in corso di metastasi ossee e pelviche. Ormai considerato di scarsa utilità nel controllo dei tumori prostatici e validamente sostituito dal PSA e dal PSA-Free. Da evitare accuratamente il dosaggio dopo manovre quali possono essere massaggi prostatici, esplorazioni rettali o procedure strumentali endoscopiche.

Esami collegati: PSA, Free-PSA, TPA.

PAP-TEST

Metodo: osservazione al microscopio

Tempo di refertazione: 4 gg

Note:

Il Pap-Test viene utilizzato per la prevenzione oncologica ginecologica. L'indagine è utile anche per evidenziare la presenza di patologie infiammatorie croniche cervicovaginali. A scopo preventivo oncologico l'esame andrebbe eseguito ogni anno, in assenza di cellule atipiche ed ogni sei mesi in presenza di uno stato infiammatorio. Nel sospetto di carcinoma in situ la diagnosi va confermata mediante colposcopia.

Interferenze sui risultati possono derivare da una non corretta procedura di prelievo. Tutte le lavande vaginali debbono essere interrotte 48-72 ore prima del prelievo.

**PARATORMONE (PTH)**

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

Il Paratormone (PTH) svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento della omeostasi del calcio e rappresenta un indice fondamentale per un corretto studio del metabolismo fosfo-calcico. Il PTH è elevato nell'insufficienza renale. Nell'ipoparatiroidismo primario od in seguito a tireoidectomia totale o laringectomia sono presenti bassi valori del PTH. Livelli diminuiti sono presenti anche nell'iperalcemia idiopatica infantile, nelle gravi tireotossicosi, nelle metastasi ossee, nel mieloma, per eccesso di vitamina D (pseudoipoparatiroidismi secondari). I diuretici tiazidici possono fare diminuire i livelli di PTH. Elevati livelli di lipidi od eccessiva assunzione di latte possono interferire con il dosaggio. Sospendere tutti i farmaci in grado di interferire con il dosaggio. Consigliabile la sospensione di latte e latticini nelle 24 ore che precedono il prelievo.

Esami collegati: Calcio, Osteocalcina, Calcitonina.

PCR (PROTEINA C REATTIVA)

Metodo: turbidimetrico	Campione: plasma citrato inviare congelato a -20° C
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

La PCR è costituita da cinque catene polipeptidiche identiche, non glicosilate, di struttura globulare, ognuna con peso molecolare di 21.000 D. Essa appartiene alle pentraxine, una classe di proteine aspecifiche di difesa presenti in tutti i vertebrati ed in grado di interagire con i ligandi, fosforilcolina e galattosidi (polisaccaridi contenenti lattosio), presenti sulla superficie di batteri, miceti e parassiti. La PCR si lega ai componenti di questi microrganismi, ne determina l'agglutinazione e la precipitazione, attiva il sistema del complemento tramite la via classica, si lega ai linfociti con i recettori Fc e può determinare l'aggregazione delle piastrine. La Proteina C Reattiva viene sintetizzata dal fegato negli epatociti venendo stimolata dall'interleuchina 1, sintetizzata dai monociti-macrofagi attivati.

Indicazione

Diagnosi, monitoraggio del decorso e della terapia delle malattie infiammatorie.

Metodi di determinazione

Agglutinazione al lattice, turbidimetria, nefelometria.

Valutazione**PCR come indicatore di infiammazione:**

valori superiori a 6 mg/l confermano la presenza di una reazione infiammatoria. Entro 6-48 h dall'inizio di un'infiammazione, aumenta la concentrazione di CRP nel plasma. L'aumento della CRP precede la sintomatologia clinica e l'aumento della VES.

Valori di PCR nell'ambito della norma escludono la presenza di malattie infiammatorie acute, in particolare batteriche, ma non quella di infezioni croniche, per la cui esclusione si deve eventualmente considerare la VES.

In pazienti con infezioni fulminanti o leucopenia nonché in individui anziani, anche in presenza di una reazione infiammatoria, possono mancare i segni classici dell'infiammazione,



quali l'aumento di temperatura o la leucocitosi. Anche in questi casi il processo morboso in atto viene indicato in maniera attendibile dall'aumento della CRP.

La PCR nella valutazione dell'attività della malattia:

l'aumento della CRP è correlato con l'attività della malattia e con la massa di tessuto interessato dal processo infiammatorio. In processi patologici acuti, per esempio:

- infezioni batteriche locali (cistiti bronchiti),
- superinfezioni batteriche (per esempio nel lupus eritematoso sistemico),
- gravi malattie virali,
- malattie reumatiche,
- decorso post-operatorio non complicato,

sono state riscontrate concentrazioni di CRP comprese fra 6 e 100 mg/L.

Valori superiori ai 100 mg/L confermano un'elevata attività infiammatoria e compaiono ad esempio in presenza di setticemia, gravi infezioni batteriche, infezioni post-operatorie, tumori con metastasi, trombosi venose profonde e vasculiti su base autoimmune.

Monitoraggio del decorso:

durante il decorso patologico acuto il controllo della concentrazione di PCR è un sensibile indicatore dell'attività infiammatoria. Variazioni nell'andamento della reazione infiammatoria vengono indicate rapidamente, entro 24-48 h dal loro verificarsi e spesso già prima della variazione della sintomatologia clinica. La concentrazione di PCR nella meningite da *E. coli*₁ ad esempio, rispecchia chiaramente l'attività del processo patologico. In molte infiammazioni croniche un cambiamento nell'attività infiammatoria non determina però variazioni corrispondenti della concentrazione di PCR.

Controllo della terapia: in malattie infiammatorie acute, per esempio nelle infezioni batteriche, il successo della terapia viene indicato da una netta caduta della concentrazione della PCR nel giro di tre giorni.

Pazienti con Angina Instabile mostrano aumentate concentrazioni di proteine della fase acuta, ed in particolare della Proteina C Reattiva (PCR).

Proteina C Reattiva e Cardiopatia ischemica

Fin dall'inizio degli anni '50 fu avanzata la possibilità di utilizzare il dosaggio plasmatico della PCR come indice di risposta infiammatoria associata all'IMA. Successivamente è stato dimostrato anche che il picco del suo livello ematico in corso di IMA è significativamente correlato con l'estensione del danno miocardico.

Proteina C Reattiva ed Angina Instabile

Nel 1990 Berk e coll., con lo scopo di valutare la presenza di un processo infiammatorio nei pazienti con malattia aterosclerotica coronarica, sono stati tra i primi ricercatori ad indagare i rapporti tra PCR ed Angina Instabile. Questi AA studiarono 3 gruppi di pazienti: Angina Instabile, Angina Stabile e controlli senza cardiopatia ischemica.

La concentrazione di PCR, determinata su prelievi ottenuti al momento del ricovero, risultò significativamente più elevata nel gruppo con Angina Instabile rispetto agli altri 2 gruppi.

Inoltre, il 90% dei pazienti con Angina Instabile presentavano valori di PCR >0.6 mg/dL, contro solo il 20% dei controlli ed il 13% del gruppo con Angina Stabile.

Nei pazienti di questo studio, tuttavia, non fu possibile escludere con ragionevole certezza l'assoluta assenza di necrosi miocardica che avrebbe potuto essere, di per sé, la causa dell'incremento della PCR.

Questa possibilità è stata però esclusa da un altro gruppo di ricercatori (Liuzzo e Coll.) che recentemente hanno pubblicato uno studio in cui hanno dimostrato come tutti i pazienti con



IMA preceduto da sindrome prodromica anginosa mostrino, al momento del ricovero, concentrazioni di PCR già elevate, mentre ancora non sono manifesti segni biologici di necrosi miocardica.

Perché la Proteina C Reattiva aumenta

Il motivo per cui i livelli ematici di PCR si elevano nell'Angina instabile rimane sconosciuto. Infatti, questo fenomeno non può essere attribuito:

- alla severità dell'aterosclerosi, in quanto la PCR non si comporta allo stesso modo nei pazienti con Angina Stabile;
- ai livelli di micronecrosi miocardica, in quanto la PCR si innalza indipendentemente dall'incremento della Troponina I;
- ad ischemia severa, in quanto la PCR non si alza nei pazienti con Angina di Prinzmetal, caratterizzata da grave ischemia miocardica transmurale secondaria a spasmo di una coronaria epicardica;
- ad episodiche attivazioni del sistema emostatico, in quanto un'attivazione della trombina non aumenta la concentrazione plasmatica di PCR.

Molti pazienti con Angina Instabile presentano per mesi concentrazioni elevate di PCR, indipendentemente dalla severità della loro aterosclerosi coronarica, e mentre le concentrazioni rimangono elevate, il rischio di instabilità e di insorgenza di IMA risulta decisamente aumentato. Probabilmente, l'aumento delle proteine della fase acuta è originato da qualche stimolo tossico, immunologico o infiammatorio che causa un'attivazione infiammatoria dell'endotelio coronarico.

Elevati livelli di PCR ed Amiloide sierica implicano un incremento della sintesi epatica di queste proteine stimolata da IL-1 ed IL-6.

L'esatta origine dell'IL-1 ed IL-6 è tuttora sconosciuta, ma, ad esempio, endotossine e TNF possono indurre, nelle cellule endoteliali dell'adulto, l'espressione del gene per l'IL-1, ed inoltre l'IL-6 ed il TNF, suo principale fattore stimolante, hanno un'intensa proprietà proinfiammatoria e procoagulante. Queste citochine possono attivare l'endotelio a produrre potenti sostanze vasocostrittrici, ad esporre recettori per i leucociti ed a diventare trombogenico.

Ciò potrebbe spiegare la possibile presenza di trombi coronarici persino in assenza di fissurazione o rottura della placca aterosclerotica coronarica.

Antibiotici, etosucimide, griseofulvina, idralazina, isoniazide, metildopa, metisergide, contraccettivi orali, acido paraminosalicilico, penicillina, fenilbutazone, fenitoina, procainamide, propiltiouracile, chinidina, diagnostica radioisotopica, streptomina, sulfonamide e tetracicline possono determinare una *positività aspecifica del test*.

Campione: siero o plasma.

E' consigliabile eseguire l'esame a digiuno da almeno 8 ore.

Esami collegati: VES, α 1-glicoproteina acida, transferrina, sideremia, fibrinogeno.

PEPTIDE C

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Il Peptide-C connette la porzione COOH-terminale della catena B con la porzione NH₂ terminale della catena A della Pro-insulina. Il dosaggio del peptide C è utile nei casi di diabete



insulino dipendente in quanto il dosaggio dell'insulina prodotta dal paziente non viene alterato dalla quota di insulina esogena. In caso di controllo postoperatorio di eventuali resezioni pancreatiche la presenza di peptide C è un segno della presenza di residui pancreatici. Nel corso di insulinomi con iperattività delle cellule B-pancreatiche si riscontra un aumento dei livelli di peptide C. Il test di soppressione con insulina provoca in questi casi una diminuzione dei livelli del peptide C rispetto al valore iniziale nei soggetti normali, mentre nel caso di pazienti con insulinoma, il valore rimarrà invariato.

Il prelievo va eseguito dopo 12 ore di digiuno.

Esami collegati: Insulina, Glicemia, Emoglobina Glicosilata, Fruttosamina.

PIASTRINE

Metodo: coulter LH750	Campione: 1 ml di sangue
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

Sia i contatori elettronici ad impedenza che quelli a luce laser scatterata contano le piastrine in sieme ai globuli rossi, differenziando le une dalle altre sulla base delle loro dimensioni.

Cause di sottostima

formazione di aggregati piastrinici:

da prelievo traumatico

da reazione all'anticoagulante (pseudopiastrinopenia da EDTA e da EDTA e Citrato)

presenza di Macrotrombociti

satellitismo piastrinico

eparina

Cause di sovrastima:

notevole Microcitosi

Crioglobulinemia

criofibrinogeno

frammenti leucocitari

In questi casi per una conta corretta delle piastrine è necessario seguire i consigli espressi sul referto dal Medico di Laboratorio.

POST COITAL TEST

Il test post-coitale rappresenta a tuttora l'approccio clinico più semplice e razionale allo studio dell'interazione tra muco cervicale e liquido seminale.

Esso consiste nella valutazione microscopica del numero e del grado di mobilità degli spermatozoi in campioni di muco prelevati a vari livelli del canale cervicale dopo 2-6 da un rapporto. Per ottenere utili informazioni dal test, è fondamentale istruire correttamente la coppia sia sulla tecnica del rapporto, che sull'astinenza da rispettare (3-5 giorni). E' inoltre importante che il test venga eseguito nel periodo immediatamente pre-ovulatorio, quando il muco cervicale presenta le migliori caratteristiche fisico-chimiche per la penetrazione e la sopravvivenza spermatica; è quindi necessario monitorare giornalmente il muco cervicale nei 3-4 giorni periovulatori, sotto il controllo della temperatura basale, fino ad uno score favorevole all'esecuzione del test. Per quanto riguarda invece il tempo di lettura ottimale dopo il rapporto, manca un preciso accordo in letteratura: un test effettuato dopo 8-12 ore da un



rapporto dà informazioni preziose non solo sul numero, ma anche sulla sopravvivenza degli spermatozoi nel muco cervicale. Se il primo test risulta negativo, deve sempre essere ripetuto ed il successivo si potrà programmare a 2-3 ore dal rapporto. Test post-coitali ripetutamente negativi, con normalità del muco e del liquido seminale, devono indirizzare alla ricerca di una causa (anatomica e non) di deposizione dello sperma in vagina o della presenza di eventuali fattori immunologici. Il test rimane comunque mal standardizzabile, influenzato da numerose variabili e con significato prognostico controverso. Comunque un test sicuramente positivo esclude la presenza di un fattore cervicale di sterilità. Il rapporto dovrebbe essere effettuato con la partner in posizione supina. Dopo il rapporto la donna dovrà restare in posizione clinostatica per almeno un'ora. E' assolutamente vietato lavarsi dopo il rapporto. Altrettanto vietati farmaci e lavande ad applicazione interna.

Esami collegati: Acido Citrico Seminale, Fruttosio Seminale, LH, FSH, Testosterone, Liquido seminale.

POTASSIO

POTASSIO SIERICO ED URINARIO

Metodo: elettrodi ionoselettivi – urine Potenziometria indiretta - sierico	Campione: Siero - Urine delle 24 ore indicando la diuresi
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Potassio viene assunto con la dieta ed eliminato per via renale sotto il controllo degli ormoni mineraloattivi che favoriscono l'escrezione del potassio ed il riassorbimento del sodio. E' aumentato nell'insufficienza renale acuta e cronica, pielonefrite, disidratazione, vomito, morbo di Addison, emolisi, ustioni, CID, acidosi metabolica e respiratoria, emotrasfusioni. Diminuito nelle alcalosi, tireotossicosi, leucemie, paralisi periodica familiare, iperaldosteronismo primario e secondario, sindrome di Cushing, sindrome di Bartter, ipertensione maligna, sindrome di Liddle, vomito, diarrea, sudorazione profusa, ustioni.

Il campione, se emolizzato, può falsamente elevare i risultati. Potassio cloride, antagonisti dell'aldosterone, penicillina G, sostituti del sale, anfotericina B, tetracicline, eparina, epinefrine, marijuana e isoniazide possono fare aumentare i livelli di potassio. Furosemide, acido etacrinico, tiazide diuretica, insulina, aspirina, prednisone, cortisone, gentamicina, litio carbonato, aldosterone e lassativi possono diminuirne il dosaggio.

Esami collegati: Magnesio, Cloro, Sodio, Calcio.

PRIST

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Le IgE Totali (Prist) costituiscono la quinta classe delle Immunoglobuline. Nei soggetti normali la concentrazione di IgE e' estremamente bassa. Soggetti con patologie allergiche (asma, pollinosi, eczemi) presentano elevate concentrazioni di IgE. Quanto più il paziente è allergico ed è esposto a più allergeni, tanto più elevato è il livello del Prist. Risente del ritmo



circadiano e presenta una notevole variabilità tra un individuo e l'altro. I livelli tendono ad aumentare dalla nascita fino ai 60-65 anni.

Non sempre bassi livelli di IgE Totali escludono un'etiologia di tipo allergico. Nel caso infatti di allergie monovalenti è facile il riscontro di livelli normali di IgE. In questi casi è indispensabile l'approfondimento con i test per le IgE specifiche (Rast).

Indicazioni: rinite, sinusite, malattie aspecifiche delle vie aeree, esantemi ad etiologia non chiara, orticaria cronica, disturbi gastrointestinali e diarrea ad etiologia non chiara.

Metodi di determinazione: tecniche immunochimiche di tipo RIA, immunoenzimatiche, immunofluorescenza, nefelometria.

Non è necessario il digiuno.

Esami collegati: RAST, Phadiatop, ricerca eosinofili nel muco nasale e nelle feci.

PROGESTERONE

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il Progesterone è un ormone steroideo prodotto principalmente dal corpo luteo e dalla placenta. Regola le funzioni degli organi sessuali secondari durante il ciclo mestruale. La sua funzione principale consiste nella preparazione dell'utero all'impianto dell'embrione e del suo mantenimento in corso di gravidanza.

Il monitoraggio del progesterone durante il ciclo mestruale, permette, insieme con l'estradiolo, di valutare l'ovulazione. Valori elevati di progesterone sono indicativi.

Tumori surrenalici o testicolari possono secernere progesterone con un aumento notevole dei livelli plasmatici.

Nelle donne in fase fertile i livelli plasmatici di progesterone si modificano in relazione alle fasi del ciclo mestruale.

Gli estrogeni, i progestinici ed i corticosteroidi debbono essere sospesi 48 ore prima del test.

Esami collegati: FSH, 17-beta-Estradiolo, LH, Prolattina, Testosterone, Deas, Androstenedione, DHT.

PROLATTINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La Prolattina, ormone polipeptidico monocatena con peso molecolare di circa 22.000 Dalton consiste di 198 aminoacidi con 3 ponti di bisolfuro; essa rassomiglia all'ormone della crescita (HGH). La prolattina viene prodotta nell'adenoipofisi (lobo anteriore dell'ipofisi) dalle cellule lattotrope e acidofile. La liberazione dell'ormone viene diretta dall'ipotalamo mediante il "prolactin inhibiting factor" (PIF). Secondo le cognizioni più recenti sulla struttura del PIF si ritiene trattasi di sostanza simile alla dopamina.

L'influenza di un altro fattore di liberazione, ad es. "thyreotropin-releasing-hormon (TRH) non è accertata definitivamente; il suo ruolo sembra secondario. La prolattina viene ricavata



per la massima parte da preparazioni ipofisarie umane oppure da liquido amniotico. La causa delle elevate concentrazioni di prolattina nel liquido amniotico non è finora chiarita univocamente.

Nelle forme non neoplastiche

Concentrazioni aumentate di prolattina compaiono in pazienti con amenorrea e galattorrea nonché in tumori ipofisari cosiddetti lattotropi, che rappresentano quasi la metà dei tumori ipofisari, craniofaringioma, sindrome di Chiari-Frommel, ipotiroidismo, morbo di Addison, flogosi e traumi della base cranica. E' diminuita nel panipopituitarismo (sindrome di Sheehan, tumori ipofisari, craniofaringioma).

Nelle forme maligne

Sono noti casi con produzione ectopica di prolattina in carcinomi polmonari e tiroidei primari.

Valutazione

La terapia del prolattinoma a decorso benigno è chirurgica e/o medicamentosa con antagonisti della dopamina. La terapia chirurgica ha perso recentemente la sua importanza a causa dei grandi successi della via medicamentosa. Specialmente i microprolattinomi si trattano in un primo tempo con bromocriptina; la misurazione della prolattina sierica fornisce importanti indicazioni per il monitoraggio della terapia ed il controllo del decorso.

Avvertenze e limitazioni

Il prolattinoma dovrebbe sempre essere incluso nelle riflessioni diagnostiche quando, al di fuori della gravidanza, compaia galattorrea oppure, in maschi, ginecomastia.

Oltre alle intense oscillazioni individuali, a causa della liberazione ormonale a poussées e delle oscillazioni giornaliere (forte aumento della concentrazione prolattinica durante il sonno) si possono avere anche variazioni intraindividuali fino al 40% da un giorno all'altro.

Influssi medicamentosi possono aumentare la liberazione di prolattina (blocco dei recettori della dopamina, sostanze di scissione della dopamina, TRH):

- estrogeni,
- reserpina,
- alfa-metil-dopa,
- fenotiazine,
- metoclopropamide,
- sulpiride,
- cimetidina,
- ranitina

Altri farmaci (antagonisti della dopamina) possono farla diminuire:

- L-dopa,
- bromocriptina,
- apomorfina,
- metisergide

Può aumentare in seguito a:

- stress,
- esercizio fisico
- ipoglicemia.

Campione: siero o plasma.



Sospendere tutti i farmaci interferenti 72 ore prima del prelievo.

In alcuni casi, è consigliabile eseguire lo studio della PRL in 3 prelievi distanziati di 15-20 minuti uno dall'altro, utilizzando un ago a farfalla da lasciare in vena.

Esami collegati: FSH, 17-beta-Estradiolo, Progesterone, LH, Testosterone, DEAS, Androstenedione, DHT.

PROTEINA C ANTICOAGULANTE

Metodo: coagulativo	Campione: 1 ml di plasma citrato
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Struttura

La Proteina C è una glicoproteina di PM 62000 daltons sintetizzata dall'epatocita in presenza di vitamina K (carbossilazione). La Proteina C, nella sua forma attiva è secreta nel plasma dove viene divisa in due catene polipeptidiche collegate da un ponte disolfuro:

- una catena leggera (21000 daltons) che presenta i residui carbossilglutamici responsabili del legame della Proteina C ai fosfolipidi, in presenza di ioni calcio;
- una catena pesante (41000 daltons) portatrice del sito attivo catalitico.

Meccanismo d'azione

La Proteina C viene trasformata in enzima attivo sotto l'effetto della trombina in presenza di calcio e di fosfolipidi (scissione di un legame peptidico che rende disponibile il sito attivo). Questa attivazione viene potenziata dalla trombomodulina che forma un complesso con la trombina sulla superficie dell'endotelio vascolare. La Proteina C attiva esercita la sua azione anticoagulante attraverso la proteolisi dei fattori Va e VIIa. Questa funzione richiede la presenza di una superficie fosfolipidica (cellule dell'endotelio vascolare o piastrine) e di un **cofattore, la proteina S**. L'azione della proteina C attivata è regolata da un inibitore specifico (PCI) ad azione progressiva (l'effetto del PCI è rafforzato dall'Eparina).

Dobbiamo sottolineare inoltre che la Proteina C agisce a livello della fibrinolisi per neutralizzazione del PAI.

Carenze congenite

Di recente conoscenza (1981 negli USA, 1983 in Francia).

Casistica

- nella popolazione generale: da 1/200-300 a 1/1500.
- nei soggetti con precedenti trombosi venose 6-8%

La trasmissione avviene per via autosomica dominante:

- omozigoti: rari e spesso incompatibili con la vita (morte in utero, trombosi neonatali massive);
- eterozigoti: i più frequenti.

Le manifestazioni cliniche sono rappresentate principalmente da trombosi venose recidivanti o da embolie polmonari. Le manifestazioni arteriose sono rare. L'età in cui si manifesta il primo disturbo è tra i 20 ed i 40 anni. Le trombosi sopravvengono spontaneamente (circa il 50% dei casi) o a seguito di eventi scatenanti (parto, interventi chirurgici, degenze prolungate, ecc.). La comparsa sporadica (1 paziente su 5000 trattati) di necrosi cutanee a localizzazione variabile è stata descritta all'inizio del trattamento con Anticoagulanti Orali. Il tasso di Proteina C, che ha un'emivita (6-8 ore) inferiore a quelle degli altri fattori K dipendenti, può essere



drasticamente ridotto dalla terapia con anticoagulanti orali causando trombosi a livello della microcircolazione con comparsa di necrosi cutanee.

I metodi oggi disponibili consentono il dosaggio sia dell'antigene che dell'attività. Il confronto tra i risultati dei 2 dosaggi permette di distinguere tra due tipi di carenze:

Tipo I: riduzione sia dell'antigene che dell'attività.

Tipo II: riduzione solo dell'attività con antigene normale.

Carenze acquisite

- Affezioni epatiche e ipovitaminosi K (i deficit sono più o meno intensi; ciò spiega alcune trombosi associate)
- CIVD
- Degenza post-operatoria
- Insufficienza renale
- Obesità
- Trattamenti con AVK
- Trattamenti con L-aspariginasi

Aumento delle concentrazioni

Sono asintomatiche.

Un suo aumento viene rilevato durante la gravidanza.

Ricerca delle carenze congenite

Praticata nelle seguenti circostanze

- comparsa di una trombosi venosa in soggetti con età inferiore ai 45 anni.
- in soggetti con precedenti familiari di trombosi venose o di embolie polmonari
- trombosi venose recidivanti.

Campione:

plasma anticoagulato con citrato di sodio

è necessario un secondo prelievo per la conferma della carenza.

Esami collegati: AT III, Proteina S, Resistenza alla Proteina C, Test di screening per LAC, Anticorpi anticardiolipina, Omocisteina.

PROTEINA S

Metodo: coagulativo	Campione: 1 ml plasma citrato
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

La Proteina S, una proteina Vitamina K-dipendente, è presente nel plasma sia in forma libera per il 40% (funzionalmente attiva), sia complessata con la proteina legante C4bp del complemento per il 60% (forma funzionalmente inattiva).

Essa è un cofattore della Proteina C sia nei suoi effetti anticoagulanti che fibrinolitici. La Proteina C anticoagulante è capace di clivare il FVa, ma la formazione di un complesso con il FXa protegge il FVa dalla inattivazione. La proteina S può in qualche modo eludere l'effetto protettivo del FXa, e permette alla Proteina C di inattivare il FVa.

I Test per la Proteina S possono essere di tipo Immunologico e di tipo Coagulativo.

Il test Immunologico, valutando la Proteina S antigene, mette in evidenza solo le carenze di tipo quantitativo, mentre il test coagulativo può far rilevare anche le carenze di tipo funzionale. Purtroppo quest'ultimo tipo di test, con i metodi oggi in uso, non per mette di



screenare fra Carenza di PS e Resistenza alla Proteina C Attivata, per cui ha perso molto del significato che aveva avuto fino alla scoperta della APCr nel 1990.

Campione: plasma anticoagulato con Citrato di Sodio ponendo la massima attenzione affinché il prelievo sia il meno traumatico possibile. Non debbono essere usati campioni emolizzati o lipemici o con presenza di microcoaguli. E' sempre necessario un secondo prelievo per la conferma di una carenza. I livelli di Proteina S sono ridotti:

- nelle malattie epatiche;
- nella CID;
- nella terapia con Anticoagulanti Orali (per cui non è possibile eseguire il Test coagulativo nei pazienti in TAO);
- in presenza di Infiammazione (poiché il C4bp è una proteina della fase acuta ed il suo aumento in queste situazioni provoca un maggior legame della PS e quindi una diminuzione della forma libera funzionalmente attiva)
- nella sindrome nefrosica;
- nelle donne che assumono contraccettivi orali;
- nelle donne in gravidanza (la qual cosa potrebbe avere un effetto protettivo spostando la bilancia emostatica in senso procoagulante e riducendo la possibilità di gravi emorragie al momento del parto);
- per carenza congenita (quando, escluse le cause suddette, i valori della Proteina S antigene o coagulativa siano inferiori al 60% del valore di un pool di plasma normale).

La carenza congenita di Proteina S è associata ad un rischio significativo di malattia tromboembolica (prima della scoperta della APCr si stimava che incidesse per circa il 7-8% di tutte le TVP giovanili). La metà dei pazienti eterozigoti, infatti, presenta manifestazioni tromboemboliche prima dei 27 anni.

Esami collegati: Antitrombina III, Proteina C anticoagulante, Resistenza alla Proteina C, Test di screening per LAC, Anticorpi Anti-Cardiolipina, Omocisteina.

PROTEINE TOTALI

Metodo: colorimetrico al biureto	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

I metodi per la determinazione delle Proteine Totali, come somma delle concentrazioni di ogni singola proteina, devono consentire la determinazione di tutte le possibili proteine presenti nella stessa misura, indipendentemente quindi dalla struttura, dal peso molecolare e dal contenuto in carboidrati. Il metodo al biureto, automatizzabile anche con facilità, soddisfa a pieno questi requisiti.

Campione: siero.

L'emoglobina (nei sieri emolizzati) ed i plasma expander a base proteica vengono identificati anch'essi dalla reazione al biureto e pertanto si possono ottenere concentrazioni proteiche falsamente elevate.

**PROTIDOGRAMMA ELETTROFORETICO (QPE o EFSP)**

Metodo: elettroforetico	Campione: 1 ml di siero non emolizzato
Tempo di refertazione: 4gg	

Note:

L'elettroforesi delle proteine sieriche è una tecnica di separazione delle proteine sieriche basata sul fatto che in un tampone a pH alcalino (8.6) tutte, o la maggior parte, delle sieroproteine, sottoposte ad un campo elettrico, migrano verso l'anodo ad una velocità determinata dalla loro carica elettrica netta e, in misura minore, dalle loro dimensioni e forma.

Elettroforesi delle sieroproteine a 5 zone:

è la più usata in Italia e in gran parte del mondo. Si tratta di una metodologia in cui sono riconoscibili 2 tempi tecnici principali:

1. la separazione
2. la valutazione numerica densitometrica.

Affinché la valutazione densitometrica possa avvenire nel modo più automatico possibile, è necessario che le zone siano molto compatte, ma in questo viene alquanto mortificata la risoluzione della separazione. Le 5 zone sono rappresentate da:

- albumina
- Alfa 1 (rappresentata dall'alfa-1-antitripsina)
- Alfa 2 (rappresentata dall'alfa-2-macroglobulina e dall'aptoglobina)
- Beta (rappresentata dalla transferrina e dal C3)
- Gamma (rappresentata dalle IgG, IgA e IgM)

Questa tecnica può dare informazioni quantitative solo su Albumina ed IgG ed informazioni qualitative solo, e parzialmente, sull'albumina e può rilevare componenti monoclonali solo di grande e media entità. L'aspetto della zona Alfa-2 è causato come detto da 2 proteine: Alfa-2-macroglobulina ed Aptoglobina.

Quest'ultima è ricca di significato diagnostico in quanto aumento nell'infiammazione e si riduce nell'emolisi e nelle epatopatie, mentre la prima è priva di significato clinico. Tuttavia, la sua concentrazione è elevata in età giovanile, minore in quella adulta e spesso di nuovo aumentata in età avanzata.

E' pertanto possibile che la valutazione densitometrica, necessariamente globale, della zona includente le 2 proteine, possa mancare di evidenziare variazioni in un senso o nell'altro dell'aptoglobina, se queste vengono mascherate da variazioni opposte dell'altra componente.

La zona Beta riflette le variazioni della transferrina e del C3, mentre la beta-lipoproteina determina normalmente solo il colore di fondo. E' quindi evidente la mancanza di significato di una valutazione numerica derivante dalla somma di queste 2 proteine capaci di dare informazioni, ma a comportamento fisiologico indipendente e spesso opposto, come in caso di processo infiammatorio, in cui se lo stimolo perdura per più di 1 settimana la transferrina comincia a ridursi ed il C3 è aumentato. Questa tecnica dovrebbe essere abbandonata, ma una delle difficoltà è che i clinici hanno imparato che variazioni nelle percentuali di tali frazioni sono caratteristiche di diversi stati patologici e frappongono delle difficoltà a non ricevere più come referto il tracciato densitometrico. L'albumina aumenta nella disidratazione e diminuisce in una ampia varietà di patologie subacute e croniche, incluse patologie del fegato, renali e gastrointestinali, malnutrizione e cachessia. Le alfa 1 globuline sono aumentate in caso di patologia infiammatoria o neoplastica attiva. Le alfa 2 globuline sono aumentate nelle neoplasie, nella febbre reumatica, nella sindrome nefrosica, nel diabete mellito, in gravidanza. Una elevazione diffusa policlonale delle Ig è segno di un processo immunologico cronico



(cirrosi ed epatite cronica attiva), patologie del collagene, patologie infettive, stati infiammatori, neoplasie.

Si tende però oggi nei laboratori ad utilizzare delle tecniche elettroforetiche con una migliore risoluzione come ad es. l'elettroforesi sieroproteica corretta o l'elettroforesi capillare.

Le caratteristiche principali di queste elettroforesi a più elevata risoluzione sono che:

- nei sieri normali deve essere visibile la tenue banda della prealbumina;
- deve essere riconoscibile l'eterozigosi dell'antitripsina (che in Italia è presente in almeno 4/1.000 elettroforesi);
- in zona alfa-2 deve essere distinguibile la componente anodica rappresentata ladd'alfa-2-macroglobulina da quella catodica rappresentata dall' aptoglobina;
- la zona Beta deve essere divisa in 2 bande (beta-1 = transferrina, beta-2 = C3);
- in zona gamma devono essere riconoscibili Componenti Monoclonali a concentrazione inferiore a 1 gr/L e l'oligoclonalità;
(a questo proposito è stato visto che con l'elettroforesi a 5 zone solo il 23% dei laboratori era in grado di riconoscere un Componente Monoclonale di 1.7 g/L);
- con la tecnica dell'elettroforesi corretta la refertazione non è più densitometrica, ma avviene tramite ispezione visiva del tracciato con refertazione riferita alle singole proteine.

E' ovvio che queste nuove tecniche portino a dei grossi vantaggi diagnostici, ma anche a vantaggi economici perché nella maggior parte dei casi non sono gravate da costi aggiuntivi e consentono di limitare le richieste di proteine specifiche (ad es. aptoglobina, transferrina, complemento) da eseguire con tecniche più costose.

Fattori interferenti

I fattori interferenti nel campione possono dar luogo a bande inaspettate, ad esempio:

- nei campioni di plasma per la presenza di fibrinogeno;
- nei campioni fortemente emolizzati;
- nei campioni con forte contaminazione batterica;
- in presenza di crioglobuline.

Campione: siero.

Si richiedono almeno 8 ore di digiuno prima del test e una dieta povera di grassi nei giorni che lo precedono.

PSA - ANTIGENE PROST. SPECIFICO - PSA FREE

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico né itterico (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il Free-PSA (Antigene Prostatico Specifico Libero) è una glicoproteina presente nel sangue in forma libera (free-PSA). E' presente nel tessuto prostatico normale sia ipertrofico che neoplastico. Ai fini di una corretta valutazione clinica è interessante valutare il rapporto tra il free-PSA ed il PSA legato che deve essere minore del 20%.

Associato ad altri esami strumentali è un utile test di conferma nel caso di tumori alla prostata. Utile anche nel follow-up postoperatorio per la determinazione di eventuali recidive o metastasi. Esistono interferenze in caso di patologie anche benigne come l'ipertrofia della



prostata anche se in questi casi difficilmente il PSA aumenta fino a superare valori di 10 ng/ml. Da evitare accuratamente il dosaggio dopo manovre quali possono essere massaggi prostatici, esplorazioni rettali o procedure strumentali endoscopiche.

Esami collegati: PSA, TPA.

RAST - (IgE SPECIFICHE)

Tempo di refertazione: 10 gg

Campione: 0,5 ml di siero per allergene

Note:

Le IgE allergene-specifiche rappresentano la popolazione anticorpale antigene-specifica delle IgE totali. Le IgE specifiche (RAST) sono di fondamentale importanza per la diagnosi etiologica delle sindromi atopiche, anche se i risultati ottenuti vanno sempre correlati ai dati clinici, anamnestici ed al risultato delle prove allergometriche cutanee.

Metodi di determinazione: determinazione immunochimica. I singoli antigeni, di cui si cercano nel siero del paziente i corrispondenti anticorpi IgE, sono legati ad una fase solida, per esempio dischetti di carta o parete della provetta.

Non occorre il digiuno.

Esami collegati: Prist, Phadiatop.

RENINA CLINO-ORTO

Metodo: ELISA

Campione: 1 ml di plasma EDTA

Tempo di refertazione: 10 gg

Note:

La Renina viene sintetizzata dalle cellule iuxtaglomerulari del rene come precursore (pro-renina) privo di attività enzimatica. Converte l'angiotensinogeno nell'angiotensina che a sua volta viene convertita nel prodotto biologicamente attivo, l'angiotensina II, in grado di stimolare la secrezione di aldosterone.

La renina aumenta:

- nell'ipertensione renovascolare,
- nel tumore di Wilms,
- nella sindrome di Robertson-Kihara.

Nei casi di *aumento della renina ma senza ipertensione arteriosa* la causa può essere dovuta a:

- carenza di sodio,
- sindrome nefrosica,
- sindrome di Bartter.

Una *diminuzione dell'attività reninica plasmatica con ipertensione arteriosa* può essere presente:

- nel morbo di Crohn,
- nello pseudo iperaldosteronismo primario,
- nella sindrome di Biglieri
- ed in alcuni casi di ipertensione arteriosa essenziale.

Una *diminuzione dei livelli di renina senza ipertensione arteriosa* può essere presente:

- nei casi di iperaldosteronismo,



- nella ritenzione idro-salina
- in ridotta attività del sistema nervoso simpatico.

In alcuni casi può essere utile valutare i cambiamenti dell'attività reninica plasmatica dopo stimolazione con Furosemide. I valori tenderanno ad essere più elevati:

- in caso di dieta iposodica,
- durante la gravidanza,
- terapie con diuretici,
- antipertensivi,
- estrogeni
- estroprogestinici.

La dieta a basso contenuto sodico incrementa i livelli di renina con prelievo eseguito in posizione supina. Farmaci antiipertensivi, steroidi, progestinici ciclici, estrogeni, diuretici, assunzione di liquirizia debbono essere interrotti 4 settimane prima del dosaggio.

Nel mese precedente il dosaggio non debbono essere state eseguite prove con radiotraccianti.

Campione: plasma (provetta con EDTA in ghiaccio).

Esami collegati: Catecolamine Urinarie, Acido Vanilmandelico, ACE, Aldosterone.

RESISTENZA ALLA PROTEINA C ATTIVATA (APC-R)

La TVP e l'EP sono un problema sanitario di notevole importanza arrivando ad un'**incidenza di circa l'1 x 1.000/anno**.

Diversi fattori di rischio genetici in grado di determinare una tendenza alla trombosi di tipo familiare, si sono dimostrati importanti. Fino a poco tempo fa difetti genetici (dell'AT III, della PC e della PS) venivano trovati in circa il **20% dei casi di trombosi familiare**, ma in **meno dell'8% delle trombosi recidivanti**.

Nella maggior parte dei pazienti mancava una spiegazione di laboratorio che giustificasse la tendenza genetica alla TVP.

La capacità di diagnosi è aumentata enormemente da quando Dahlback hanno scoperto l'APC-R.

Successive indagini condotte nelle nazioni occidentali hanno mostrato che l'APC-R era il responsabile di:

- circa il 20% dei casi di trombosi venose consecutive
- di circa il 50% dei casi selezionati di trombosi familiare.

Quindi l'APC-R è il maggior fattore di rischio per trombosi venosa.

La l'APC-R in molti casi è determinata da una **mutazione puntiforme (chiamata Fattore V Leiden o fattore V R506Q) nel gene del F.V che rende il F.Va resistente all'azione della Proteina C attivata**. Circa il 5% della popolazione europea è portatore della mutazione.

BASE MOLECOLARE PER L'APC-RESISTENZA

Cosa accade se un sito di clivaggio dell'APC è cambiato

Come detto prima, la sola base molecolare conosciuta per il fenotipo dell'APC resistenza è una mutazione puntiforme del gene del F.V che sostituisce la glicina del codone CGA con una alanina codone CAA in corrispondenza del nucleotide 1.691 nell'esone 10¹³. La mutazione rimpiazza l'arginina R con una glutammina Q in posizione 506 nella molecola del Fattore V modificando in questo modo uno dei siti di clivaggio dell'APC.



Il F.V mutante R506Q esprime una molecola con normale attività procoagulante quando attivata dalla trombina o dal fattore Xa, ma la sua velocità di inattivazione è di circa 10 volte più bassa di quella di un normale F.Va.

Questa resistenza all'APC stabilizza il complesso protrombinasi e porta alla generazione di elevate quantità di trombina e ad uno stato di ipercoagulabilità.

Poiché il F.V mutante può essere ancora inattivato dal clivaggio dell'APC in corrispondenza dell'Arginina 306 e dell'Arginina 679, è probabile che l'iniziale sito di clivaggio dell'APC in corrispondenza dell'Arginina 506 promuova l'inattivazione del F.Va ma non sia indispensabile.

Questo potrebbe giustificare l'osservazione di stati di ipercoagulabilità relativamente leggeri osservati in individui APC-resistenti e spiega perché è necessario un secondo fattore di rischio, genetico o acquisito, perché si possa sviluppare la trombosi.

CASI DI APC-RESISTENZA SENZA SPIEGAZIONE

C'è una moltitudine di difetti genetici che potrebbero causare resistenza all'APC senza una mutazione in corrispondenza dell'Arginina 562 nel F.VIII o una mutazione dell'Arginina 306 nel F.V.

Sebbene nessuno di questi sia stato riportato è chiaro che almeno un 4-6% dei casi di APC resistenza nelle nazioni occidentali non coinvolgono la mutazione del F.V R506Q, indicando che sono coinvolti ulteriori difetti genetici o acquisiti sconosciuti.

Al momento attuale, la sola via praticabile per identificare soggetti predisposti a trombosi APC resistenti senza la mutazione del F.V R506 Q è quella di eseguire un test di screening coagulativo ed osservare il fenomeno della resistenza all'APC.

ASPETTI CLINICI DELLA RESISTENZA ALL'APC

TROMBOFILIA EREDITARIA

Trombofilia è un termine generico collegato essenzialmente a vari tipi di disordini ereditari del meccanismo emostatico che possono essere causa di una aumentata tendenza familiare alla trombosi. L'ereditarietà o la tendenza familiare alla trombofilia si manifesta in generale ad un'età relativamente giovanile (al di sotto dei 45 anni), ed è associata ad episodi trombotici ricorrenti. Le manifestazioni cliniche più frequenti sono la trombosi venosa degli arti inferiori con o senza embolia polmonare.

Circa il 50% dei pazienti trombofilici hanno il loro primo evento trombotico in combinazione con altri fattori di rischio circostanziali quali gravidanza, chirurgia, contraccettivi orali e circa la metà di tutti i pazienti hanno una storia familiare positiva.

L'APC È UN FATTORE DI RISCHIO COMUNE DI TROMBOSI VENOSA

Fin dalla sua scoperta la APCr è stata riconosciuta come la maggiore causa di trombofilia ereditaria. La maggior parte dei casi può essere spiegata con la mutazione del F.V R506Q.

Il rischio relativo di trombosi venosa per i portatori di questa mutazione è stato stimato in circa 7 volte per gli eterozigoti (difetto singolo) e circa 80 volte per gli omozigoti (difetto doppio). Un'analisi generale dei pazienti con eventi trombotici, studiati sia consecutivamente o dopo selezione, ha mostrato una prevalenza della resistenza all'APC di circa il 20%.



Le frequenze riportate mostrano un range di variazione molto ampio (0-64%), dovuto essenzialmente alle differenze nei criteri di selezione dei pazienti, come l'esclusione dei pazienti al di sopra di una certa età, coloro che erano in TAO e/o coloro che avevano cause di trombofilia già conosciute. Comunque, questo può in parte riflettere anche una diversa distribuzione del F.V R506Q, come allele nella popolazione generale.

Prevalenze notevoli della resistenza all'APC e del F.V R506Q sono state riportate in individui sani in diversi paesi europei e più specificamente, la Grecia (14%), la Francia (10%), Regno Unito (9%), Germania (8%), Svezia (7%), Olanda (5%). L'alta prevalenza dell'APCr in questi paesi indica che la mutazione è avvenuta in tempi antichi nella popolazione che ha fondato l'Europa e che potrebbe essere legata ad un vantaggio evolutivo (probabilmente la protezione contro situazioni causanti una perdita eccessiva del sangue che poi è stata mantenuta nelle popolazioni). Finora, la mutazione del F.V R506 Q non è stata dimostrata nella popolazione giapponese, cinese, africana o araba. Ciò potrebbe spiegare l'incidenza relativamente bassa del tromboembolismo venoso riportato in queste razze.

L'analisi cumulativa del F.Va R506Q tra gli individui sani europei ha mostrato una prevalenza del 5.5% (di cui il 5.3% sono eterozigoti e lo 0,1% sono omozigoti).

LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DELL'APC RESISTENZA

Il fenotipo APCr è stato originariamente caratterizzato mediante un dosaggio basato sull'APTT in cui si aveva una risposta anticoagulante ridotta ad una quantità fissa di APC aggiunta. Con una diagnosi basata su un APC ratio < 2.23, il test dell'APCr standard in un gruppo di pazienti con trombosi venosa ha mostrato:

- **una sensibilità del 76%**
- **una specificità del 98%**

Insomma, usando solo il test standard il 24% degli eterozigoti potrebbero non essere identificati ed il 2% dei normali potrebbero essere diagnosticati come soggetti con la mutazione del F.V. Elevando questa soglia di cut-off si può ovviamente aumentare la sensibilità al 100%, ma con una concomitante diminuzione della specificità.

Il problema è che usando il test standard per l'APCr sarebbe necessaria un'analisi della mutazione per F.V R506Q in circa il 30-50% dei soggetti indagati per poter confermare la diagnosi. Questo, ovviamente, ha sollevato la questione se debba essere usato o meno un dosaggio basato sul DNA invece del dosaggio funzionale di screening per l'APCr.

Tuttavia, il vantaggio clinico ottenuto dall'APC ratio del test standard è una indicazione anche sulla gravità dell'APCr e quindi rileva i casi con maggiore tendenza alla trombosi anche senza la mutazione del F.V R506Q. Il test standard dovrebbe quindi essere eseguito e considerato primariamente come un test di screening, il cui primo scopo è di ricercare individui con il fenotipo dell'APCr. Usando un *test per l'APCr modificato* in cui il plasma del paziente viene diluito in plasma carente di F.V, la sensibilità e la specificità per la mutazione del F.V R506Q viene aumentata a quasi il 100%. Altre cause di APCr collegate a deficit non noti del F.V potrebbero non essere rilevate da questo metodo che, tra l'altro, permette di testare campioni di pazienti in trattamento con eparina o anticoagulanti orali.

Un approccio pratico allo screening potrebbe essere quello di analizzare nella stessa serie ciascun campione di plasma usando sia il metodo standard sia quello modificato.

Quei soggetti che presentassero risultati patologici nel test modificato sarebbero candidati quindi ad una genotipizzazione per il F.V. Questa strategia identificherebbe i pazienti APC-R



sia con che senza la mutazione F.V R506Q e ridurrebbe la necessità di conferma col test genetico su un numero minimo.

L'APC RATIO INDICA LA SEVERITA' DELLA RESISTENZA ALL'APC

Zoller e Coll. hanno studiato 50 famiglie svedesi con APCr. Essi hanno potuto osservare:

- che in 3 delle famiglie non era presente la mutazione del F.V R506Q, la qual cosa suggerisce la presenza di un'altra causa non identificata di APCr;
- che l'APC ratio era basso in tutti gli omozigoti e nella maggior parte degli eterozigoti;
- che l'APC ratio negli individui senza la mutazione si distribuiva nel range da 1.3 a 2.0;
- che gli eterozigoti con una storia di trombosi avevano anche una APC ratio più basso di quelli che non avevano avuto trombosi;
- che nessuno degli eterozigoti con un APC ratio superiore a 2 aveva avuto eventi trombotici;
- che i parenti senza la mutazione, ma con una storia di trombosi avevano un APC ratio significativamente più basso di quello dei pazienti senza trombosi.

Tra i 2 gruppi venivano osservate inoltre differenze significative sia nell'APC ratio che nella curva di sopravvivenza senza trombosi, confermando quindi che l'APCr è un fattore di rischio importante di trombosi.

Ad un'età di 33 anni manifestazioni trombotiche venose erano state osservate:

- nell'8% dei normali
- nel 20% degli eterozigoti
- nel 40% degli omozigoti

L'età media per il primo evento trombotico era 25 (con un range da 10 a 40 anni) per gli omozigoti e 36 (con un range da 18 a 71 anni) per gli eterozigoti.

In alcune famiglie l'incidenza di trombosi era più alta di quanto atteso e questo suggeriva che queste famiglie erano affette da un difetto genetico aggiuntivo.

TROMBOSI VENOSA COME RISULTATO DI FATTORI DI RISCHIO GENETICI MULTIPLI

A lungo nel sistema della coagulazione è stato considerato che il difetto genetico singolo fosse la causa scatenante di trombofilia familiare.

L'evidenza che questa idea fosse troppo semplice è stata ripetutamente evidenziata negli anni passati, particolarmente a proposito delle famiglie con carenza di proteina C.

La carenza di Proteina C ereditaria è sicuramente associata ad un aumentato rischio di trombosi. Ciò nonostante per ragioni misteriose la stessa mutazione della proteina C può condizionare in maniera diversa le diverse famiglie.

Inoltre, dei soggetti con carenza di proteina C solo 1 su 70 mostrerà sintomi (con una prevalenza di totale di circa lo 0.2%).

Il ruolo dei fattori circostanziali che scatenano l'evento trombotico può spiegare questa disparità, ma rimane ancora da chiarire perché circa il 60% di essi ha il suo primo evento trombotico spontaneamente.

Una migliore spiegazione del perché solo alcuni degli individui con la carenza di Proteina C sono sintomatici è la co-ereditarietà di uno o più difetti genici.

Considerando l'alta prevalenza dell'APCr sembrerebbe questo essere il primo candidato. Ciò viene supportato da studi recenti che mostrano un'alta incidenza della mutazione del F.V



R506Q tra i soggetti con carenza di Proteina C sintomatici (circa il 14-19%), così come nelle famiglie e probandi con carenza di Proteina S (38%).

L'APC R E IL TROMBOEMBOLISMO ARTERIOSO

Lindblad ed altri hanno riportato per primi un caso di un uomo di 32 anni con un tromboembolismo arterioso fatale ed una APCr severa (ratio < 1.6).

In uno studio di Halbmayer ed altri, la associazione fra resistenza all'APC e trombosi arteriosa è stata studiata in un gruppo di pazienti con stroke giovanile ed è stata riscontrata essere simile a quella osservata nei pazienti con trombosi venosa (20%).

Una possibile associazione fra APCr e stroke è stata suggerita anche da Simioni et al. Che avevano effettuato uno studio caso-controllo in pazienti giovani con stroke ischemico e APCr. Tuttavia. La maggior parte delle pubblicazioni mostra un'incidenza della mutazione del F.V R506 Q in pazienti con stroke simile a quella trovata in soggetti normali di controllo, il che indicherebbe che non c'è alcuna associazione fra APCr e trombosi arteriosa causante lo stroke. E' stata anche studiata la possibile correlazione fra la mutazione del F.V e la cardiopatia ischemica in particolare con l'infarto del miocardio.

Con l'eccezione di 1 pubblicazione, tutte le altre concludono che **la mutazione non è un fattore di rischio per trombosi arteriosa** negli individui con eterozigosi, sebbene non escludano la possibilità negli individui omozigoti.

Un'osservazione molto interessante è stata fatta da Kontula ed altri in pazienti con ischemia cerebrale in cui hanno mostrato uno **stato di portatore della mutazione associato con emicrania classica**.

AUMENTATO RISCHIO DI TROMBOSI VENOSA IN SOGGETTI APC RESISTENTI CHE USANO CONTRACCETTIVI ORALI

I contraccettivi orali estroprogestinici sono un fattore di rischio molto dibattuto per la trombosi venosa. In donne che usano contraccettivi orali sono stati riportati aumentati livelli di fibrinogeno e di fattori procoagulanti e ridotti livelli di AT III e PS con ridotta resistenza all'APC. Si è assunto che questi cambiamenti fossero indotti dagli ormoni e disturbassero l'equilibrio emostatico risultando in uno stato protrombotico.

Per la maggioranza delle donne che assumono contraccettivi questo disequilibrio è di importanza minore, ma per un piccolo numero di donne con un rischio genetico o acquisito che le predispone alla trombosi, l'aggiunta dell'influsso protrombotico dei contraccettivi orali, può essere sufficiente a scatenare un evento trombotico.

Vandenbrouche e Coll., in Olanda, hanno studiato il rischio di trombosi venosa in donne in trattamento con contraccettivi orali. Un gruppo di 155 donne in premenopausa che avevano sviluppato trombosi venosa in assenza di ogni altro difetto predisponente è stato confrontato con 169 controlli sani:

- il rischio di trombosi fra le utilizzatrici di contraccettivi orali è stato determinato come 4 volte maggiore quando confrontato a donne che non assumevano contraccettivi orali (il rischio di base era di circa 0.01%/anno);
- le donne eterozigoti per la mutazione che non usavano i contraccettivi orali avevano un aumento del rischio trombotico di 8 volte;
- il rischio era di 35 volte quando le donne eterozigoti assumevano i contraccettivi orali.

L'effetto congiunto dei 2 fattori di rischio sembrava quindi essere all'incirca moltiplicativo.



- con un simile effetto moltiplicativo, il rischio aumenta di circa 100 volte per le donne omozigoti che assumono contraccettivi orali.

Un numero sufficientemente grande potrebbe essere quindi messo a notevole rischio dall'uso dei contraccettivi orali se si considera l'alta prevalenza della APCr nella popolazione generale. Solo nel Nord America ci sono circa 100 milioni di utilizzatrici di contraccettivi orali. Considerando che l'allele della frequenza per il F.V R506 Q è presente nel 2.5%, allora circa 500.000 donne sarebbero eterozigoti e circa 6.000 sarebbero omozigoti.

Poiché il rischio annuale di TPV è all'incirca lo 0.3% nelle eterozigoti e circa il 3% per gli omozigoti, può essere calcolato che circa 1.700 casi di TVP all'anno sono causati dalla combinazione di APCr e contraccettivi orali.

Insomma, sembrerebbe che un numero significativo di donne dovrebbe evitare i contraccettivi orali essendo APCr.

Questo solleva la domanda se tutte le donne debbano essere sottoposte a screening per APCr prima della prescrizione dei contraccettivi orali.

APC RESISTENZA DURANTE GRAVIDANZA E PARTO

I livelli di diverse plasma-proteine cambiano drammaticamente durante la gravidanza normale. Il risultato è un movimento nell'equilibrio emostatico a favore della coagulazione e contro l'anticoagulazione e la fibrinolisi.

Questo stato pretrombotico associato alla gravidanza probabilmente riduce il rischio di eccessivo sanguinamento durante il parto, sebbene nello stesso tempo aumenti il rischio di trombosi. Nei paesi sviluppati l'incidenza globale di eventi trombotici durante la gravidanza ed il puerperio è di circa lo 0.1%. La resistenza all'APC appare essere un forte fattore di rischio di trombosi durante la gravidanza ed il puerperio come è stato dimostrato da osservazioni dell'APCr in circa il 50-60% delle donne con una storia di complicanze trombotiche durante la gravidanza ed il puerperio..

Data questa alta prevalenza sembra necessario lo screening per l'APCr in tutte le donne durante la fase iniziale della gravidanza.

Le donne identificate come APC resistenti dovrebbero essere considerate come candidate ad una profilassi con eparina (15.000-20.000 U/die).

RESISTENZA ALL'APC ACQUISITA

Anticorpi Antifosfolipidi

Non è attualmente noto il meccanismo che provoca la sindrome da anticorpi antifosfolipidi, sebbene siano state suggerite, come possibile meccanismo di trombosi, delle interferenze nel meccanismo della proteina C.

Una di queste interferenze potrebbe essere il bloccaggio selettivo della funzione dell'APC sulle superfici fosfolipidiche mediante specifici tipi di anticorpi antifosfolipidi che porterebbero ad una APCr acquisita.

Deve essere notato però che la presenza della mutazione del F.V R506Q non sembra essere rappresentata in maniera anomala in pazienti con la sindrome antifosfolipidica.

Cambi ormonali possono ridurre l'APC ratio

Un APC ratio più basso è stato trovato nelle donne che assumevano contraccettivi orali quando confrontate o con donne che non usavano contraccettivi orali o con uomini.

APC ratio più bassi sono stati anche riportati in donne sane in gravidanza, quando le si confronta a donne sane non in gravidanza né in trattamento con contraccettivi orali.



Il meccanismo di questa APCr acquisita è probabilmente indotta dagli ormoni e la loro rilevanza clinica attende ulteriori studi.

TABELLA: Indicazioni sui candidati alle indagini per trombofilia

- *Trombosi venose giovanili (età inferiore a 45 anni)*
- *Trombosi venosa ricorrente*
- *Storia familiare di trombosi venosa*
- *Trombosi venosa in siti inusuali*
- *Trombosi neonatale*
- *Necrosi cutanea (specie se indotta dalla warfarina)*
- *Aborti ricorrenti*
- *Trombosi arteriosa giovanile sotto i 30 anni*
- *Trombosi arteriosa senza danni arteriosi*
- *Trombosi venosa durante la gravidanza o il puerperio*
- *Trombosi venosa durante la assunzione di contraccettivi orali*

Campione: plasma (provetta anticoagulata con citrato).

E' sempre necessario ripetere l'esame su un campione diverso prelevato a distanza di tempo dal primo.

Esami collegati: PT, aPTT, fibrinogeno, AT III, PC, PS, LAC, Omocisteina.

RETICOLOCITI

Metodo: coulter LH750	Campione: sangue intero con EDTA
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il reticolocita è la penultima cellula nel processo di maturazione dell'eritrocita.

In condizioni fisiologiche, i reticolociti del midollo osseo divengono completamente maturi in 3 giorni, poi essi continuano la loro maturazione nel sangue periferico per diventare eritrociti.

Durante questo processo si ha una diminuzione sia del loro volume che del contenuto emoglobinico. Queste cellule hanno un volume di circa il 24% più elevato rispetto ai globuli rossi, con una concentrazione emoglobinica più bassa ed un contenuto emoglobinico sovrapponibile. I reticolociti possono essere colorati con il bleu brillante di cresile o con il bleu di metilene. Una uguale proporzione di sangue e colorante vengono incubati a temperatura ambiente, quindi la miscela è strisciata su vetrino e viene eseguita la conta percentuale. Nel 1932, Heilmayer e Westhauser hanno descritto 4 differenti stadi della maturazione dei reticolociti. E' particolarmente importante una precisa valutazione microscopica di questi 4 stadi insieme alla conta assoluta dei reticolociti.

Tuttavia, i granuli di RNA sono spesso confusi con i corpi di Jolly, i corpi di Heinz o con i granuli emoderici dei siderociti. Di conseguenza, i reticolociti sono considerati come eritrociti, la qual cosa porta ad una sottostima dei reticolociti stessi.

Per contro, nei pazienti splenectomizzati, con anemia falciforme o anemia emolitica avanzata, i *siderociti* sono scambiati per reticolociti, portando a conte in eccesso.

A causa di quanto detto prima, il National Commitee for Clinical Laboratory Standardization (NCCLS, USA) ha pubblicato nel 1985 la seguente definizione ufficiale di reticolocita:



“un reticolocita è ogni globulo rosso che contiene 2 o più granuli di sostanza colorata in bleu con il nuovo bleu di metilene”.

Tenendo presente questa definizione, in alcuni articoli è stato pubblicato che la conta microscopica comporta circa un 40% di errori o anche più. Ciò è dovuto sia ad un'errata conta dei reticolociti che dei GBR. In accordo alle raccomandazioni della NCCLS, debbono essere contate almeno 1.000 cellule al microscopio ed i reticolociti debbono essere indicati come percentuale dei globuli rossi. Insieme ad una possibile errata interpretazione delle cellule ed all'errore statistico nelle conte (specie nel caso dei valori bassi di reticolociti), altri errori sono dovuti ad un'inadeguata tecnica dello striscio e ad una conta routinaria impropria (è da tener presente che i reticolociti non si distribuiscono uniformemente sullo striscio).

Analisi automatica dei Reticolociti

Per superare i summenzionati problemi della conta microscopica dei reticolociti, alcune ditte offrono degli strumenti ematologici che sono capaci di eseguire la conta e l'analisi completa dei reticolociti insieme all'esecuzione della conta e differenziazione delle cellule ematiche.

I sistemi ematologici offrono nuove prospettive alla classificazione delle cellule ematiche. Essi assicurano un'elevata riproducibilità delle conte.

Comunemente, ogni analisi dei reticolociti con un contatore automatico fornisce una conta da 10.000 a 30.000 cellule. La conta manuale legge 1.000 cellule o anche meno (specie in casi di particolare difficoltà).

Pertanto, i sistemi automatici forniscono una precisione sostanzialmente più elevata nella conta. Un ulteriore vantaggio negli strumenti automatici è rappresentato dalla loro velocità. Mentre un'accurata conta microscopica dei reticolociti può portare via circa 15 minuti, il tempo richiesto per l'analisi automatica è di circa 1 minuto.

Inoltre, i moderni sistemi ematologici misurano gli Indici di Maturazione Reticolocitaria in accordo all'intensità dell'assorbanza o fluorescenza dei reticolociti.

Questa classificazione è molto soggettiva all'osservazione microscopica e quindi scarsamente riproducibile. Il sistema H3 è il solo emocitometro a flusso capace di misurare gli Indici Cellulari dei reticolociti in aggiunta al loro numero ed allo stadio maturativo.

Poiché volume, concentrazione emoglobinica e contenuto emoglobinico sono misurati per ogni singola cellula, deviazioni dai valori normali sono rilevate con una particolare sensibilità. La misurazione degli Indici Cellulari non può essere eseguita al microscopio, nonostante il loro grande interesse clinico.

Campione: sangue (provetta con EDTA).

Esami collegati: Emocromo.

RUBEOTEST (IGG-IGM)

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il Virus della Rosolia è un virus a RNA che appartiene al genere Togavirus. L'infezione che provoca può essere asintomatica o provocare un modesto esantema. Se contratta durante la gravidanza causa la "rosolia congenita" che provoca aborto, malformazioni, sordità e ritardo mentale.

Diagnosi di infezione primaria nella gestante



Quando un medico si trova di fronte alla necessità di porre diagnosi di infezione da agenti virali quali il virus della rosolia o il citomegalovirus umano in corso di gravidanza, si confronta con un problema di estrema delicatezza e di enorme importanza per le conseguenze che tale diagnosi può comportare.

Se, da un lato, il solo criterio clinico non è di per sé sufficiente per una corretta diagnosi eziologica, è altrettanto vero che non sempre il riscontro "laboratoristico" di determinati parametri sierologici (IgM virus-specifiche) è indice infezione acuta o recente.

È raro il caso in cui si riesca a porre contemporaneamente una diagnosi clinica e virologica; spesso le due evenienze dissociano cronologicamente (indagini virologiche tardive rispetto all'insorgenza dei sintomi) o completamente (riscontro estemporaneo IgM virus-specifiche in assenza di qualunque segno clinico). Quest'ultima evenienza è quella che, oggi, si verifica con maggiore frequenza in conseguenza dell'uso routinario e indiscriminato della determinazione di IgM virus-specifiche resa possibile dall'ampia disponibilità di kit commerciali. Purtroppo, a tale diffusione di mezzi diagnostici non fa riscontro un altrettanto ampia diffusione di competenze e conoscenze per la corretta interpretazione dei risultati ottenuti, dal momento che la figura del virologo clinico, cioè di colui che in virtù della specifica formazione unisce la competenza laboratoristica a quella clinica, è praticamente inesistente in Italia.

Da indagini condotte su una popolazione adulta femminile di circa 8.000 soggetti di età compresa tra i 16 e i 40 anni, risulta che il 92,4% possiede anticorpi di classe G rosolia-specifici in conseguenza di un'infezione naturale.

Tali anticorpi sono evidenziabili mediante test ELISA a partire mediamente da 3-5 giorni dopo l'esantema, raggiungono rapidamente il picco e perdurano nel tempo.

La persistenza di IgG virus-specifiche è alla base dello screening per l'individuazione dei soggetti immuni (presenza IgG) e di quelli non immuni (assenza di IgG) e, quindi, potenzialmente rischio di contrarre l'infezione.

Poiché la presenza di IgG rosolia-specifiche è considerata generalmente protettiva, se ne deduce che quando una donna è positiva per questo tipo di anticorpi prima o in corso di gravidanza, non necessita di ulteriori controlli.

Diverso è invece il comportamento in caso di vaccinazione anti-rosolia dove si impone la determinazione delle IgG virus-specifiche a distanza di 2-3 mesi dalla vaccinazione ed è raccomandabile il controllo nel tempo del perdurare della immunità. Tale controllo è inoltre imperativo in tutte le donne in età fertile con in anamnesi una vaccinazione effettuata in età scolare onde procedere tempestivamente a una rivaccinazione in caso di documentata assenza di IgG virus-specifiche.

La diagnosi di infezione acuta di virus della rosolia si pone in modo inequivocabile mediante:

- l'isolamento del virus
- l'evidenziazione di sieroconversione, cioè della comparsa ex novo di IgG rosolia-specifiche.

Ciascuno di questi criteri, di per sé diagnostico, è peraltro di difficile riscontro.

L'isolamento del virus è possibile solo per un periodo alquanto limitato di tempo (alcuni giorni prima e dopo l'esantema) ed è affrontabile esclusivamente da laboratori di virologi propriamente detti (virtualmente inesistenti), mentre per la sieroconversione occorre disporre di due prelievi di sangue eseguiti il primo in fase acuta e il secondo a distanza di alcuni giorni.

Nella realtà, molto difficilmente il primo prelievo viene eseguito in modo così tempestivo da consentire di sorprendere una sieroconversione.



Nella migliore delle ipotesi si può assistere a un incremento del titolo anticorpale di IgG, criterio che può essere considerato diagnostico solo ed esclusivamente quando:

- 1) i due prelievi vengano esaminati contemporaneamente;
- 2) si evidenzino IgM rosolia-specifiche negli stessi campioni di siero.

Non è possibile comparare e, quindi, attribuire alcun significato diagnostico a variazioni dei valori di IgG ottenuti su campioni di siero esaminati separatamente.

Tanto meno è possibile comparare risultati ottenuti con test diversi (ELISA, emoagglutinazione, immunofluorescenza ecc.) nonché risultati ottenuti sia pure con uno stesso sistema (per es. ELISA) ma con kit diversi o in laboratori diversi.

Date le difficoltà sopra elencate di poter ottemperare agli unici criteri di per sé diagnostici, la diagnosi di infezione recente da virus della rosolia viene comunemente posta sulla base di una positività per IgM virus-specifiche.

Affinché tale positività sia effettivamente attribuibile a infezione acuta o recente da virus della rosolia, è essenziale che ne venga seguita la cinetica.

IgM Rosolia-specifiche sono evidenziabili, mediante sistemi ELISA a cattura, 1-3 giorni dopo l'esantema, raggiungono il picco entro 7 giorni e non sono più generalmente evidenziabili a distanza di 8-12 settimane. Si può attribuire valore diagnostico a un dato di positività per IgM virus-specifiche ottenuto esaminando un unico campione di siero solo ed esclusivamente quando vi sia contemporaneamente un sicuro dato anamnestico di rosolia clinicamente accertata. In tutti gli altri casi, la sola positività in IgM rosolia-specifiche non è di per sé indice di infezione recente o acuta e necessita di verifica, approfondimento e interpretazione. E' noto infatti come la determinazione di questo parametro sierologico sia particolarmente influenzata dalla presenza di fattori interferenti quali il fattore reumatoide o anticorpi anti-nucleo (da soli o in associazione) causa di risultati falsamente positivi.

E' stato inoltre accertato che false positività possono derivare in conseguenza del tipo di antigene utilizzato nei sistemi ELISA.

Il primo step, pertanto, in presenza di un risultato positivo per IgM Rosolia-specifiche (e, più in generale, virus-specifiche) è di escludere una possibile falsa positività. Qualora non si evidenzino fattori interferenti noti e, quindi, la positività IgM può effettivamente considerarsi come virus-specifica, occorre procedere all'interpretazione di tale risultato.

Sono sostanzialmente due le evenienze in cui si possono rinvenire IgM rosolia-specifiche senza che queste siano indice di infezione acuta o recente.

Il caso più frequente riguarda **un'anomala persistenza di questo tipo di anticorpi per un periodo di tempo** che può essere anche notevolmente lungo. In diverse esperienze tale persistenza è stata osservata in più casi per 2-3 anni dall'inizio del follow-up. L'unico modo per distinguere un'anomala persistenza da una fisiologica risposta IgM in conseguenza di un'infezione acuta è il confronto dei valori espressi come unità, indice, titolo o densità ottica ottenuti su sieri sequenziali esaminati contemporaneamente. Il rinvenire una presenza costante di IgM (indipendentemente dalla "quantità") senza significative variazioni nell'arco di 2-4 settimane depone per una persistenza di IgM che, pertanto, con estrema probabilità, non è indice di infezione contratta nel corso della gravidanza.

Ne consegue che, in questa evenienza, la gravidanza può continuare serenamente non essendosi mai documentato, nella nostra esperienza, alcun segno di infezione congenita virus della rosolia nel 100% dei neonati da madri con IgM persistenti esaminati alla nascita, sia dal punto di vista virologico (isolamento negativo), che sierologico (assenza di IgM rosolia-specifiche), e clinico-strumentale (obiettività ed esami specialistici negativi). Inoltre, è



opportuno aggiungere che non ha senso procrastinare o sconsigliare una gravidanza in donne in cui si sia documentata una persistente positività per IgM rosolia-specifiche dal momento che, anche in questo caso non è mai stata evidenziata trasmissione del virus della rosolia nei neonati esaminati.

La seconda evenienza in cui è possibile evidenziare IgM rosolia-specifiche in assenza di infezione recente si verifica in corso di **infezioni da altri virus**. È stato ripetutamente osservato che in alcuni pazienti a seguito di infezione primaria da citomegalovirus umano (HCMV) è possibile evidenziare una risposta IgM verosimilmente di tipo anamnastico cross-reattivo nei confronti di altri virus, rosolia inclusa.

Può pertanto succedere che una positività per IgM rosolia-specifiche sia la spia di un'altra infezione virale contratta in corso di gravidanza.

Oltre a HCMV anche in corso di infezione da parvovirus B19 si possono evidenziare IgM rosolia-specifiche. Occorre infine sottolineare che questo tipo di risposta eterospecifica può mimare, cineticamente, il comportamento tipico osservabile in conseguenza di infezione acuta da virus della rosolia rendendo particolarmente difficile la corretta interpretazione del dato sierologico. Da quanto sopra esposto si evidenzia come sia difficile, da un punto di vista esclusivamente sierologico, porre diagnosi certa di infezione da virus della rosolia in corso di gravidanza. D'altro canto, invece, esperienza insegna come sia drammaticamente semplicistico l'approccio interpretativo e risolutivo del problema: positività IgM anti-rosolia=infezione acuta o recente=interruzione di gravidanza.

La responsabilità di alcune autentiche tragedie ricade in egual misura sui ginecologi e sui laboratoristi.

I primi responsabili, innanzitutto, di richiedere la determinazione dello stato immunitario anti-rosolia solo quando la paziente ha già iniziato la gravidanza, i secondi di assenza di capacità critica nello scegliere kit diagnostici affidabili e di capacità interpretativa dei risultati. Responsabili, infine, gli uni della richiesta e gli altri della determinazione routinaria e indiscriminata di un parametro sierologico (IgM virus-specifiche) che per le insidie che comporta dovrebbe essere esclusivamente eseguito in casi di reali necessità e in laboratori di sicura competenza.

Diagnosi prenatale di trasmissione al feto

Una volta accertata la diagnosi di rosolia nella gestante, l'obiettivo primario da raggiungere sarebbe quello di poter accertare se l'infezione è stata trasmessa o meno al feto. Tale obiettivo può essere raggiunto, anche se spesso non in via di certezza, attraverso:

1. determinazione delle IgM specifiche sul sangue fetale, tenendo presente che queste possono non essere prodotte dal feto prima della 22a-23a settimana di gestazione;
2. isolamento virale dal liquido amniotico, metodo di cui non è ancora stata definita l'affidabilità e di cui dispongono solo pochi laboratori;
3. ricerca diretta di RNA o proteine virali nei villi coriali nonché nel liquido amniotico. In particolare la ricerca di RNA genomico mediante PCR è attualmente in corso di valutazione.

Diagnosi alla nascita

La validità e i limiti della diagnosi prenatale vengono verificati alla nascita mediante:

- α) determinazione delle IgM specifiche sul sangue del cordone ombelicale o del neonato;
 - β) isolamento virale dal neonato (urine, secreto naso-faringeo, feci, liquor) su colture cellulari.
- L'associazione dei due metodi consente in genere di porre diagnosi di certezza nel 100% dei casi. La percentuale dei neonati con infezione congenita che eliminano virus va



progressivamente decrescendo con l'età, approssimando il 100% alla nascita, il 50% a 3 mesi e il 10% a 9-12 mesi.

Reinfezioni

Casi sporadici di reinfezione da virus della rosolia sono stati segnalati in soggetti immuni sia per infezione naturale che, soprattutto, in seguito a vaccinazione. In rari casi, è stata anche documentata la risposta in IgM specifiche e la trasmissione al prodotto del concepimento, ma l'incidenza delle malformazioni fetali è sempre molto bassa.

Conclusioni:

1. La determinazione dello stato immunitario deve essere eseguita prima della gravidanza.
2. In caso di assenza di IgG virus-specifiche occorre procedere alla vaccinazione e al successivo controllo sierologico.
3. La donna con positività accertata per IgG rosolia-specifiche non necessita di ulteriori controlli.
4. La determinazione delle IgM rosolia-specifiche deve essere riservata a quei casi in cui i dati clinici, anamnestici o epidemiologici sono suggestivi per infezione o circolazione del virus della rosolia.
5. In caso di positività per IgM rosolia-specifiche, contattare sempre il laboratorio raccomandando di conservare il siero affinché i controlli successivi vengano eseguiti contemporaneamente sui campioni sequenziali.
6. Rassicurare la paziente e non avere fretta: in periodi non epidemici l'incidenza dei casi sporadici di infezione da virus della rosolia è di gran lunga inferiore al numero delle positività IgM anti-rosolia che si riscontra nel corso di screening routinari.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Anche se non indispensabile, è consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: Toxotest, Herpes Virus 1 e 2, Cytomegalovirus.

SANGUE OCCULTO

(Vedi esame delle feci).

SCOTCH TEST

Metodo: osservazione al microscopio	Campione: feci
Tempo di refertazione: 3 gg	

SHBG (SEX HORM. BINDING GLOB.)

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

La SHBG (Sex Hormone Binding Globuline) è una glicoproteina in grado di legare estradiolo, testosterone e diidrotestosterone. Il trattamento con estrogeni ed ormoni tiroidei provoca un aumento della concentrazione plasmatica di SHBG; la somministrazione di androgeni determina invece una diminuzione dei livelli. E' aumentata in pazienti con ipertiroidismo a differenza dei pazienti con resistenza periferica agli ormoni tiroidei che generalmente hanno livelli normali di SHBG. In questi casi il dosaggio dell'SHBG può essere utile come indice



della risposta periferica agli ormoni tiroidei. Nell'irsutismo idiopatico è spesso diminuita con conseguente aumento della frazione libera di testosterone.

La produzione di SHBG aumenta durante la gravidanza a causa dell'aumento di estrogeni e di ormoni tiroidei. Negli uomini l'ipoandrogenismo e la ginecomastia sono spesso associati ad alti valori di SHBG.

L'obesità sia maschile che femminile presenta un diminuzione dei livelli di SHBG.

SIDEREMIA

Metodo: ferrozine	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma eparinato)
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il ferro sierico viene misurato generalmente con metodi colorimetrici, dopo che il metallo ha formato un complesso con un colorante. La Sideremia è aumentata:

- nelle sindromi emolitiche;
- talassemiche,
- anemia perniziosa,
- aplasia midollare,
- anemia sideroblastica,
- emocromatosi primitiva,
- terapie trasfusionali prolungate,
- etilismo cronico,
- epatite acuta,
- cirrosi epatiche.

E' diminuita:

- nel ridotto apporto di ferro,
- per aumento delle richieste (gravidanza ed allattamento, ridotto assorbimento, perdita, malattie infettive, neoplasie, infarto miocardico acuto).
- nell'inflammazione acuta e cronica

Campione: può essere usato il siero; non possono essere usati campioni raccolti in EDTA, Citrato o Eparina. Il dosaggio non va eseguito su sieri emolizzati.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore. Sospendere i farmaci a base di ferro almeno 3-5 giorni prima del test:

- il desferol, ad una concentrazione superiore a 250 mg/fL, riduce il livello della sideremia;
- la penicillamina per ogni mg/dL ha un bias negativo dell'8% sul valore della sideremia;
- l'interferone per ogni 100 mg/dL ha un bias positivo di 20 µg/dL.

Esami collegati: Vitamina B12, Ferritina, Acido Folico, Emocromo, Transferrina Ferritina.



SODIO

Metodo: potenziometria indiretta – ematico elettrodi ionoselettivi - urine	Campione: 1 ml di siero – Urine 24h
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Sodio è un metallo alcalino monovalente assunto con la dieta ed eliminato per via renale, con il sudore e le feci.

E' il maggior catione dei fluidi extracellulari e il suo contenuto corporeo è regolato dai reni.

Bassi livelli di sodio possono aversi per:

- eccessive perdite urinarie
- diarrea
- M. di Addison
- tubulopatie renali

Alti livelli di sodio possono aversi per:

- severa disidratazione
- alcuni tipi di danno cerebrale
- coma diabetico
- eccessiva introduzione di sali di sodio

L'ipertrigliceridemia può fare diminuire i livelli sierici del sodio.

Un aumento invece può essere determinato da:

- corticosteroidi,
- metildopa,
- idralazine,
- reserpine,
- farmaci per la tosse,
- litio,
- vasopressina
- diuretici.

Campione: per il test può essere usato sia siero che plasma eparinato. Non possono essere usati prelievi da cateteri venosi eparinizzati.

Non eseguire il prelievo da una vena che sta ricevendo un'infusione.

Campioni che contengono Alcool Etilico in concentrazione superiore a 150 mg/dL hanno un bias positivo sui valori del Sodio.

Campioni con contenuto anionico anomale (ad esempio aumento del Lattato) possono portare ad un legame del sodio che fa diminuire i risultati.

Esami collegati: Magnesio, Cloro, Potassio, Calcio.

SOSTANZA D'ABUSO

Con il termine *droga* si intende una sostanza, naturale o sintetica, capace di modificare l'attività psichica. Il concetto di *droga d'abuso* è riferito comunemente all'impiego di ogni tipo di sostanza non in conformità con l'uso medico consigliato.

La determinazione delle sostanze d'abuso nei liquidi biologici pone problemi sia di interpretazione del risultato analitico sia di metodologia di laboratorio.



Infatti, se l'accertamento ha finalità prevalentemente clinico-diagnostica e di urgenza si dovranno privilegiare metodiche analitiche tali da garantire un'informazione in tempi rapidi e con grande sensibilità. Viceversa, se la finalità è prevalentemente medico-legale è evidente come la specificità della identificazione dell'analita sia elemento sostanziale ed irrinunciabile nella scelta della metodica.

Sostanza da accertare

Il National Institute of Drug Abuse (NIDA) degli USA ha nel suo protocollo l'accertamento degli oppiacei, della cocaina, della cannabis delle anfetamine e del metadone.

In questo protocollo è compresa anche la fenciclidina, sostanza di cui non si ha tuttavia notizia di uso significativo in Italia.

COCAINA URINARIA QUALITATIVA

Metodo: immunodiffusione	Campione: 10 ml di urine
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

E' presente nelle foglie della pianta di coca. L'uso illecito di questa sostanza nel mondo è aumentato. Essa viene comunemente introdotta nel naso mediante aspirazione.

Provoca nel consumatore uno stato di euforia e di indifferenza al dolore, un aumento dell'attività mentale, una diminuzione marcata dell'appetito ed una notevole azione antifatica. Questi effetti scompaiono molto presto e rimane uno stato di depressione, di apatia con il bisogno di prendere altra droga.

Solo una piccola percentuale di una dose di cocaina appare inalterata nelle urine; tale percentuale aumenta nelle urine acide.

Come metabolita principale si ritrova la benzoilcgonina che appare rapidamente, ma che scompare nel giro di 48 ore.

OPPIACEI URINARI (TEST QUAL.)

Metodo: immunodiffusione	Campione: urine
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il termine oppiaceo viene usato per designare un gruppo di sostanze chimiche, correlate strutturalmente e farmacologicamente alla morfina, che è il principale alcaloide dell'oppio.

L'oppio è il succo che si ottiene incidendo la capsula ancora verde, cioè non matura, del *papaver somniferum*. La capsula matura non contiene più sostanze stupefacenti.

Agli Oppiacei Naturali appartengono la morfina, la codeina, la tebaina. Tra i semisintetici la più importante è l'eroina. Tra i sintetici il più importante è il metadone. Essi provocano tolleranza e dipendenza fisica tali da arrivare a modificazioni della personalità, accompagnate da un decadimento delle condizioni generali, dimagrimento e calo dell'attività lavorativa. L'eroina è una polvere bianca e sotto questa forma viene spacciata. Il suo sale più usato è il cloridrato, che è molto solubile in acqua. Per questa caratteristica la via di introduzione nell'organismo più usata è quella endovenosa. Una volta assunta per e.v., l'eroina tende a scomparire rapidamente dall'organismo umano. Ha un'emivita di 2-3 minuti e dopo un'ora circa dalla somministrazione non si ritrova più nell'organismo come tale bensì sotto forma dei suoi metaboliti: la 6-monoacetilmorfina (MAM) e la morfina. E' stato chiaramente dimostrato che l'eroina dopo la somministrazione e.v., subisce una rapida deacilazione nel tessuto cerebrale in quanto, per la sua maggiore liposolubilità rispetto alla morfina, attraversa più



facilmente di quest'ultima la barriera ematoencefalica. A questa caratteristica si deve la maggiore tossicità dell'eroina rispetto alla morfina ed il suo effetto 5 volte superiore.

CANNABINOIDI-THC (QUAL.)

Metodo: immunodiffusione	Campione: urine
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

La canapa indiana è classificata tra le sostanze allucinogene, cioè tra quelle sostanze che provocano sensazioni visive ed uditive senza che vi sia un corrispondente ed adeguato stimolo esterno. Dalle inflorescenze della pianta si ottiene una resina viscosa di colore ambrato che, usata come tale ha il nome di *hashish*.

La *marijuana* si prepara mescolando le foglie ed i fiori della pianta ed è per questo che è molto meno attiva dell'*hashish*. L'uso di questi derivati della canapa indiana conduce ad uno stato euforico, caratterizzato da gaiezza e risate immotivate. Poiché i cannabinoidi sono altamente lipofili si accumulano nei grassi corporei e tale caratteristica giustifica i tempi molto lunghi di eliminazione urinaria osservati con queste sostanze. Una volta in circolo i cannabinoidi vengono trasformati rapidamente dagli enzimi epatici in numerosi metaboliti. Nell'uomo i 2/3 della dose assunta vengono escreti con le feci ed 1/3 con le urine, quasi interamente come metaboliti.

Cut-off e Valore soglia

Di fondamentale importanza nel dosaggio nei liquidi biologici delle sostanze d'abuso è la definizione di cut-off:

si intende un valore soglia sotto il quale l'analita è considerato negativo ovvero la concentrazione eventualmente presente è giudicata ininfluenza.

I cut-off potranno variare quando una risposta sia utilizzata ai fini epidemiologici oppure clinico-diagnostici oppure medico-legali.

E' bene dunque ricordare come il cut-off di un test stabilisca la concentrazione minima di sostanza che deve essere presente perché un campione sia considerato positivo e come la scelta del cut-off influenzi la positività del risultato in funzione del tempo trascorso dall'ultima assunzione di sostanza.

Infatti, ad esempio, nella determinazione dei cannabinoidi se il cut-off scelto è di 100 ng/mL si evidenzierà la sostanza d'abuso nello stesso soggetto che ha assunto una stessa quantità per 3/5 giorni, se invece il cut-off sarà scelto a 20 ng/mL la droga sarà evidenziabile per 8 e più giorni sempre nello stesso soggetto consumatore nel medesimo momento della medesima quantità.

Modalità di raccolta

Se si desidera che il prelievo avvenga in una stanza con la garanzia della privacy, il soggetto non deve avere accesso all'acqua, e deve entrare solo con gli indumenti indispensabili.

Dovrebbero essere definiti dei parametri obiettivi in grado di escludere una sofisticazione delle urine quali: la quantità, la temperatura (che deve essere in un range tra 32 e 36 gradi), il colore, il pH (che deve oscillare tra 4.5 e 8) ed il peso specifico.

Va ricordato come in particolare nel caso delle metodiche immunochimiche l'aggiunta di sostanze alle urine come cloruri, bicarbonati, succo di limone, detersivi liquidi, acqua ossigenata possano modificare il test negativizzandolo.

Significato ed interpretazione del test nel liquido biologico

Esito del test	significato chimico	significato clinico
Positivo	Il composto è presente nel liquido	Il composto è stato assunto, ma non se ne conoscono le modalità
Negativo	Il composto non è presente	Il composto non è stato assunto: * mai * in dose e con frequenza insufficiente in un periodo di tempo troppo lontano
Falso positivo	Il risultato è positivo * cut-off troppo basso * errore nella procedura	Il risultato positivo è attribuibile: * a sostanze normalmente presenti * farmaci o metaboliti interferenti
Falso Negativo	Il risultato è negativo: * cut-off troppo alto * sensibilità insufficiente * errore analitico	Il risultato è negativo: * diluizione delle urine * sofisticazione delle urine

STREPTO M TEST

Metodo: agglutinazione	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 4 gg	

STREPTOZYME

Metodo: agglutinazione	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 5 gg	

Note:

E' un test di agglutinazione mediata, entrato ormai nell'uso routinario di laboratorio, per la ricerca di anticorpi verso antigeni extracellulari (streptolisina O, ialuronidasi, streptochinasi, adenosin-nucleotidasi, Dnasi-B).

Pur non avendone ancora l'OMS autorizzato ufficialmente l'impiego, per la non completa standardizzazione metodologica, è da ritenere di grande utilità diagnostica l'associazione ASO-Streptozyyme.

T3 - TRIIODOTIRONINA

Metodo: MEIA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 6 gg	

Note:

La T3 (triiodotironina) è un ormone prodotto dalla tiroide, attivo nella sua forma levogira. I suoi livelli circolanti sono in rapporto di 1:60 con quelli della T4 (dalla quale deriva per circa l'80%, mentre solo il 20% è secreta dalla tiroide).

Nei soggetti normali meno dello 0.3% della T3 si ritrova libera. Le principali proteine sieriche leganti gli ormoni tiroidei sono:



- la globulina legante la tiroxina (TBG)
- la prealbumina legante la tiroxina (TBPA)
- l'albumina

Dal punto di vista degli effetti biologici la T3 è dieci volte più attiva della T4 sebbene la sua concentrazione nel plasma sia molto più bassa.

Alla nascita i valori della T3 sono più bassi di quelli osservati nell'adulto, ma entro 24 ore i valori si elevano e si mantengono elevati per tutto il primo anno di vita.

In molte condizioni patologiche in cui si ha un aumento della T4 si ha anche un aumento dei livelli sierici della T3, ma in alcune condizioni si ha una discrepanza fra i valori sierici della T4 e quelli della T3:

Dissociazione tra i livelli sierici della T3 e della T4

Rapporto T3/T4	Siero		Stato Metabolico	
	T3	T4		
>	>	N	Tireotossicosi Tireotossicosi da T3	Eutiroidismo Gozzo da carenza iodica
>	N	<		Tireotossicosi in terapia
>	>	<	eccessiva introduzione di T3	Gozzo da carenza iodica
<	<	N		Terapia con T3 Ridotta conversione T4 in T3 Malattie epatiche e renali Chetosi diabetica Traumi
<	N	>	gravi malattie non tiroidee con tireotossicosi	Neonati (prime 3 settimane di vita) Terapia con T4

I livelli di T3 aumentano nella gravidanza, durante terapia estrogenica, in corso di patologia tumorale estrogeno-secerne, assunzione di eroina e metadone

Possibile riscontrare un diminuito livello di T3 in corso di terapia con androgeni, glucocorticoidi, eparina, salicilati, anticonvulsivanti tipo fenitoina, sulfonamidi, antitiroidei.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Tireoglobulina, Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi antitireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, TSH, FT3, FT4.

**T4 - TIROXINA**

Metodo: MEIA	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA)
Tempo di refertazione: 6 gg	

Note:

Il T4 (tiroxina) è il principale ormone prodotto dalla ghiandola tiroidea.

Nel sangue periferico, attraverso un meccanismo di monodeiodinazione la T4 si trasforma in triiodotironina (T3) e composti metabolicamente inattivi come la T3 (Triiodotironina inversa).

La maggior parte della tiroxina presente in circolo è legata alle proteine sieriche, in particolare:

- alla thyroxine binding globulin o TBG,
- alla thyroxine binding prealbumin TBPA
- all'albumina.

Nel sesso femminile i valori sono leggermente più elevati di quelli del sesso maschile alla stessa età. Nel feto, nella prima metà della gestazione, i livelli di T4 sono indosabili o molto bassi. Tali livelli successivamente si elevano e raggiungono, nell'ultimo trimestre, valori simili a quelli dell'adulto.

Alla nascita, si ha un brusco e significativo aumento nella concentrazione sierica della T4, ma è transitorio. Tuttavia, fino al VI mese di vita, i livelli della T4 si mantengono a valori leggermente superiori a quelli dell'adulto.

Correlazione tra i livelli sierici di T4 e stato metabolico di eutiroidismoConcentrazioni sieriche di T4

ALTA	BASSA	NORMALE
Elevata TBG	Bassa TBG	Normale
Trattamento con D-T4	Terapia con T3	
Resistenza parziale agli ormoni tiroidei	Deficit di iodio	
Presenza di anticorpi anti-T4	Tireotossicosi in terapia	
	Tiroidite cronica	
	Gozzo congenito	
	Introduzione di farmaci	

Correlazione tra livelli sierici di T4 e stato metabolico di tireotossicosiConcentrazioni sieriche di T4

ALTA	BASSA	NORMALE
Iperitiroidismo	Introduzione eccessiva di iodio	Bassa TBG
Morbo di Basedow	Tireotossicosi da T3	Tireotossicosi da T3
Morbo di Plummer		carenza iodica
Adenoma tiroideo		introduzione
farmaci		
Tiroidite subacuta		



Eccesso di T4 esogeno o ectopico

Correlazione tra livelli sierici di T4 e stato metabolico di Ipotiroidismo
Concentrazioni nel siero di T4

ALTE	BASSE	NORMALI
Resistenza agli ormoni tiroidei	Insufficienza della tiroide a) Primaria Distruzione della ghiandola Grave deficit di iodio Difetti dell'ormonogenesi b) Secondaria Insufficienza ipofisaria c) Terziaria Insufficienza ipotalamica	Elevata TBG

I livelli di T4 aumentano nella gravidanza, durante terapia estrogenica, in corso di patologia tumorale estrogeno-secerne, assunzione di eroina e metadone.

Possibile riscontrare un diminuito livello di T4 in corso di terapia con androgeni, glucocorticoidi, eparina, salicilati, anticonvulsivanti tipo fenitoina, sulfonamidi, antitiroidei.
Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Tireoglobulina Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi antitireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, TSH, FT3, FT4.

TAS (TITOLO ANTISTREPTOLISINA)

Il test dell'antistreptolisina O (ASO o TAS titolo antistreptolisinico) è una metodica di neutralizzazione che dovrebbe essere effettuata quando è utile conoscere se il titolo antistreptolisinico è elevato oppure in aumento.

Per eseguire il test si mescolano diluizioni successive del siero in esame con una ben definita quantità di Streptolisina O. Dopo un appropriato periodo di incubazione, vengono aggiunti alla miscela eritrociti umani di gruppo 0 lavati e, dopo un ulteriore periodo di incubazione, le provette vengono esaminate per verificare la presenza di emolisi.

Il Titolo antistreptolisinico corrisponde alla più alta diluizione del siero capace di inibire completamente la lisi degli eritrociti da parte della streptolisina O

Dinamica della risposta anticorpale (senza terapia)

- aumento del titolo nella II settimana dopo l'infezione
- impennata dopo i sintomi clinici
- apice in V e VI settimana
- lento declino
- ritorno ai valori normali al IV-V mese

L'andamento della curva è simile anche per le semplici infezioni dell'orofaringe, ma con titoli più bassi.

Campione: siero.

Esami collegati: VES, Proteine della fase acuta, tampone faringeo per streptococco beta-emolitico, streptozyme.

**TEMPO DI PROTROMBINA (PT)**

Metodo: coagulometrico	Campione: plasma citratato
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Il Tempo di Protrombina (PT) è la misura del tempo necessario alla formazione del coagulo di fibrina quando al plasma citrato del paziente si aggiungono tromboplastina (ricombinante umana o estratta da vari tipi di tessuto di vari animali o umani) e calcio. Questo test misura l'attività coagulante del sistema "estrinseco", compresi fibrinogeno, protrombina, Fattore V, Fattore VII e Fattore X. E' largamente usato per stadiare pazienti con disordini congeniti ed acquisiti della coagulazione e per il controllo della terapia anticoagulante orale.

Espressione dei risultati del PT

- * in secondi (obsoleta, dipendendo dal tipo di reattivo in uso)
- * in attività percentuale
- * in ratio (PT del paziente / PT di un plasma di controllo)
- * in INR = (ratio)^{ISI}

A tutt'oggi l'unica maniera valida per esprimere il tempo di protrombina nei pazienti in TAO è l'INR (International Normalized Ratio) poiché questa maniera di esprimere il risultato tiene conto della sensibilità della tromboplastina (cioè del reattivo usato) alla carenza dei fattori Vit. K-dipendenti. Può essere allungato (e quindi con attività ridotta e INR aumentato) in caso di:

- carenza o alterazione congenita dei fattori (V, VII, X, protrombina),
- epatopatie,
- deficit di vitamina K,
- malattie autoimmuni soprattutto nel Lupus Anticoagulante
- paraproteinemie,
- amiloidosi.

Può essere accorciato in situazioni in cui vi è un aumento del F.VII e del Fibrinogeno (tipicamente accorciato in gravidanza).

Campione: Plasma anticoagulato con Citrato di sodio.

Importantissimo è che venga rispettato il rapporto tra sangue e anticoagulante nella provetta. Campioni che non rispettano questo rapporto non possono e non devono essere testati. Prelievi traumatici e l'eccessiva agitazione del prelievo possono alterare il test.

Esami collegati: Fibrinogeno, Antitrombina III, PTT.

TEMPO DI TROMBOPLASTINA PARZIALE ATTIVATA (APTT)

Metodo: coagulometrico	Campione: plasma citrato
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Per l'esecuzione di questo test vengono aggiunti al plasma povero di piastrine:

- fosfolipidi, che sostituiscono le membrane piastriniche, in quantità standardizzata;
- attivatori come il caolino, la celite, l'acido ellagico o altri attivatori anche di sintesi in maniera standardizzata (mentre nel PTT era il vetro della provetta che in maniera non standardizzata fungeva da attivatore);
- calcio.



Il test quindi è funzione della concentrazione solo dei Fattori della Coagulazione con l'esclusione del XIII e del VII (poiché membrane, attivati e Calcio sono apportati dai reattivi).

Esso può essere espresso:

in secondi (obsoleto, perché dipendente dal reattivo in uso);

in Ratio (Tempo del plasma del paziente/tempo di un pool di plasma normale).

Esso è usato nel controllo della terapia eparinica con un range terapeutico pari ad un Ratio di 1.5-2.5. Non essendo questo rapporto stato normalizzato come avvenuto per il PT (insomma non esistendo un INR per l'aPTT) si raccomanda che i Laboratori stabiliscano, mediante diluizioni scalari di eparina, il loro range terapeutico (variando questo in rapporto al reattivo in uso. L'aPTT risulterà allungato (e quindi con un Ratio aumentato) in presenza di:

- deficit dei Fattori della Via Intrinseca o Comune
- inibitori di questi Fattori
- fibrinogeno è basso
- FDP
- eparina
- LAC

E' aumentato quindi nell'emofilia A (fattore VIII) e B (fattore IX) ed altri difetti di sintesi dei fattori della coagulazione, nelle epatopatie, nei deficit di vitamina K, CID, malattie autoimmuni, paraproteinemie, amiloidosi. L'aPTT risulterà accorciato (e quindi con Ratio ridotto) quando:

- la venopuntura è stata difficoltosa
- il plasma contiene ancora piastrine (sangue non centrifugato per il tempo ed alla velocità necessari)
- il Fattore VIII è elevato

Campione: sangue anticoagulato con Citrato di sodio.

Non possono essere usati campioni emolizzati o lipemici.

Rispettare in maniera accorta il rapporto fra sangue ed anticoagulante nella provetta. Non possono e non devono essere usati campioni che non rispettino questo rapporto.

Non possono essere testati campioni raccolti da cateteri venosi. Prelievi traumatici possono falsare i risultati. L'eccessiva agitazione del campione puo' allungare il PTT.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: Fibrinogeno, Antitrombina III, PT, test di screening per LAC, Anticorpi Anti-Cardiolipina.

TEST DI COOMBS

Il Test Diretto dell'Antiglobulina (DAT), definito anche Test di Coombs Diretto, rivela, con l'uso di siero antiglobulina umana, la presenza di anticorpi o di complemento adesi alla superficie degli eritrociti. Inizialmente viene usato un siero polispecifico in grado di rilevare sia la presenza di IgG che di complemento e, in un secondo momento, si utilizzano reagenti monospecifici che reagiscono specificamente solo con le IgG o con singole frazioni del complemento. Il test diretto dell'antiglobulina mette in evidenza la presenza di anticorpi che si sono attaccati ai globuli rossi in vivo e si basa sul principio che il siero antiglobulina è in grado di rilevare queste cellule provocandone l'agglutinazione (facendole cioè aderire tra loro).

**TEST DI COOMBS DIRETTO**

Metodo: agglutinazione	Campione: sangue intero con EDTA
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

Rivela la presenza di anticorpi e/o di complemento:

- su globuli rossi fetali nella malattia emolitica del neonato
- su globuli rossi del ricevente nelle reazioni emolitiche trasfusionali
- su globuli rossi del paziente nelle anemie emolitiche autoimmuni
- su globuli rossi del paziente nelle anemie emolitiche autoimmuni farmaco-indotte

Il Test di Coombs Indiretto viene usato per svelare la presenza di autoanticorpi anti-IgG nel siero del paziente in esame. Per determinare se nel siero in esame siano presenti anticorpi si utilizzano come indicatori globuli rossi che possiedono un'ampia serie di antigeni eritrocitari.

TEST DI COOMBS INDIRETTO

Metodo: agglutinazione	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

Rivela la presenza di anticorpi della classe IgG:

- nel siero della madre durante la gravidanza in relazione alla comparsa di malattia emolitica del neonato;
- nel siero del ricevente prima della trasfusione (prova crociata maggiore);
- nel siero del donatore prima della trasfusione (prova crociata minore);
- nel siero del ricevente in caso di reazione emolitica trasfusionale.

E' stato dimostrato che circa il 6% dei pazienti anziani ospedalizzati sono positivi per il test di Coombs Diretto. Destrano, sangue intero o sue frazioni, mezzi di contrasto possono causare delle false positività. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

TESTOSTERONE**TESTOSTERONE PLASMATICO**

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 5 gg	

TESTOSTERONE LIBERO PLASMATICO

Metodo: immunoenzimatica	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Il Testosterone si forma dal colesterolo attraverso 2 possibili vie (delta 4 e delta 5) anche se la via delta 4 sembra quella più utilizzata nel testicolo umano.

Il testosterone è responsabile dei caratteri sessuali secondari del maschio.

Il testosterone è nella donna il principale androgeno circolante. E' secreto dall'ovaio e dal surrene, e questo rappresenta il 50% di quello presente in circolo, mentre per il restante 50% proviene dalla conversione periferica dell'androstenedione ed in minor misura dal DHEA



(deidroepiandrosterone). Il testosterone stimola la maggior parte dei tessuti androgeno sensibili come tale, ma in molti di questi tessuti, come nel follicolo pilifero, dopo conversione ad opera dell'alfa-reduttasi in diidrotestosterone. La maggior parte del testosterone circola legato alle proteine di trasporto (SHBG ed albumina). Una piccola parte è libera ed è disponibile a penetrare nelle cellule degli organi bersaglio.

Il testosterone presenta una variabilità nei livelli plasmatici legata ad un ritmo pulsatile e circadiano di escrezione. I livelli più elevati sono riscontrabili nelle prime ore del mattino.

Un aumento del testosterone è presente:

- nella pubertà precoce idiopatica o provocata da lesioni del sistema nervoso centrale,
- nei tumori surrenalici o nell'iperplasia surrenale congenita.

Livelli diminuiti o ai limiti bassi della norma si riscontrano:

- nella cirrosi epatica,
- durante la terapia estrogenica,
- nelle obesità marcate,
- in associazione ad alti livelli di LH,
- nell'insufficienza renale
- nella malnutrizione.

Campione: siero o plasma.

Tutti i farmaci interferenti con i livelli plasmatici di testosterone debbono essere interrotti 72 ore prima del test. Non è strettamente necessario il digiuno.

Esami collegati: FSH, 17-beta-Estradiolo, Progesterone, Prolattina, LH, DEAS, Androstenedione, DHT.

Il Testosterone Libero rappresenta la quota libera del testosterone circolante (circa l'1 %).

La concentrazione di testosterone libero in circolo può aumentare o per un incremento dei livelli di testosterone totale o per una diminuzione dei livelli di SHBG in condizioni quali acne, alopecia androgenetica ed irsutismo. Il testosterone presenta un ritmo pulsatile e circadiano di escrezione. I livelli più elevati sono riscontrabili al mattino.

La somministrazione di testosterone esogeno, estratti tiroidei, GH, citrato di clomifene e barbiturici porta ad un aumento dei livelli plasmatici.

Campione: siero o plasma.

Non è strettamente necessario il digiuno prima del prelievo, anche se un siero lipemico può interferire con i risultati del dosaggio.

Esami collegati: FSH, 17-beta Estradiolo, Progesterone, Prolattina, LH, Deas, Androstenedione, DHT, Testosterone.

TIBC (TOTAL IRON BINDING CAPACITY)

Con questo test si misura la capacità totale delle proteine sieriche di legare il Ferro. Si segue la stessa procedura usata per determinare la Sideremia, ma la misura viene effettuata dopo aver aggiunto un eccesso di Ferro per saturare tutti i siti di legame della transferrina e delle altre proteine. Si elimina quindi la quota di Ferro che non si è legata e viene eseguita quindi la misura della sideremia per determinare la quota di ferro legato.

La TIBC è aumentata in caso di:

- deficit di ferro

E' normale o bassa in caso di:

- anemia delle malattie croniche
- stato di malnutrizione



Campione: siero.

Esami collegati: Emocromo, Sideremia, Trasferrina, Ferritina, Proteine della fase acuta, VES.

TINE TEST

Per il Tine Test (reazione tubercolinica) viene utilizzato il PPD, un estratto proteico purificato dei corpi bacillari del *Micobacterium*, privo di azione tossica, e più attivo sul sistema immunitario. Il punto di inoculazione va esaminato 48 ore dopo l'effettuazione dell'esame.

Il test prevede una iniezione intradermica nell'avambraccio. Il paziente deve recarsi presso il laboratorio dopo 48-72 ore dalla iniezione per la valutazione della reazione (positiva o negativa). Durante questo periodo il paziente non deve lavare il punto del braccio dove è stata eseguita la intradermoreazione e deve evitare di applicarvi creme o pomate.

TIPIZZAZIONE HLA

Nell'uomo ed in tutti i vertebrati sono presenti sulla membrana cellulare delle glicoproteine, che svolgono un ruolo estremamente importante in una serie di funzioni biologiche altamente specializzate (e particolarmente sono coinvolte nel sistema immunitario).

Il complesso di geni che codificano queste glicoproteine prende il nome di Sistema Maggiore di Istocompatibilità (MHC) e nell'uomo viene definito HLA (Human Leukocyte system A).

Antigeni HLA di classe I

I prodotti dei geni di classe I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) sono espressi sulla superficie di tutte le cellule nucleate ad eccezione degli spermatozoi, dei neuroni, degli eritrociti maturi e del trofoblasto.

Antigeni HLA di classe II

Gli antigeni HLA di classe II, rappresentati dagli antigeni DR, DQ e DP, contrariamente ai precedenti, non hanno una distribuzione ubiquitaria, ma sono presenti solo su alcune cellule (come linfociti B, un sottogruppo di macrofagi, cellule di Langerhans, endotelio) in condizioni di quiescenza e compaiono su altre cellule in condizioni di attivazione, ad esempio sui linfociti T. La tipizzazione HLA trova applicazione:

- nella clinica trapiantologica d'organo,
- nell'accertamento della paternità dove, grazie all'elevato polimorfismo di questo sistema, permette un'attribuzione di paternità che supera il 95% ed è ormai accettata come prova decisiva anche in Italia,
- nello studio di associazioni con malattie, soprattutto quelle ad alterata reattività immunitaria.

Il grado di associazione fra l'antigene e la malattia viene definito rischio relativo e si ottiene confrontando la frequenza di un antigene in un gruppo di pazienti, non imparentati, con la frequenza del medesimo antigene in persone del medesimo gruppo etnico.

Questo coefficiente indica che chi possiede questo antigene ha una probabilità 2, 3, 4 volte maggiore di contrarre la malattia rispetto a colui che non lo possiede.

**Associazione tra alcune malattie e Sistema HLA**

Malattia	Antigene HLA associato	Rischio Relativo
Linfoma di Hodgkin	A1	1.4
Emocromatosi Idiopatica	A3	8.2
Morbo di Bechet	B5	6.3
Iperplasia surrenale congenita	B47	15.4
Spndilite anchilosante	B27	87.4
Sindrome di Reiter	B27	37.0
Uveite anteriore acuta	B27	10.4
Psoriasi volgare	Cw6	13.3
Morbo Celiaco	DR3	0.8
Diabete Insulino-dipendente	DR3	3.3
“ “	DR4	6.4
Morbo celiaco	DR3	5.8
Artrite Reumatoide	DR4	4.2
Anemia perniciosa	DR5	5.4

La tipizzazione di questo sistema è iniziata con metodiche sierologiche che sono a tutt'oggi ancora quelle maggiormente usate anche se sempre di più vengono usate tecniche di biologia molecolare.

TIPIZZAZIONE LINFOCITARIA

Per caratterizzazione immunofenotipica dei linfociti si intende quell'insieme dei procedimenti, basati sull'impiego di Anticorpi Monoclonali, che consentono di riconoscere e differenziare le popolazioni cellulari attraverso la dimostrazione di caratteristici corredi antigenici che ne connotano la derivazione (per es. linfociti B o T), il livello differenziativo (per es. Linfociti T maturi o immaturi), l'atteggiamento funzionale (per es. stato di attivazione, atteggiamento citotossico, secretorio).

Le tecniche di caratterizzazione immunofenotipica possono essere tutte ricondotte a 3 principali:

- immunocitochimica;
- immunoistochimica;
- immunofluorescenza.

Questa è la tecnica di elezione per la caratterizzazione di cellule in sospensione e quindi soprattutto per l'individuazione dell'immunofenotipo espresso sulla membrana delle cellule del sangue periferico e/o del midollo in corso di malattie linfoproliferative e mieloproliferative leucemiche. E' la metodica di gran lunga più usata nei laboratori di analisi in quanto caratterizzata da un'elevata sensibilità e dalla possibilità di lettura automatica in **citometria**. Una tipizzazione linfocitaria eseguita con il minimo dei marcatori deve comunque fornire:

- la valutazione della popolazione T linfocitaria totale (marcatori pan-T, ad esempio CD3),
- la valutazione della popolazione B linfocitaria totale (marcatori pan-B, ad esempio CD19 o CD20),
- la valutazione della popolazione T Helper (CD4),
- la valutazione della popolazione T Suppressor (CD8),
- la valutazione della popolazione NK (CD16 o CD56),



- la valutazione dei Linfociti T attivati (CD3DR o CD8DR).

Campione: sangue anticoagulato con EDTA

altri liquidi biologici (preferibilmente raccolti in provetta con EDTA)

Interferenze più comuni che possono inficiare la conta assoluta delle popolazioni linfocitarie sono:

- mancata lisi dei globuli rossi
- presenza di eritroblasti (che inficia soprattutto le conte su sangue midollare)
- presenza di macrotrombociti

Esami collegati: emocromo, anti-HIV, test per le sindromi mononucleosiche.

TIREOGLOBULINA

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

La Tireoglobulina è il maggior componente della colloide contenuta nei follicoli tiroidei. E' una glicoproteina di 660.000 D. Fino ad alcuni anni fa si riteneva che la Tireoglobulina osse presente unicamente nella tiroide. Recentemente la messa a punto di sensibili tecniche RIA ha permesso di evidenziare la presenza in circolo della tireoglobulina sia in consizioni normali che in varie forme di patologia tiroidea.

I valori tendono ad essere leggermente più elevati nelle femmine che nei maschi. Nel periodo neonatale e durante il terzo trimestre di gravidanza i valori sono circa 4-5 volte più elevati di quelli osservati negli adulti e si mantengono elevati fino all'inizio dell'adolescenza.

L'esistenza di una correlazione positiva tra livelli sierici di Tg e TSH indica, inoltre, che la secrezione ipofisaria di TSH rappresenta un importante fattore di controllo nella secrezione della Tg.

Condizioni che determinano un aumento dei livelli sierici di Tireoglobulina

MEDIATO DAL TSH

Ipertirotropinemia acuta e transitoria

Stimolazione cronica

- a) deficit di iodio
- b) gozzo endemico
- c) somm. Sostanze gozzigene

Tiroide linguale

Adenoma ipofisario TSH-secerne

Resistenza agli ormoni tiroidei

Deficit di TBG

NON MEDIATO DAL TSH

Stimolatori della tiroide: IgG

Traumi tiroidei:

- a) agoaspirato
- b) interventi chirurgici sulla tiroide
- c) radioterapia con I¹³¹

Secrezione anomala

Noduli tiroidei:

- a) tossici
- b) non tossici
- c) gozzo multinodulare

Tumori della tiroide

Tiroidite subacuta

Insufficienza renale

Condizioni che determinano una diminuzione dei livelli sierici di Tireoglobulina**Secrezione di TSH:**

somministrazione di ormoni tiroidei

Diminuita sintesi di Tg**Atireosi:**

a) postoperatoria

b) congenita

Difetto di sintesi

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Calcitonina, TPA, Anticorpi antimicrosomiali, Anticorpi antitireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, T4, TSH, FT3, FT4.**TOXOTEST****TOXOPLASMOSI (IGM E IGG QUANT.)**

Metodo: ELFA	Campione: 1 ml di siero non emolizzato
Tempo di refertazione: 3 gg	

TOXOPLASMOSI P.C.R.

Metodo: PCR	Campione: 7 ml sangue + sodio citrato, sangue fetale, liquido amniotico in contenitore sterile a 4°C
--------------------	---

Note:

Il *Toxoplasma gondii* è un protozoo intracellulare. E' endemico nei gatti ed è escreto in urine e feci. L'uomo può essere facilmente esposto alle cisti, in particolare se possiede animali domestici. Nelle cellule, dove penetra attivamente, il toxoplasma si moltiplica fino a rompere la membrana cellulare, oppure si incista in particolari tessuti (muscoli striati, utero, cuore, cervello) in formazioni rotondeggianti.

EPIDEMIOLOGIA

L'infezione toxoplasmica, molto diffusa nell'uomo, ha una distribuzione pressoché cosmopolita e relativamente uniforme; essa varia con l'età e con il Paese di appartenenza, essendo strettamente correlata al consumo di carne cruda: 6,2% di positività nella popolazione cinese di Hong-Kong che consuma carne di maiale a piccoli pezzi e accuratamente cotta, sino oltre il 90% nella popolazione parigina che predilige la carne cruda. Anche in Italia l'indice di immunizzazione varia per età e area esaminata; nell'età adulta la media è del 52% (Genova 40%; Napoli 65%).

In USA l'incidenza è mediamente più bassa che in Europa; da uno studio risulta che tra le reclute dell'esercito americano la percentuale di positività è del 19%. Ciò sembrerebbe legato alle rigorose misure di prevenzione per la trichinellosi, cui va aggiunta l'abitudine di quella società di nutrire i gatti domestici con cibo in scatola.



La via più frequente di penetrazione del toxoplasma nell'uomo è quella alimentare, per ingestione di carne infetta poco cotta contenente cisti tissutali; meno frequente è l'ingestione di oocisti sporozoitiche disseminate nel terreno. Le altre vie sono parenterali: la naturale è la transplacentare da infezione toxoplasmica primaria in corso di gravidanza. Sono state anche descritte la via trasfusionale e quella da trapianto di organo (cuore), peraltro abbastanza rare. Non esistono epidemie *sensu stricto* di toxoplasmosi ma esposizione comunitaria alla stessa fonte di infezione, di regola alimentare.

STORIA NATURALE DELL'INFEZIONE TOXOPLASMICA

In contrasto con la grande diffusione dell'infezione toxoplasmica, i casi clinicamente espressi sono assai rari. Alla penetrazione di *T gondii* segue parassitemia con disseminazione del protozoo in tutti i distretti. Alla risposta immunitaria segue la scomparsa dei parassiti dal circolo. Sopravvivono cisti tissutali a vita letargica per lo più cerebrali - che non producono danni all'ospite, ma che con la loro occasionale rottura concorrono a mantenere lo stato di immunità permanente.

MANIFESTAZIONI CLINICHE

L'infezione acquisita dell'adulto immunocompetente è abitualmente asintomatica. Per motivi attualmente oggetto di ipotesi, possono verificarsi manifestazioni cliniche, di regola a scarso rilievo, la cui espressione più evidente è la linfopatia di Siim, di regola latero-cervicale, con evoluzione alta guarigione spontanea. Sono note anche altre manifestazioni, rare con interessamento d'organo e con naturale tendenza alla risoluzione spontanea, corioretinite inclusa, pur con i gravi esiti dovuti alla nobiltà di questo tessuto. Nei soggetti immunodepressi, invece, le manifestazioni possono essere gravissime. Tra queste domina la toxoplasmosi cerebrale che può rappresentare la prima manifestazione di AIDS conclamato.

TOXOPLASMOSI CONGENITA

L'infezione toxoplasmica contratta prima del concepimento conferisce alla donna immunità permanente contro il rischio di partorire un bambino affetto da toxoplasmosi. Eccezioni a questa regola sono state recentemente osservate in gravide con deficit immunitari o in soggetti immunocompetenti con linfopatia toxoplasmica periconcezionale.

L'infezione contratta durante la gravidanza può essere trasmessa al feto durante la fase parassitemica mediante passaggio transplacentare diretto del protozoo oppure differito, in seguito a rottura dilazionata di cisti tissutali eccezionalmente presenti nel tessuto placentare.

I rischi dell'infezione fetale variano con l'età della gestazione e verosimilmente con le condizioni immunologiche della gravida. Nelle infezioni periconcezionali (fino alla 6^a settimana di gestazione) il rischio di passaggio del parassita al prodotto di concepimento è dell'1-2%. Esso sale al 15-20% nel periodo 7a-24a settimana di gestazione, aumentando gradualmente dalla 25a al termine sino al 75%. Il rischio globale è del 60%.

Anche il tipo delle manifestazioni varia in relazione al momento dell'infezione fetale: nel primo trimestre il passaggio di *T. gondii* provoca di regola aborto per i gravi danni arrecati al feto. Nel secondo trimestre, invece, possono conseguire lesioni compatibili con la vita ma funzionalmente gravi: triade di Bamatter (idrocefalo, calcificazioni endocraniche, corioretinite), lesioni oculari isolate, turbe neurologiche. Dalla 25a settimana di gestazione al termine le conseguenze dell'infezione toxoplasmica sono assai ridotte per una maggiore capacità del feto di difendersi (incremento significativo del passaggio transplacentare delle IgG specifiche materne, migliore strutturazione fetale), pur persistendo il rischio di sequele neuro-psichiche e/o della corioretininite isolata a comparsa tardiva.

DIAGNOSI DI LABORATORIO



La diagnosi è agevole nella comune diagnostica clinica a esclusione della corioretinite che può richiedere coinvolgimenti specialistici.

INDAGINI IN GRAVIDANZA

Semplici per lo screening pregravidico, volto a definire i soggetti immunizzati da quelli suscettibili, le indagini in gravidanza sono anche semplici nel cogliere la sieroconversione nella gravida suscettibile seguita cadenzialmente durante la gestazione. L'indagine può divenire molto complessa nella donna che si presenta al microbiologo per la prima volta in gravidanza. Ciò purtroppo è la regola, malgrado le campagne informative. Allora la diagnosi può presentarsi ardua e il vero nodo da sciogliere è stabilire, con i test di laboratorio disponibili, se la gravida, risultata sieropositiva, si è infettata in gravidanza, ponendo particolare attenzione nel rilevare se la sieroconversione è avvenuta tra la 7a e la 24a settimana, per i maggiori rischi dell'infezione diretta cui può andare incontro il feto durante tale periodo. Per raggiungere tali scopi, questa diagnostica si è molto affinata diventando quasi una palestra di metodiche il cui elenco è amplissimo, poco meno di un indice di un libro di sierologia. A tutt'oggi, però, il campo rimane dominato dalla sieroimmunologia tradizionale, per la quale il risultato va espresso per le IgG in *Unità Internazionali* - indicandone il metodo - e per le IgM in *assenti o presenti* (eventualmente quantizzate).

Poiché è la diagnosi di laboratorio che provoca l'applicazione del protocollo previsto per la gravidanza a rischio, è su di essa che dobbiamo concentrare tutte le nostre attenzioni.

È noto che la diagnosi di fase iniziale dell'infezione toxoplasmica è imperniata sulla dimostrazione nel siero delle IgM specifiche, considerate a tutt'oggi il marcatore della fase acuta - in analogia a qualsiasi altra infezione - secondo la nota sequenza di:

- comparsa delle IgM entro una settimana dall'infezione, seguita, dopo alcuni giorni, dalle relative IgG;
- scomparsa delle IgM entro qualche settimana-tre mesi;
- incremento con caratteristica impennata bimestrale e plateau delle IgG che si riducono molto lentamente, persistendo nel tempo.

L'osservazione di questo modello diagnostico, però, ha nel tempo dimostrato che non sempre le IgM si comportano, almeno nei confronti dell'infezione toxoplasmica, secondo queste regole. Ciò ha creato al microbiologo seri problemi tecnici e interpretativi.

PRESENZA DELLE IGM: PROBLEMI TECNICI E INTERPRETATIVI

I problemi tecnici relativi ai falsi reperti negativi (competitività IgG/IgM nella fase tardiva della risposta immunitaria di tipo primario e nel feto e neonato per l'interferenza delle IgG materne) e ai falsi reperti positivi (presenza del fattore reumatoide - IgM aspecifiche -) sono stati risolti con l'uso dei metodi a cattura utilizzando toxoplasmi interi.

Ben più importanti sono risultati i problemi di natura interpretativa verso alcuni ingannevoli reperti sierologici di seguito elencati.

1. *Riscontro di IgM specifiche in presenza di IgG specifiche.* Questa condizione, che di regola testimonia la fase esordiente dell'infezione toxoplasmica, può essere ingannevole per la dimostrata non rara persistenza delle IgM, ben al di là della fase acuta dell'infezione, conseguenza della sensibilità raggiunta dalle tecniche. Significativa presenza di IgM specifiche può riscontrarsi sino a 18 mesi dall'inizio dell'infezione toxoplasmica (IgM residue). Ne deriva che la presenza di IgM non è di per sé sufficiente per affermare che si tratti di infezione toxoplasmica acuta.

2. *Presenza di IgG specifiche ad alto titolo in assenza di IgM specifiche.* Il citato perfezionamento delle tecniche, che ha ampliato il tempo di rilevamento delle IgM, ha finito



per assegnare, in loro assenza, ai titoli elevati di IgG, specie se con cinetica piatta, un'espressione di reattività clinicoimmunologica individuale più che di indice di infezione recente. Per queste ragioni appare oggi infido considerare indice di infezione esordiente una sierologia con IgG ad alto titolo e IgM assenti. Tuttavia, se tali reperti vengono rilevati in un esame effettuato per la prima volta dopo il quarto mese di gravidanza, non può escludersi un'infezione primaria recente (post-concezionale): la donna va informata e il nascituro ritenuto a rischio.

3. *Presenza di IgM specifiche in assenza di IgG specifiche.* Due recenti segnalazioni riferiscono di singoli casi di gravide con IgM anti-*T. gondii* non seguite dalla comparsa delle relative IgG. Ambedue le donne hanno partorito un bambino non infetto e in entrambe le IgM specifiche sono scomparse, tornando la sierologia completamente negativa dopo il parto

La presenza di queste IgM, che devono oggi essere considerate naturali - prodotte cioè naturalmente, non sotto stimolo di antigeni toxoplasmici -, era stata già osservata nel passato da Desmont. È dunque accertato che vi sono soggetti, non infettati, in grado di produrre IgM reattive verso determinati antigeni del parassita, talora così attive da positivizzare i metodi della sierologia classica: questi casi secondo Desmont non sono infrequenti. Ciò sottolinea che la presenza di IgM non seguita dalla comparsa di IgG specifiche deve fare escludere la reale esistenza di infezione toxoplasmica.

Quanto detto dimostra ampiamente che la presenza di IgM anti-*T. gondii* nella gravida non può di per sé essere considerata sicuro segno di infezione toxoplasmica esordiente. In effetti, pare a noi opportuno riconoscere e classificare le IgM anti-*T. gondii* come:

- α) specifiche, proprie cioè della fase esordiente,
- β) residue, qualora persistano a lungo,
- γ) naturali, se reagiscono con alcuni antigeni toxoplasmici senza che il soggetto abbia contratto infezione toxoplasmica. Oltretutto, proprio in gravidanza, queste presenze di IgM naturali sembrerebbero essere maggiori.

Ne deriva che la funzione di "marcatore della fase acuta dell'infezione toxoplasmica", tradizionalmente attribuita a queste Ig, viene oggi fortemente infirmata perché fonte di molti errori interpretativi.

POSSIBILITÀ DIAGNOSTICHE ODIERNE NELLA DEFINIZIONE DELLA FASE ACUTA DELL'INFEZIONE TOXOPLASMICA.

Per una migliore definizione della fase esordiente dell'infezione toxoplasmica, si sono cercate vie nuove, utilizzabili nella comune routine. Ci riferiamo alla determinazione delle IgA e alla misura dell'avidità delle IgG anti-*T. gondii* che sembrerebbero essere marcatori migliori dell'infezione toxoplasmica primaria per le ragioni di seguito elencate.

Determinazione delle IgA:

- a) studi sperimentali ed epidemiologici hanno svelato presenza delle IgA specifiche in tutti i casi di infezione toxoplasmica primaria, mentre sono risultate di regola assenti nelle infezioni croniche e costantemente assenti nei soggetti sieronegativi. Esse non sembrerebbero soffrire di competitività con le IgG nei sistemi con antigene in fase solida;
- b) le IgA specifiche, secondo la nostra esperienza comparirebbero leggermente più tardi delle IgM, mai prima dell'esordio delle IgG, con presenza di rado superiore ai tre mesi, eccezionale sino sette mesi;
- c) non esistono a tutt'oggi segnalazioni di anticorpi naturali di tipo IgA;
- d) le IgA non passano il filtro placentare.

Misura dell'avidità delle IgG:



È una metodica basata sul principio secondo cui le IgG specifiche prodotte nella fase esordiente della risposta immunitaria primaria sono poco avida e facilmente distaccabili dall'antigene a differenza di quelle prodotte nella fase consolidata della risposta immunitaria, più avida e meno distaccabili. L'utilizzazione di questa tecnica EIA nell'infezione toxoplasmica ha confermato che tale ridotta avidità è rilevabile solo nella fase esordiente dell'infezione toxoplasmica. Vanno considerati valori probativi di infezione esordiente quelli con IgG avida inferiori al 15%.

Le indagini nel feto

Le indagini nel feto consistono nella amnio-funicolocentesi dopo la 20^a settimana di gestazione per l'accertamento dell'avvenuta infezione toxoplasmica fetale attraverso test specifici (determinazione delle IgG, IgM, IgA specifiche, coltura di *T. gondii* su linea cellulare con relativa identificazione rapida, tecniche di Polymerase Chain Reaction) e test aspecifici (conta dei leucociti, piastrine, eosinofili, determinazione delle IgM totali, gamma-GT, LDH). Tutto ciò è oggi possibile per l'apporto prezioso dell'ecografia nella diagnosi prenatale che consente prelievi fetali in utero, in accettabili condizioni di sicurezza.

Le indagini nel neonato

Follow-up sierologico nei primi 15-18 mesi nel soggetto sano. Programmazione di ulteriori controlli in caso di manifestazioni cliniche.

E' pertanto indispensabile che il microbiologo partecipi attivamente alla soluzione del quesito formulando una corretta diagnosi di laboratorio che emerge da una competente interpretazione dei risultati (quantizzati!) correlati alle note informative sulla paziente. Premessa fondamentale è la conoscenza da parte del microbiologo del significato e dei limiti delle tecniche usate che devono essere standardizzate e sottoposte a Controllo di Qualità. In questo spirito ci sembra lecito suggerire, per la donna esaminata per la prima volta in gravidanza, la seguente progressione analitica che ha come base la determinazione delle IgM e la titolazione delle IgG.

1. Se le IgM risultano negative certe (raccomandato il sistema a cattura) non occorre procedere a ulteriori indagini, potendosi ragionevolmente escludere la fase esordiente dell'infezione. Se le IgG presenteranno titolo elevato, esso andrebbe interpretato più come reattività individuale allo stimolo antigenico che come indicatore di infezione recente, con prudente riserva se l'esame è stato effettuato per la prima volta dopo il terzo mese, nel qual caso il feto va considerato a rischio.

2. In caso di presenza contemporanea delle IgM e delle IgG, si può ricorrere allo studio della cinetica delle IgG su doppio prelievo intervallato da 2-3 settimane o, meglio, eseguire sul primo campione la determinazione delle IgA e dell'IgG-AV: la positività di uno o di entrambi i test deporrà per la fase iniziale dell'infezione. L'uso preliminare del test per le IgA potrebbe, se positivo, evitare la determinazione del più complesso test dell'IgG-AV.

3. Nel caso di IgM presenti, di IgA assenti e dell'IgG-AV negativo, l'insorgenza dell'infezione potrà essere datata a oltre tre mesi.

4. Nel raro caso di IgM presenti e di IgG assenti, ripetere l'esame dopo 2-3 settimane: se le IgG risulteranno ancora mancanti, saremo sicuramente in presenza di IgM naturali.

Una volta sospettata e/o accertata l'avvenuta infezione toxoplasmica nella gestante, va applicato il protocollo di prevenzione della toxoplasmosi fetale che prevede l'inizio del trattamento con spiramicina e l'avvio della diagnostica fetale. Il trattamento con spiramicina,



pur non influenzando un'eventuale fetopatia toxoplasmica già in atto, deve essere tempestivo perché in grado di abbattere il rischio di infezione fetale dal 60 al 23%.

Per quanto riguarda la diagnostica fetale si calcola che, con l'impiego combinato dell'ecografia quindicinale e de test ematici specifici e aspecifici previsti, il grado di sensibilità nella diagnosi fetale arriva al 92%, 100% secondo alcuni autori con l'utilizzazione della PCR.

Campione: siero.

Il siero non deve venire inattivato con il calore in quanto può dare risultati falsamente positivi. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: Herpes Virus 1 e 2, Rubeotest, Cytomegalovirus.

TPA

Metodo: ELISA	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 8 gg	

Note:

Il TPA (Antigene Polipeptidico Tessutale) è una proteina di 43000 dalton. Diversi tipi di tumore possono produrre TPA:

- cancro della mammella,
- ovaio,
- polmone,
- tumori dell'apparato digerente,
- vie urinarie.

Il TPA più che rappresentare un marcatore specifico di una patologia tumorale e' un indice di proliferazione cellulare. Il suo aumento è correlato alla velocità di accrescimento tumorale più che alla massa tumorale. Pertanto il TPA è utile nel follow-up di pazienti con tumori già accertati più che nella fase diagnostica. Un aumento del TPA può essere presente anche in malattie non neoplastiche quali la cirrosi epatica, le infezioni del tratto biliare, epatiti in genere (soprattutto alcoolica), infezioni del tratto respiratorio, infezioni virali, gravidanza.

E' preferibile sospendere il fumo 72 ore prima del test.

Esami collegati: CEA, Ca19-9, Alfafetoproteina, PSA, Free-PSA.

TPHA

Metodo: emoagglutinazione	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 4 gg	

Note:

Il TPHA (Troponema Pallidum Haemoagglutination Assay) è un test diagnostico che sfrutta la reazione di fissazione del complemento per la diagnosi di sifilide. Si positivizza intorno alla decima giornata dalla comparsa del sifiloma. Di semplice esecuzione, viene considerato il test di screening per eccellenza, unitamente alla VDRL, in quanto è un metodo sensibile e specifico che si negativizza molto tardivamente e talora mai.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Campione: siero.

(vedi VDRL per le combinazioni di questi 2 test nella diagnosi di sifilide).

Esami collegati: VDRL, FTA-ABS.



TRANSAMINASI

AST E ALT

Metodo: enzimatico sec. IFCC	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

Le Transaminasi GOT (AST) e GPT (ALT) sono enzimi localizzati principalmente nel cuore e nel fegato. Sono aumentati nelle:

- miocardiopatie,
- infarto miocardico acuto,
- miocarditi,
- pericardite,
- insufficienza cardiaca,
- epatopatie.

Gli epatociti sono le uniche cellule con alto contenuto di GPT (ALT); reni, cuore, muscoli scheletrici ne contengono quantità minori e livelli ancora pi bassi sono contenuti nella milza, nel pancreas, nei polmoni e negli eritrociti. La GOT (AST) è presente in quantità notevoli nel fegato, ma anche nel miocardio e nel muscolo scheletrico. Di conseguenza la GPT (ALT) è un indice abbastanza specifico di danno epatico.

Se la GPT (AST) è più elevata della GOT (ALT) normalmente si ritiene che si tratti di una Epatite Acuta. Molti farmaci, specialmente se epatotossici e nefrotossici, possono fare aumentare i livelli della GOT (AST)

Campione: può essere usato siero o plasma eparinato. Non usare plasma anticoagulato con EDTA o Citrato.

Non deve essere usato plasma emolizzato.

Campioni con elevato contenuto di proteine e soprattutto Ig mieloma possono avere un bias positivo sui risultati attesi. Campioni con elevato contenuto di Bilirubina possono avere un bias negativo sui risultati attesi. I metodi di misura impiegati attualmente sono talmente precisi da consentire, nell'ambito di programmi di disintossicazione, di interpretare aumenti modesti come Indice di una recente ingestione di alcool. Attualmente il dosaggio della GPT (ALT) è impiegato anche come test di screening per escludere l'esistenza di un'epatite in donatori di sangue. Per il dosaggio della GPT si raccomanda l'astensione dall'alcool per almeno 24 ore prima del test.

Esami collegati: Bilirubina, gamma-GT, Anticorpi Anti Virus Epatite A, Anticorpi Anti Virus Epatite B, Anticorpi Anti Virus Epatite C.

TRANSFERRINA

Metodo: immunoturbidimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

La transferrina è una glicoproteina, che migra elettroforeticamente nella regione β -1, con un p.m. tra 70.000 e 96.000 D, caratterizzata da funzioni di trasporto per diversi metalli (rame, cromo, manganese, cobalto, ma soprattutto, ferro). Essa viene sintetizzata negli epatociti e, in misura minore, nelle cellule del SRE, nelle ghiandole sottomandibolari, mammarie, ovaio e testicolo. La molecola proteica è bilobata, ed ogni lobo contiene un sito di legame per una



molecola di Ferro trivalente. Ha un'emivita plasmatica abbastanza breve (circa 10 giorni) e per questo la sua misura può essere utilizzata per la determinazione dello stato nutrizionale.

E' aumentata:

- nella gravidanza,
- nell'uso di contraccettivi orali
- nelle anemie sideropeniche,
- siderocromatosi.

E' diminuita:

- nell'età neonatale,
- nell'età senile,
- nelle condizioni di ipoprotidemia (proteinurie non selettive),
- in rare condizioni di trasferrinemia congenita.

Saturazione della Trasferrina

Non è misurabile direttamente, ma si può ottenere mediante il seguente rapporto:

$$\text{Percentuale di saturazione} = \frac{\text{Sideremia} \times 100}{\text{TIBC}}$$

I valori normali della saturazione della transferrina sono: 20-45%.

E' ridotta in caso di:

- deficit di ferro
- malattie croniche.

E' aumentata in caso di:

- anemia sideroblastica
- emocromatosi
- emolisi intravascolare

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Da tener presente la notevole variabilità circadiana. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: Ferritina , Sideremia, Vitamina B12, Emocromo, Acido Folico.

TRIGLICERIDI

Metodo: enzimatico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 2 gg	

Note:

I trigliceridi vengono determinati misurando la quantità di glicerolo liberato in seguito a distacco (per idrolisi) degli acidi grassi. I trigliceridi sono aumentati per cause esogene, da introduzione eccessiva di alcoolici, glucidi e lipidi. Sono aumentati inoltre per deficit familiare di lipasi lipoproteica, malattia congenita evidente già nei primi anni di vita ed endogena familiare, malattia autosomica dominante con aumento della VLDL.

Per la maggior parte dei pazienti con valori di trigliceridi superiori a 90 mg/dL, esiste l'indicazione assoluta al trattamento per prevenire il rischio di pancreatite acuta. Non si sa con certezza se e a partire da quale concentrazione l'ipertrigliceridemia sia associata ad un aumento del rischio coronarico. Possono fare aumentare i valori ematici dei trigliceridi:

- alcool,



- colestiramina,
- corticosteroidi,
- colestipol,
- contraccettivi orali,
- preparazioni di tiroide,
- estrogeni,
- furosemide,
- miconazolo.

Fanno diminuire i livelli di trigliceridi:

- clofibrati,
- eparina,
- pergonal,
- androgeni,
- niacina,
- steroidi anabolizzanti
- acido ascorbico

Astensione dal bere alcoolici 24 ore prima e di cibo 12 ore prima del test. Sospendere qualsiasi terapia con farmaci interferenti con il dosaggio.

Campione: possono essere usati siero e plasma anticoagulato con EDTA ed Eparina.

Esami collegati: Colesterolo, Colesterolo HDL, Colesterolo LDL, Lipidogramma.

TRITEST

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero (è possibile anche l'uso di plasma EDTA o eparinato)
Tempo di refertazione: 6 gg	

Note:

Il Tritest è la valutazione computerizzata della probabilità di anomalie cromosomiche (Down) e di difetti del tubo neurale calcolato mediante i dosaggi sierici di:

- alfafetoproteina,
- beta-HCG,
- estriolo libero.

L'esame prende in considerazione anche l'età materna ed i parametri biometrici ecografici fetali. Possibilità di falsi positivi e negativi. Il paziente va informato dei limiti della metodica.

Per evitare discrepanze tra la settimana calcolata sulla mestruazione e quella ecografica, è opportuno effettuare un'ecografia nei giorni precedenti il test.

Il tritest può essere eseguito tra la quattordicesima e la ventesima settimana di gravidanza anche se è preferibile effettuare il prelievo intorno alla sedicesima settimana.

Digiuno da 12 ore.

Esami collegati: Estriolo Libero, Alfafetoproteina, Beta-HCG.

Studi retrospettivi compiuti in numerosi centri di ricerca hanno dimostrato che esiste una correlazione tra le concentrazioni ormonali materne dell'Alfa-fetoproteina, dell'estriolo libero, della Beta-HCG ed alcune anomalie cromosomiche del feto. Pertanto è stato elaborato un programma computerizzato che, basandosi sui valori ematici di questi tre ormoni, sull'età materna e su altri parametri quali familiarità, peso, età gestazionale effettiva, esprime un



indice di probabilità per un'eventuale patologia cromosomica del feto. Selezionando con questo metodo di screening il 5% di tutte le gestanti a rischio, è stato possibile diagnosticare precocemente circa il 60% di tutte le sindromi di Down ed una percentuale ancora maggiore di difetti del sistema nervoso. L'esame si basa su un semplice prelievo di sangue, eventualmente corredato da un'ecografia, da effettuare la sedicesima settimana di gravidanza, anche se è possibile eseguire il test tra la quindicesima e la ventesima settimana gestazionale.

TROPONINA I

La TnI è il complesso proteico che regola la contrazione del muscolo striato. Il complesso è localizzato in modo periodico lungo il filamento sottile del muscolo striato ed è costituito da 3 proteine distinte:

- la Troponina I (la subunità inibitoria)
- la Troponina C (la subunità che lega il Calcio)
- la Troponina T (la subunità che lega il complesso alla tropomiosina del filamento sottile).

La subunità Troponina I esiste in 3 isoforme:

- due nel muscolo striato che sono praticamente identiche ed hanno un peso molecolare di 19.800 Dalton;
- l'isoforma cardiaca che è differente per circa il 40% ed ha un peso molecolare di 22.500 Dalton. L'unicità dell'isoforma e la specificità di tessuto della troponina cardiaca sono le basi per il suo uso come supporto nella diagnosi di IMA. La TnI cardiaca appare nel siero entro 4-6 ore dall'insorgere di un IMA e raggiunge una concentrazione massima (picco) circa 12-18 ore dopo l'infarto. A differenza di altri marcatori cardiaci (CK-MB, mioglobina) il livelli di TnI possono restare elevati per diversi giorni prima di tornare alla norma.

Il Test per la Troponina I è basato sul principio dell'immunoassay a 2 siti di legame.

Raccolta e preparazione dei campioni

I campioni possono essere raccolti con le normali tecniche di prelievo venoso. Usare esclusivamente *siero* o *plasma eparinato*. Campioni contenenti EDTA o altri anticoagulanti possono dare risultati errati e non dovrebbero essere utilizzati. Bisogna usare campioni freschi, raccolti entro 24 ore o congelati a -20°C. Una raccolta e conservazione dei campioni effettuata in modo improprio può influenzare i risultati dell'analisi. Campioni contenenti particelle possono dare risultati falsamente elevati. I campioni di plasma eparinato possono dare dei **valori inferiori fino al 30% rispetto ai corrispondenti campioni di siero**.

Si dovrebbe stabilire un ambito di riferimento separato per la valutazione dei campioni di siero e di plasma.

Reattività crociata

La reattività crociata per diverse proteine è rappresentata sotto:

PROTEINE	REATTIVITA' CROCIATA
TnI dei muscoli scheletrici	< 0.007%
TnT cardiaca	0.021%
TnC cardiaca	< 0.007%
Mioglobina	< 0.003%
CK-MB	0.017%



Sostanze interferenti

Interferenze possono aversi quando:

- le Proteine Totali sono > di 16.8 g/dL
- i lipidi sono > di 1.000 mg/dL
- l'emoglobina è > di 2.000 mg/dL (quindi attenti ai campioni fortemente emolizzati)
- la bilirubina è > di 5.0 mg/dL (livelli di bilirubina superiori possono dare valori falsamente sottostimati nei campioni positivi e non dovrebbero essere utilizzati con il test OPUS).

Gli immunoassay in vitro che utilizzano anticorpi policlonali non-umani possono essere soggetti ad interferenze da parte di anticorpi eterofili (anticorpi umani anti-immunoglobuline animali).

Significato clinico

La valutazione temporale delle concentrazioni di TnI cardiaca nel siero o nel plasma è un utile strumento per la diagnosi di IMA.

La TnI cardiaca è valutabile nel siero entro 4-6 ore dall'insorgere di un IMA ed il picco di concentrazione viene raggiunto circa 12-18 ore dopo l'infarto. A differenza di altri marcatori cardiaci (CK-MB, mioglobina) i livelli di TnI nel siero possono restare elevati per parecchi giorni prima di tornare alla norma. Valori di TnI al di sopra dell'ambito normale possono essere indicativi di IMA. Valori elevati di TnI possono essere riscontrati anche in pazienti con altre affezioni cardiache come:

- *insufficienza cardiaca congestizia;*
- *angina;*
- *subito dopo un intervento chirurgico cardiaco.*

Si raccomanda di non giungere a conclusioni su un valore singolo di TnI cardiaca, ma di analizzare eventualmente dei campioni seriali.

Performance clinica

Campioni seriali in pazienti con IMA conclamato o sospettato

Sono stati esaminati con il test TnI e CK-MB campioni di plasma di 281 pazienti; in questa analisi i risultati della TnI sono stati considerati positivi per IMA se uno qualsiasi dei campioni seriali prelevati risultava uguale o superiore al cut-off diagnostico di 2.0 ng/mL utilizzato per lo studio.

I valori di CK-MB sono stati considerati positivi se uno qualsiasi dei campioni seriali prelevati risultava uguale o superiore ad un cut-off diagnostico di 5.0 ng/mL.

Sensibilità clinica: la TnI ha identificato correttamente 46 casi di IMA su 49 (**93.9%** (87-100%))

il CK-MB ha identificato correttamente 47 casi su 49 (**97.4%** (90.4-100))

Specificità clinica: la TnI ha correttamente escluso la presenza di IMA in 226 casi su 232 (**97.4%** (95.4-99.4%))

il CK-MB ha correttamente escluso la presenza di IMA in 198 casi su 232 (**85.3%** (80.8-89.8))

- *il massimo di sensibilità si ha con un cut-off di 0.5 ng/mL*
- *il massimo di specificità con un cut-off di 2.0 ng/mL*
- *fra valori di 1.5 e 2.0 ng/mL si hanno ottimi valori di sensibilità e specificità contemporaneamente (oltre il 95% per entrambi).*

**Sensibilità e specificità in funzione dell'intervallo di tempo**

- la sensibilità del CK-MB è maggiore nelle prime ore dall'insorgenza del dolore rispetto alla TnI, ma questa mantiene una ottima sensibilità per un periodo più prolungato di tempo;
- la TnI ha una specificità nettamente migliore del CK-MB sia in pazienti senza IMA ma con affezioni cardiache che in quelli senza IMA e senza affezioni cardiache.

TSH

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero non emolizzato né lipemico
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

Il TSH è un glicopeptide secreto dalle cellule dell'ipofisi anteriore che agisce su diversi aspetti funzionali della tiroide: iodocaptazione, sintesi di tireoglobulina, attivazione di proteasi e liberazione di ormoni tiroidei in circolo. La secrezione del TSH è controllata da fattori ipotalamici stimolatori (TRH) ed inibitori (somatostatina) e dagli ormoni tiroidei che agiscono con un feed-back negativo sull'asse ipotalamo-ipofisario.

Fino ad alcuni anni fa la determinazione del TSH basale forniva solo delle modeste informazioni diagnostiche. L'introduzione nelle metodiche di laboratorio del dosaggio del TSH con metodiche ultrasensibili ha completamente rivoluzionato i precedenti approcci diagnostici. Infatti, ora è possibile determinare concentrazioni sieriche di tale ormone intorno a 0.05-0.1 $\mu\text{U}/\text{mL}$, il che permette di valutare non solo la secrezione basale del TSH in tutti i soggetti normali, ma anche di quantificare la riduzione di secrezione dell'ormone nei soggetti ipertiroidi. Nei soggetti normali eutiroidei i valori basali di TSH dosati con metodo ultrasensibile sono compresi tra un valore minimo di 0.1-0.2 $\mu\text{U}/\text{mL}$ ed un valore massimo di 2.0-2.0 $\mu\text{U}/\text{mL}$. E' aumentato negli adenomi ipofisari TSH secernenti e nell'ipotiroidismo congenito e acquisito.

E' diminuito nell'ipopituitarismo con ipotiroidismo secondario e nell'ipertiroidismo primitivo

Test al TRH

- quando in un soggetto normale si somministra per via E.V. (200-500 μg) TRH sia ha un aumento dei livelli di TSH di almeno 6 $\mu\text{U}/\text{mL}$ in 15-30 minuti.
- nei pazienti con ipotiroidismo primario si osserva una risposta esagerata al TRH;
- nei pazienti con ipotiroidismo da insufficienza ipofisaria sia ha una risposta al test ridotta o assente;
- nei pazienti con insufficienza ipotalamica la risposta al test è ritardata.

I livelli di TSH possono essere più elevati in gravidanza, in corso di patologie tumorali estrogeno secernenti, durante terapia con estroprogestinici, carbonato di litio, potassio, nel post-climaterio con alti livelli di FSH, per assunzione di eroina o metadone.

Campione: siero (provetta senza anticoagulante).

Esami collegati: Tireoglobulina, Anticorpi anti-microsomiali, Anticorpi antitireoglobulina, Anticorpi anti-TPO, T3, T4, FT3, FT4.

**URICEMIA**

Metodo: enzimatico colorimetrico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

L' Uricemia è il prodotto finale del catabolismo delle purine esogene ed endogene. E' aumentato per aumentato apporto alimentare (frattaglie e legumi) o per aumentata produzione endogena: gotta primaria, malattie linfo e mieloproliferative, iperparatiroidismo, neoplasie, emolisi, plasmocitoma, ascessi, psoriasi, radioterapia, chemioterapia. E' aumentato inoltre per ridotta escrezione: nefropatie croniche, etilismo, chetoacidosi, gestosi. E' diminuito nelle nefropatie croniche, malattia di Wilson, emopatie.

I valori dell'uricemia tendono ad aumentare in seguito a terapie con diuretici (tiazidici e dell'ansa), salicilati a basse dosi, etambutolo. I valori diminuiscono in corso di terapie con probenecid, sulfonpirazone, allopurinolo, salicilati ad alte dosi, ACTH e cortisonici, dicumarolici, estrogeni.

Esami collegati: Colesterolo Totale, Trigliceridi.

URINOCOLTURA CON ABG

Metodo: colturale	Campione: urine in contenitore sterile
Tempo di refertazione: 4 gg	

VDRL

Metodo: immunologico	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) è un test di agglutinazione diagnostico per la sifilide, che si positivizza tra l'8° ed il 15° dalla comparsa del sifiloma. Tale test, utilizzato per le procedure di screening ha un valore orientativo ed i risultati positivi devono essere confrontati con la clinica e gli antecedenti del paziente secondo lo schema:

VDRL⁻ e TPHA⁻ in assenza di segni clinici, esclude la diagnosi di sifilide (nel dubbio ripetere dopo 2 settimane)

VDRL⁺ e TPHA⁺ dati anamnestici e titoli bassi (VDRL < 4 ; TPHA <1280) depongono per una forma di vecchia data trattata.

Se mancano questi dati, bisogna eseguire dei test di conferma.

VDRL⁺ e TPHA⁻ Spesso si tratta di falsa positività.

Ripetere comunque dopo 2 settimane con eventuali test di conferma.

VDRL⁻ e TPHA⁺ Spesso caratterizza una sifilide precedentemente trattata e "decapitata".

Eseguire comunque i test di conferma per escludere una falsa positività.

Diverse condizioni morbose tra cui l'epatite infettiva acuta, infezioni parassitarie, malattie autoimmuni (da ricordare la falsa positività in presenza di anticorpi anti-cardiolipina), disprotidemie, gravidanza possono produrre una positività della VDRL. Tutti i tests positivi o debolmente positivi vanno confermati mediante l'FTA-Abs.

Campioni: siero.



Sieri emolizzati possono interferire con il test. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: TPHA, FTA-ABS.

VERSAMENTI

Intendiamo qui riferirci ai versamenti in cavità pleurica (idrotorace) e peritoneale (ascite) che sono quelli di maggiore importanza clinica. La diagnostica di laboratorio è in queste forme d'importanza preminente perché può ricorrere all'analisi diretta sul liquido di versamento fornendo informazioni preziose e non infrequentemente decisive ai fini diagnostici. Nella Tabella sono riportate le più importanti cause cliniche associate a versamento pleurico o peritoneale.

Cause di versamento pleurico e peritoneale

	TRASUDATI	ESSUDATI
Liquido Pleurico	Insufficienza cardiaca Cirrosi epatica Ipoproteinemia	Neoplasie Ca broncogeno Metastasi Linfoma Mesotelioma Infezioni Polmoniti batteriche e virali TBC Infarto polmonare Artrite Reumatoide LES Pancreatite
Liquido peritoneale	Insufficienza cardiaca Cirrosi epatica Ipoproteinemia	Neoplasie Epatoma Metastasi Mesotelioma Infezioni TCB Peritoniti batteriche Traumi Pancreatite Perforazioni intestinali o Colecistiche

1. Essudati e trasudati.

Un primo accertamento di fondamentale importanza diagnostica è il riconoscimento della natura infiammatoria (essudato) o non infiammatoria (trasudato) del versamento. Mentre in passato ci si serviva di prove qualitative o semiquantitative a questo scopo, è possibile oggi ricorrere a determinazioni quantitative precise e ad indagini più sensibili ed accurate. Il dosaggio delle proteine totali nel liquido di versamento è il criterio più generalmente adottato: nel liquido pleurico una concentrazione proteica superiore a 3 g/100 ml è indice di essudato; nel liquido ascitico tale limite è 2,5 g/100 ml. Vi è anche chi suggerisce di utilizzare, per il



liquido pleurico, il rapporto tra concentrazione proteica nel liquido e concentrazione siero-proteica: un valore di questo rapporto superiore a 0,5 è indice di essudato.

Un altro criterio, meno utilizzato, è la determinazione della LDH nel liquido di versamento: un rapporto LDH nel versamento/LDH sierica superiore a 0,6 è indice di essudato.

2. Caratteristiche macroscopiche dei liquidi di versamento.

Descriviamo brevemente le principali caratteristiche macroscopiche perché sono rilevabili al momento del prelievo e consentono quindi al clinico un primo utile orientamento diagnostico.

Il *liquido pleurico* è in condizioni normali limpido e incolore citrino e conserva queste caratteristiche nei trasudati; l'aspetto torbido è invece caratteristico degli essudati con presenza di numerosi leucociti e cellule: è tuttavia da tenere presente che è torbido o lattescente anche il versamenti chiloso. Questo è altresì da differenziare dal versamenti pseudochiloso, dovuto alla degenerazione leucocitaria e cellulare negli essudati: diversi criteri servono a questa differenziazione, come la presenza di chilomicroni, linfociti, la prevalenza di trigliceridi nel liquido chiloso vero, l'assenza di chilomicroni, la morfologia polimorfa, la prevalenza di colesterolo nel liquido pseudochiloso. La presenza di sangue nel liquido di versamento ha importanti implicazioni diagnostiche: è più frequente nelle neoplasie pleuriche e polmonari, ma può associarsi anche a forme infiammatorie batteriche, malattia reumatica, pancreatite, infarto polmonare, traumi chiusi del torace; raramente anche i trasudati da insufficienza cardiaca o cirrosi epatica possono essere ematici. Anche nel caso dei versamenti ematici è necessario distinguere il liquido ematico vero dalla commistione accidentale di sangue causata dalla manovra di prelievo: quest'ultima può essere sospettata quando la distribuzione di materiale ematico non è uniforme e diminuisce col procedere dell'aspirazione.

Le caratteristiche ora descritte per il liquido pleurico valgono anche per quello ascitico: molto più raro è il versamento chiloso, quindi l'aspetto torbido è con maggiore probabilità indice di essudato batterico.

3. Esame morfologico.

Liquido pleurico. Il conteggio di leucociti e la formula differenziale sono di considerevole valore nella diagnosi degli essudati infiammatori: nell'infezione tubercolare il numero delle cellule è superiore a $1.000/\text{mm}^3$ con prevalenza di linfociti (più del 50%) e rare cellule mesoteliali (meno dell'1%): queste caratteristiche non sono tuttavia patognomoniche potendosi riscontrare altresì in neoplasie.

Nelle infezioni batteriche il conteggio leucocitario è superiore a $10.000/\text{mm}^3$ con prevalenza di polimorfonucleati neutrofili. L'eosinofilia (secondo alcuni più del 10%, secondo altri più del 50% nella formula differenziale) è un reperto aspecifico potendosi riscontrare in svariate forme di affezioni pleuriche.

Liquido ascitico. Un conteggio di leucociti superiore a $500/\text{mm}^3$ è indicativo di peritonite batterica spontanea; nell'ascite associata a cirrosi epatica possono essere presenti leucociti in numero di $300-500/\text{mm}^3$; una percentuale di polimorfonucleati neutrofili superiore al 50% è pure indicativa di infezione batterica, mentre nella cirrosi la neutrofilia è inferiore al 50%.

Nell'infezione tubercolare è caratteristica un'elevata percentuale di linfociti, ma anche la presenza di chilo si associa ad un elevato numero di linfociti; numerose cellule mesoteliali sono pure presenti nell'essudato tubercolare.

Negli essudati neoplastici la presenza di cellule atipiche è un importante contributo diagnostico.

4. Esami chimico-clinici.



La concentrazione del glucosio nel liquido di versamento è, in condizioni normali, uguale a quella plasmatica. Valori inferiori a 60 mg/100 mL sono considerati diminuzione patologica. Tale diminuzione è caratteristica del versamento pleurico associato ad artrite reumatoide e serve per la differenziazione dal versamento del lupus sistemico dove invece la concentrazione del glucosio è superiore a 60 mg/100 mL. Valori diminuiti di glucosio sono pure riscontrabili in una limitata percentuale di essudati pleurici neoplastici, tubercolari e da infezioni batteriche aspecifiche; valori normali sono costantemente presenti nei versamenti non infiammatori. Nel liquido peritoneale la diminuzione della concentrazione del glucosio è riscontrabile nel 30-50% degli essudati tubercolari e di quelli neoplastici.

Infine la determinazione dell'attività amilasi è importante nella diagnosi di versamento sia pleurico che peritoneale associato a pancreatite, dove dimostra valori spesso considerevolmente elevati. L'aumento di questa attività enzimatica può tuttavia essere presente nei versamenti associati a perforazione esofagea nonché in una piccola percentuale di essudati pleurici neoplastici o infiammatori.

Campione: quando è possibile, è utile raccogliere una parte del campione in provetta con EDTA (utile per la conta cellulare con strumenti automatici e per un'eventuale tipizzazione delle cellule del liquido).

VES (VELOCITÀ DI ERITROSEDIMENTAZIONE)

Metodo: secondo Westergren	Campione: 1 ml di sangue
Tempo di refertazione: 1 gg	

Note:

Il peso specifico delle emazie è di circa 1,10 mentre quello del plasma è di 1,02. La piccola differenza (0,08) indurrà le cellule ad uscire dalla sospensione ad una velocità molto bassa denominata velocità di eritrosedimentazione (VES). Il fattore più importante che nei processi morbosi determina un aumento della velocità di eritrosedimentazione è l'aumento delle dimensioni delle particelle conseguente all'aggregazione delle emazie che si allineano lungo un singolo asse perpendicolare al piano delle cellule con formazione di ammassi che sono simili a pile di monete o a rotoli di carta dove la denominazione francese di rouleaux. La velocità di sedimentazione è quindi una misura della tendenza delle emazie ad aggregarsi tra loro. Tre fattori principali influenzano l'aggregazione degli eritrociti: l'energia libera di superficie delle cellule, la loro carica e la costante dielettrica del plasma.

L'energia libera di superficie delle emazie risulta da forze di Van de Waals ed esercita una forza coesiva che tende ad attirare le cellule l'una verso l'altra. La carica degli eritrociti è data dalla somma della carica negativa della membrana (dovuta soprattutto alla presenza di acido sialico) e della nuvola di ioni di carica opposta che circonda ciascuna emazia. La risultante di questi due gruppi di cariche, denominata potenziale zeta, determina una forza di repulsione tra le cellule. Nei soggetti normali il potenziale zeta è maggiore delle forze coesive di Van der Waals e si ha una scarsa aggregazione delle emazie.

La costante dielettrica misura le caratteristiche di dissipazione della carica del mezzo ed è influenzata dalla concentrazione e dal grado di asimmetria delle molecole disciolte nel plasma, soprattutto delle proteine. La costante dielettrica aumenta quando si ha un incremento della concentrazione di molecole asimmetriche che possono essere orientate e polarizzate dal campo elettrico delle emazie. Pertanto un aumento della concentrazione di queste molecole



tende a diminuire l'effetto repulsivo del potenziale zeta per cui predominano le forze coesive e si ha una aggregazione degli eritrociti.

Fattori che influenzano la velocità di eritrosedimentazione

Fattori che aumentano la costante dielettrica del plasma

Aumento della concentrazione di:

- Fibrinogeno
- Beta-globuline
- Alfa-globuline
- Gamma-globuline

Fattori eritrocitari che inducono la tendenza delle cellule ad aggregarsi

Modificazioni delle dimensioni e della forma delle emazie

- Anisocitosi
- Ipocromia
- Sferocitosi
- Poichilocitosi

Alterazioni della concentrazione delle cellule

- Anemia (aumento della velocità di sedimentazione)
- Policitemia (diminuzione della velocità di sedimentazione)

La causa della formazione dei rouleaux è da ricercarsi soprattutto in variazioni della composizione del plasma piuttosto che delle stesse emazie. La formazione dei rouleaux e quindi un aumento della velocità di eritrosedimentazione può risultare da un moderato incremento della concentrazione di proteine estremamente asimmetriche, come il fibrinogeno, o da un notevole aumento dei livelli plasmatici di molecole moderatamente asimmetriche come le immunoglobuline. La velocità di eritrosedimentazione aumenta nel corso della flogosi soprattutto a causa dell'aumento della concentrazione del fibrinogeno.

Tuttavia si può avere un aumento della velocità di sedimentazione delle emazie, anche in assenza di flogosi, nelle malattie linfoproliferative, nel Mieloma Multiplo e nella Macroglobulinemia di Waldenstrom. In questi casi si ha un aumento della concentrazione di una singola specie molecolare di Ig.

Anomalie della forma, delle dimensioni e della concentrazione delle emazie possono influenzare la VES. I valori normali della VES variano con il sesso e con l'età.

Il limite superiore della norma fino a 50 anni è di 15 mm/ora nell'uomo e 25 mm/ora nella donna; dopo i 70 anni può raggiungere i 50 mm/ora.

È stato proposto che il limite superiore della VES per:

l'uomo: età (anni)/2

donna: (età (anni)+10)/2

La velocità di eritrosedimentazione risulta elevata in presenza di:

- flogosi,
- danno tissutale
- alcune malattie linfoproliferative.

Valori molto elevati si riscontrano:

- nelle infezioni batteriche, soprattutto dell'apparato respiratorio e di quello urinario,
- in diverse malattie reumatiche in particolare nella polimialgia reumatica, nell'artrite reumatoide e nelle connettiviti,
- nei tumori maligni con metastasi.



Nelle infezioni virali, come, ad esempio, nella mononucleosi infettiva l'aumento della velocità di sedimentazione può essere modesto o mancare. Se l'organo bersaglio è il fegato, come nell'epatite acuta, vi può anche essere una inibizione della produzione del fibrinogeno. Talvolta uno scompenso cardiaco con congestione epatica può non portare ad un innalzamento della velocità di eritrosedimentazione anche in condizioni, come la malattia reumatica di Bouillaud, in cui questa è solitamente molto elevata.

Valori alti della velocità di sedimentazione si hanno nel terzo trimestre di gravidanza e nelle donne che fanno uso di contraccettivi orali. Valori elevati si possono anche osservare in condizioni non chiaramente associate a necrosi tissutale come nell'ipotiroidismo o nell'ipertiroidismo. Iniezioni intramuscolari soprattutto di benzatina-penicillina possono determinare un aumento della velocità di sedimentazione.

Talora valori elevati di questa possono essere causati dalla presenza di agglutinine di emazie.

La misura della velocità di eritrosedimentazione oltre che per evidenziare la presenza di una malattia organica risulta utile per valutare l'attività del processo morboso e la risposta alla terapia. L'effettuazione dell'esame dopo 3 ore dal prelievo può determinare risultati non corretti. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

Campione: sangue anticoagulato con Citrato di Sodio.

Esami collegati: Emocromo, Proteine della fase acuta.

VITAMINA B12

Metodo: chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 3 gg	

Note:

La Vitamina B12 è introdotta nell'organismo per via alimentare. Viene assorbita a livello ileale tramite il legame con una glicoproteina, il fattore intrinseco, prodotto da cellule della mucosa del fondo gastrico, la cui carenza è causa di anemia macrocitica megaloblastica.

E' diminuita:

- per inadeguato apporto (vegetariani),
- ridotta o mancata produzione di fattore intrinseco,
- da diminuito assorbimento intestinale,
- diverticolosi,
- poliposi,
- aumentato consumo nella gravidanza avanzata.

Il paziente deve essere a digiuno da 8 ore.

Esami collegati: Ferritina, Sideremia, Acido Folico, Emocromo, Transferrina.

WAALER-ROSE

Metodo: emoagglutinazione	Campione: 1 ml di siero non emolizzato, né lipemico
Tempo di refertazione: 3 gg	



ZINCO (SIERICO ED URINARIO)

Metodo: colorimetrico	Campione: 1 ml di siero, plasma eparinato, 10 ml di urine
Tempo di refertazione: 10 gg	

Note:

Lo Zinco viene introdotto nell'organismo con gli alimenti ed assorbito principalmente nel duodeno. E' eliminato con le feci attraverso il succo pancreatico e la bile.

E' aumentato nella arteriosclerosi, osteosarcoma e cardiopatia ischemica.

E' diminuito nell'anemia falciforme, tbc polmonare, febbre tifoidea, morbo celiaco, infezione da HIV, metastasi epatiche, linfomi.

E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

ALTRI TEST SPECIALISTICI DI LABORATORIO

BITEST

Metodo: Chemiluminescenza	Campione: 1 ml di siero
Tempo di refertazione: 6 gg	

Note:

Il bi-test è un esame di screening statistico che utilizza una tecnica combinata: la rilevazione della translucenza nucale (NT) associata al dosaggio di due sostanze (da cui il nome bi-test) presenti nel circolo materno: free-beta-HCG (frazione libera della gonadotropina corionica) e PAPP-A (proteina A plasmatica associata alla gravidanza).

Ha una **sensibilità che giunge al 92%** (specie se si associa alla NT anche la più recente tecnica di individuazione della presenza dell'osso nasale del feto, che, dalla XI alla XIV settimana viene a mancare nel 70% dei feti affetti da trisomia) con una drastica riduzione dei **falsi positivi al 3%**. Il calcolo del rischio statistico viene effettuato da software che prendono in considerazione la variabilità soggettiva materna e fetale per epoca gestazionale, per età materna, numero di precedenti gravidanze interrotte o portate a termine, peso corporeo, abitudine al fumo, tendenza alla minaccia d'aborto con sanguinamento o terapie ormonali per ovviarlo, positività anamnestica per precedenti figli con anomalie cromosomiche.

ANALISI CITOGENETICA SU SANGUE PERIFERICO

Metodo: Coltura cellulare	Campione: 3 ml di sangue
Tempo di refertazione: 20 gg	

Note:

L'indagine citogenetica permette lo studio del cariotipo ed è eseguita su sangue periferico. Si esegue in:

- soggetti con sospetta sindrome cromosomica o malattia genetica
- genitori e familiari di soggetti con anomalie cromosomiche
- soggetti con difetti, ritardo mentale o ritardo d'accrescimento
- causa di morte nei neonati
- coppie con figlio con sospetta sindrome cromosomica, deceduto senza diagnosi



- coppie con poliabortività
- soggetti infertili

L'esame consiste in una consulenza genetica nella quale vengono raccolte informazioni sulla famiglia eseguendo un prelievo di sangue periferico; non è necessario essere digiuni.

ANALISI CITOGENETICA SU LIQUIDO AMNIOTICO

Metodo: Coltura cellulare	Campione: 20 ml di liquido amniotico
Tempo di refertazione: 20 giorni	

Note:

L'indagine citogenetica è eseguita in gravidanza (16^a - 18^a settimana) e permette lo studio liquido amniotico in caso di gravidanza a rischio per anomalie genetiche ed anomalie cromosomiche. L'analisi si esegue a:

- madri con età superiore ai 35 anni di età;
- genitori con precedente figlio affetto da anomalia cromosomica o da malattia genetica diagnosticabile
- genitori portatori di riarrangiamento strutturale o da malattia genetica
- patologia ecoevidenziata
- indicazioni biochimiche

ANALISI CITOGENETICA SU MATERIALE ABORTIVO

Metodo: Coltura cellulare	Campione: materiale abortivo (villi coriali-pezzo di cute)
Tempo di refertazione: 20 giorni	

Note:

L'esame citogenetico del materiale abortivo permette di evidenziare eventuali cause genetiche determinanti interruzioni spontanee di gravidanza. Il materiale, che deve pervenire al Laboratorio possibilmente entro 24 ore, deve essere in primo luogo esaminato per assicurare la presenza di materiale di origine fetale, riconoscibile per caratteristiche morfologiche diverse dal materiale di origine materna. Devono essere quindi allestite delle colture cellulari che permetteranno, dopo una crescita adeguata, di esaminare il corredo cromosomico relativo.



Ubicazione sede:

