

# I PRINCIPALI ESAMI DI RUOTINE NEL LABORATORIO DI ANALISI CLINICHE



**VINCENZO TRICHILO**  
**DOCENTE DI PATOLOGIA CLINICA**  
**POLICLINICO UNIVERSITARIO**  
**MESSINA**

# La Medicina di Laboratorio è una

disciplina che applica tutte le moderne metodologie scientifiche alla prevenzione, alla diagnosi, alla terapia ed alla gestione delle malattie.

- E' una disciplina *Composita* perché nasce dalla sintesi di diverse discipline quali: **Patologia Clinica, Biochimica Clinica, Microbiologia Clinica** e da apporti che derivano dalle **Biotecnologie Mediche**.

- Negli ultimi decenni è cresciuta non solo in senso *Quantitativo*, con l'introduzione di nuovi campi come l'Autoimmunità, la **Patologia Molecolare**, la **Genomica**, la **Proteomica** ecc...ma soprattutto in senso *Qualitativo*.

## MISSIONI DEI LABORATORI CLINICI

Fornire:

- **Informazioni** (non solo dati) clinicamente utili per la diagnosi, la terapia, il monitoraggio e per la promozione della salute.
- **Risultati corretti**, esenti da qualsiasi tipo di errore.
- **Referti tempestivi**, in tempi utili alla gestione appropriata del paziente.
- Risultati con modalità che favoriscano la loro **corretta interpretazione** ed il loro corretto **utilizzo** nel processo diagnostico-terapeutico.
- Un servizio **efficiente** oltre che **efficace** economicamente sostenibile.

# Principali processi metabolici di interesse chimico-clinico

- Bilancio idroelettrolitico(Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup>)
- Equilibrio acido- base gas del sangue (emogasanalisi)
- Metabolismo del calcio dei fosfati e del magnesio.
- Metabolismo dei carboidrati,malattia diabetica,ipoglicemia,errori congeniti.
- Lipidi e lipoproteine,malattia aterosclerotica (Colesterolo,trigliceridi,HDL.VLDL,LDL)
- Proteine ed elettroforesi
- Enzimi e diagnostica enzimatica ( GOT,GPT,GGT, Fosfatasi alcalina,fosfatasi acida,CHE, Amilasi,lipasi ,fosfatasi alcalina ossea . Enzimi Cardiaci : troponina ,mioglobina,CPK,CK-MB,LDH
- Composti azotati derivanti dal catabolismo degli aminoacidi e delle purine. (Urea,creatina,creatinina,acido urico
- Oligoelementi : metabolismo del ferro, sideremia,transferrina,ferritina,rame,zinco,cromo,cobalto,manganese,selenio ect.
- Sintesi del gruppo eme e porfirie
- Catabolismo del gruppo eme bilirubina e bilinogeni itteri. Bilirubina,stercobilina,Urobilinogeno
- Esame delle urine e funzionalità renale.

## **Elenco delle tecniche di impiego frequente in laboratorio.**

---

Tecnica di pesata

Tecnica di separazione (filtrazione, evaporazione, distillazione, estrazione con solventi, cromatografia)

Fotometria di assorbimento (visibile, ultravioletto)

Torbidimetria, nefelometria

Fotometria di riflettanza

Fotometria di assorbimento atomico

Fotometria di emissione

Fluorimetria

Luminescenza

Spettrometria di massa

Risonanza magnetica di spin

Elettroforesi

Isoelettrofocalizzazione

Altre tecniche elettrochimiche (pH-metria, elettrodi ionoselettivi, voltammetria anodica, cronopotenziometria, coulombometria)

Tecniche immunochimiche normali (immunodiffusione radiale, immunotorbidimetria, immunonefelometria)

Tecniche immunochimiche con antigene marcato, con difetto di anticorpo e con separazione: RIA, EIA, FIA, LIA, ecc.

Tecniche immunochimiche con marcatore, con difetto di anticorpo e senza separazione: EMIT

Tecniche immunochimiche con anticorpi marcati e con eccesso di anticorpi: IRMA, IEMA, EFMA, ecc.

Tecniche di biologia molecolare

Misure della radioattività

Metodi di conteggio di cellule

Uso degli analizzatori automatici a flusso, discontinui e centrifughi

Uso dell'elaboratore

---

# GESTIONE DEL DATO ANALITICO

# METODO ANALITICO

**L'Attendibilità di un risultato Analitico e quindi la qualità di una Misura è determinata dai seguenti fattori che sono i requisiti fondamentali di ogni Metodo Analitico:**

***ACCURATEZZA***

***SENSIBILITA'***

***SPECIFICITA'***

***PRECISIONE***

## ACCURATEZZA

**Grado di concordanza tra il Valore Medio trovato in repliche diverse, di una stessa analisi sul medesimo campione ed il valore reale o più probabile dell'analita misurato.**

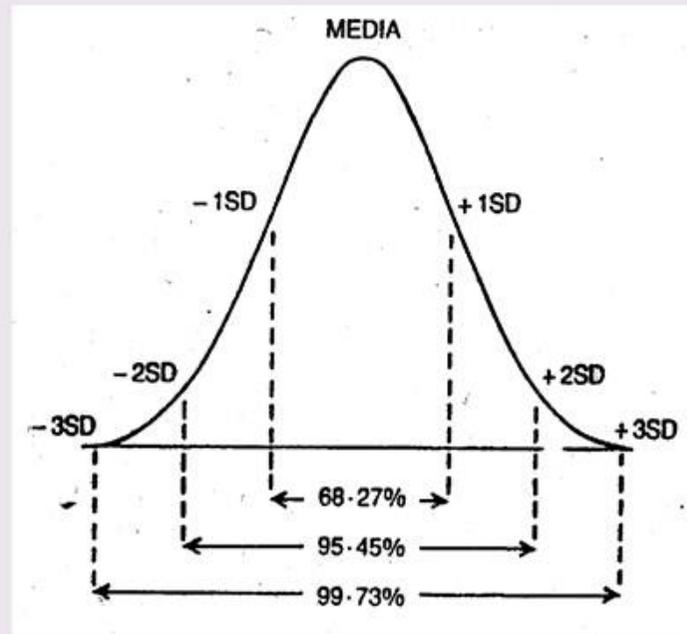
## SPECIFICITA'

**Proprietà del metodo di misurare solo ed interamente la sostanza studiata senza interferenze di qualunque tipo da parte di altre sostanze presenti nel campione.**

## SENSIBILITA'

**Analitica = Capacità del metodo di dosare anche piccole concentrazioni della sostanza da analizzare.**

INDIVIDUI di Riferimento costituiscono una POPOLAZIONE di Riferimento dalla quale viene scelto GRUPPO CAMPIONE di Riferimento sul quale vengono determinati i VALORI di Riferimento



**Sulla base della distribuzione statistica dei VALORI vengono calcolati il LIMITE e gli INTERVALLI di riferimento che servono per valutare i risultati analitici nei PAZIENTI**

**La *QUALITA'* di un laboratorio, dal punto di vista analitico, si misura mediante l'utilizzo di sistemi statistici sia di Controllo**

**INTERNO (CQI) che ESTERNO (VEQ)**



**Il *CQI* è un metodo per controllare e minimizzare le variabili di un laboratorio di analisi, mantenendo entro limiti ben definiti, gli errori che possono verificarsi nelle**

***ANALISI CLINICHE***

# LE FASI DI UN PROCESSO ANALITICO



## FASE PRE ANALITICA

- Preparazione del paziente
- Accettazione
- Raccolta del campione
- Trasporto del campione



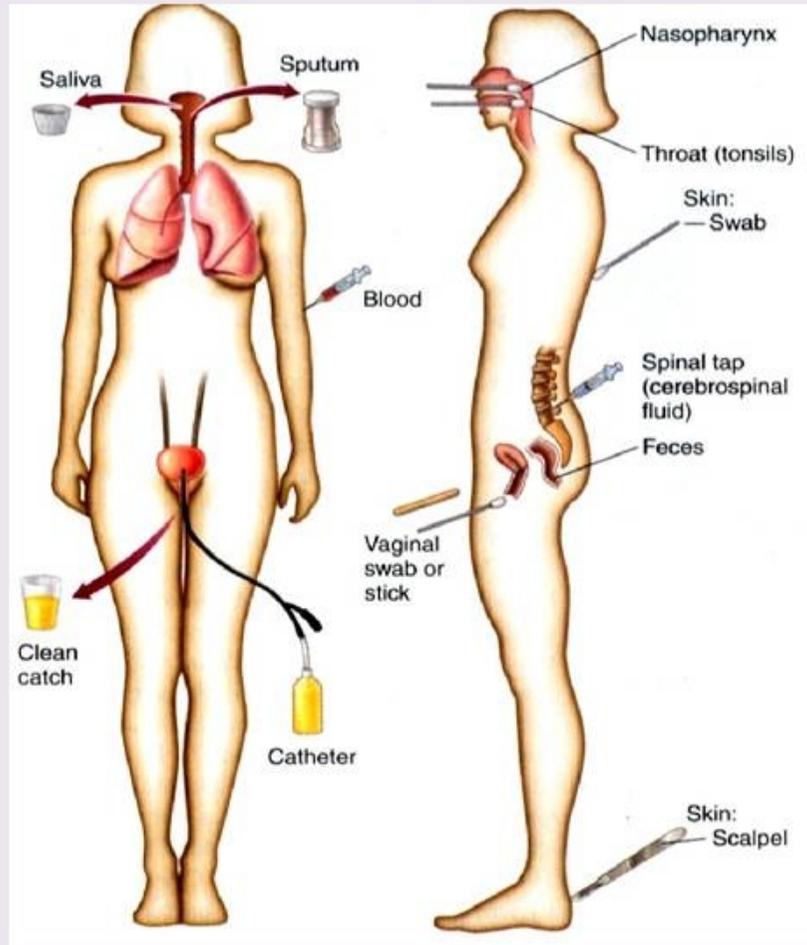
## FASE ANALITICA

- Esecuzione delle analisi



## FASE POST ANALITICA

- Preparazione del referto
- Consegna del referto



## TIPOLOGIA DEL PRELIEVO

❖ Cellule

❖ Tessuti

❖ Liquidi

(Sangue, Urine, Liquido spermatico, Succo gastrico, Liquido cerebrospinale)

❖ Materiali biologici diversi

(Feci, Squame, Saliva, Lacrime, Espettorato, Capelli, Tamponi)

# FASE PRE ANALITICA

## ➤ Preparazione del paziente

- Diggiuno (almeno 8h)
- Fumo
- Attività fisica intensa, stress
- Farmaci
- Periodo del prelievo
- Dieta
  
- Eventuali particolari procedure di raccolta

## ➤ Accettazione

- Identificazione del paziente
- Richiesta esami e codificazione
- Procedure privacy



## ➤ Raccolta del campione

- MATRICI BIOLOGICHE DIVERSE:
- SANGUE: prelievo ematico (capillare, **venoso** e arterioso)
- Esame delle urine
- Esame degli altri liquidi biologici (ascitico,pleurico,cefalorachidiano,pleurico e sinoviale)
- Esami delle feci
- Esame dell'espettorato
- Esame liquido seminale

## TIPOLOGIA DI PROVETTE E ANTICOAGULANTI

- provette destinate all'emocoltura (tappo giallo o giallo-nero)
- provette contenenti sodio-citrato destinate ad esami di coagulazione (tappo celeste o azzurro) 
- provette di siero (tappo senape o rosso) 
- provette contenenti litio-eparina (tappo verde scuro) 
- provette contenenti EDTA (acido etilendiamminotetracetico) (tappo viola) 
- provette contenenti citrato e destrosio (tappo giallo pallido) 
- provette contenenti ossalato e/o fluoruro (tappo grigio chiaro)

### ➤ Trasporto del campione

- Normativa vigente importante

**Circolare del Ministero della Salute, 8 maggio 2003, n. 3.**

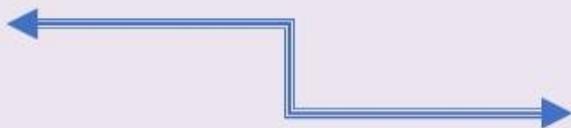
*Raccomandazioni per la sicurezza del trasporto di materiali infettivi e campioni diagnostici.*



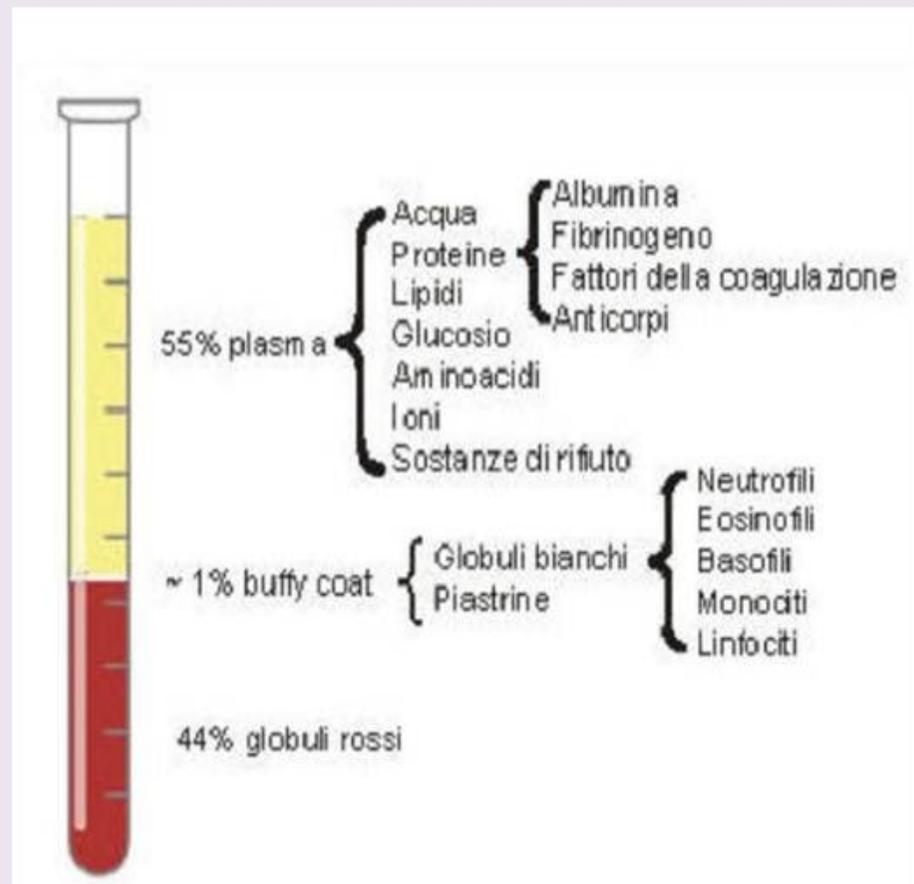
## ➤ Centrifugazione

- ✓ Attendere 30 min dal prelievo
- ✓ Max 1h dal prelievo centrifugare a 3000 rpm per 10min

SIERO

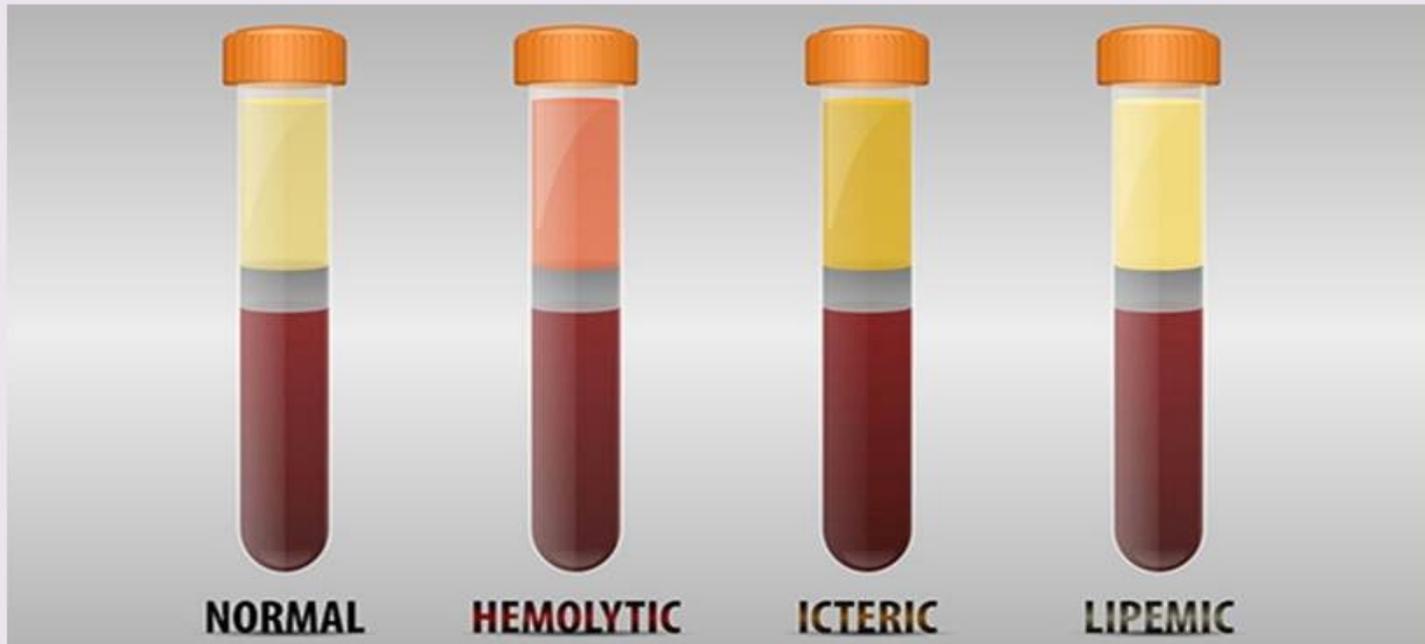


PLASMA



## FASE ANALITICA

- a) Verifica idoneità campione (livello anticoagulante)
- b) Verifica risultati centrifugazione



TEST DI SCREENING



TEST DI CONFERMA



TEST MONITORAGGIO



# FASE POST ANALITICA

## ➤ Preparazione del referto

- ✓ Analita
- ✓ Metodo utilizzato
- ✓ Matrice utilizzata
- ✓ Risultato
- ✓ Valore di riferimento (Intervallo entro il quale ci si aspetta sia compreso il valore del parametro analizzato)

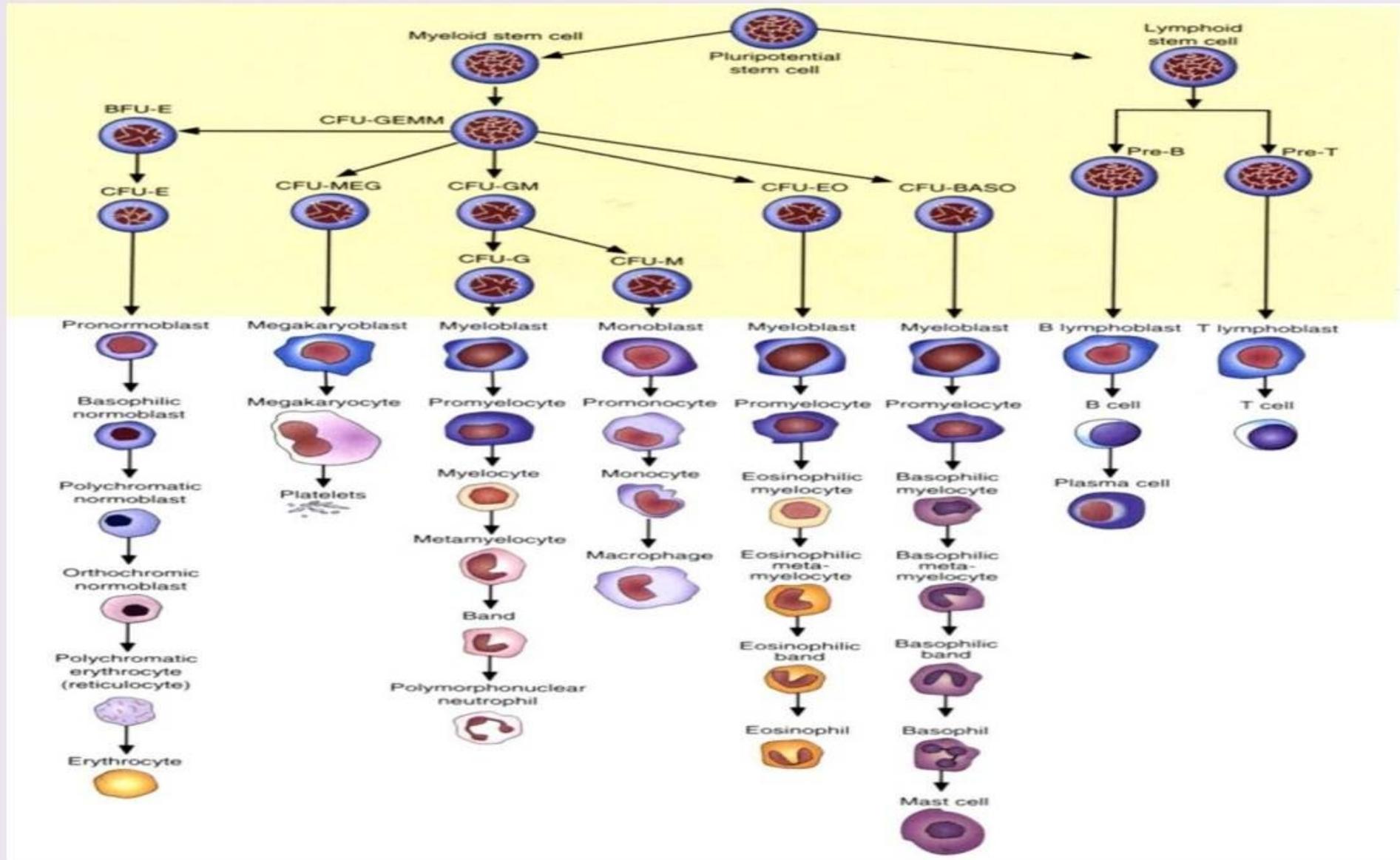


## ➤ Consegna referto

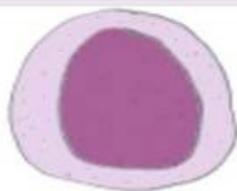
- ✓ Privacy
- ✓ Valori critici in urgenza

ESAME  
EMOCROMOCITROMETRICO

# L'EMOPOIESI



Cellula staminale pluripotente del midollo osseo



Leucocitopoiesi

Eritropoiesi

Trombopoiesi

Mieloblasti



Promielociti

Granulociti



Eosinofili



Basofili



Neutrofili

Monoblasti



Monociti



Macrofagi

Linfoblasti



Linfociti



Cellule B



Cellule T



Proeritroblasti



Eritroblasti

Reticolociti



Eritrociti



Megacarioblasti

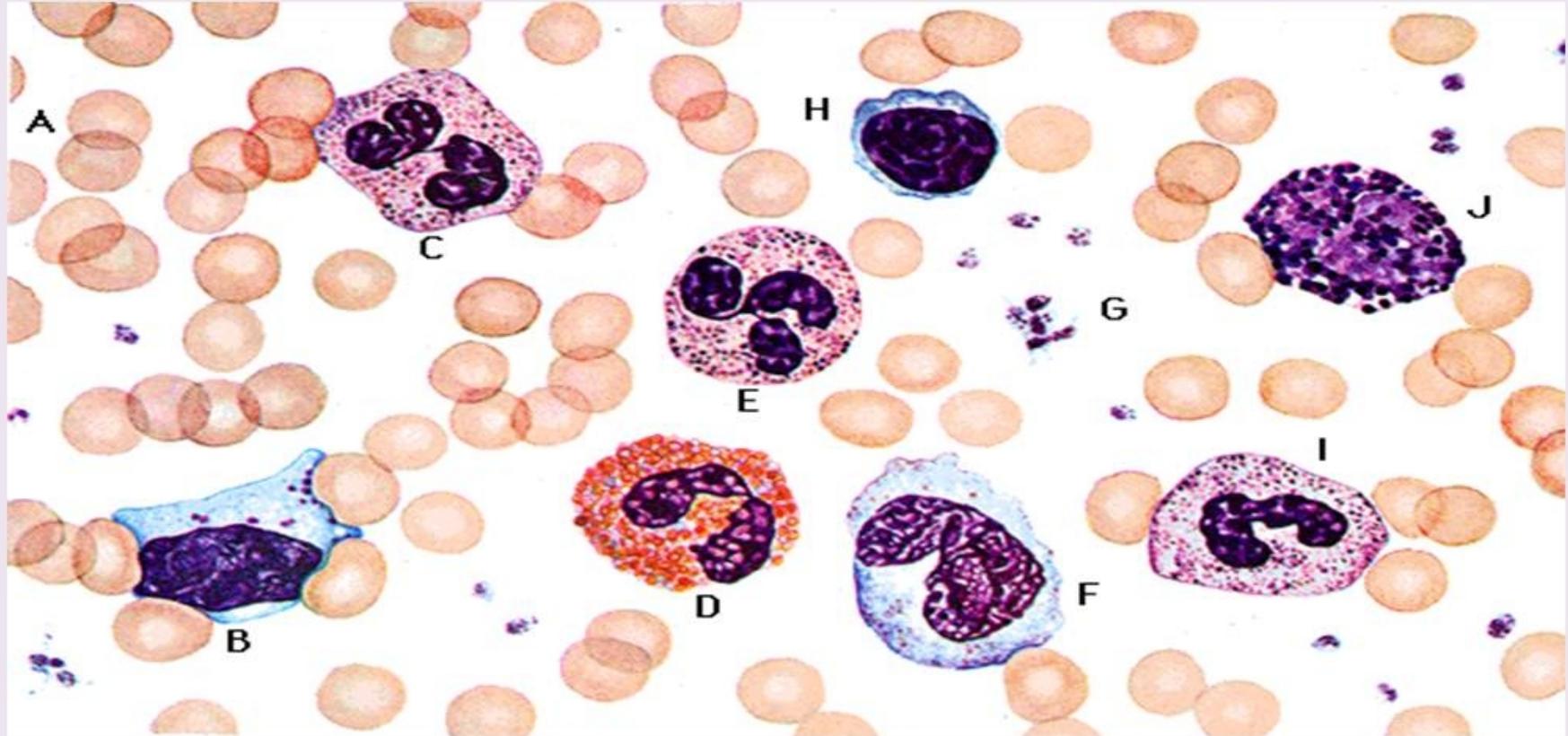


Megacariociti



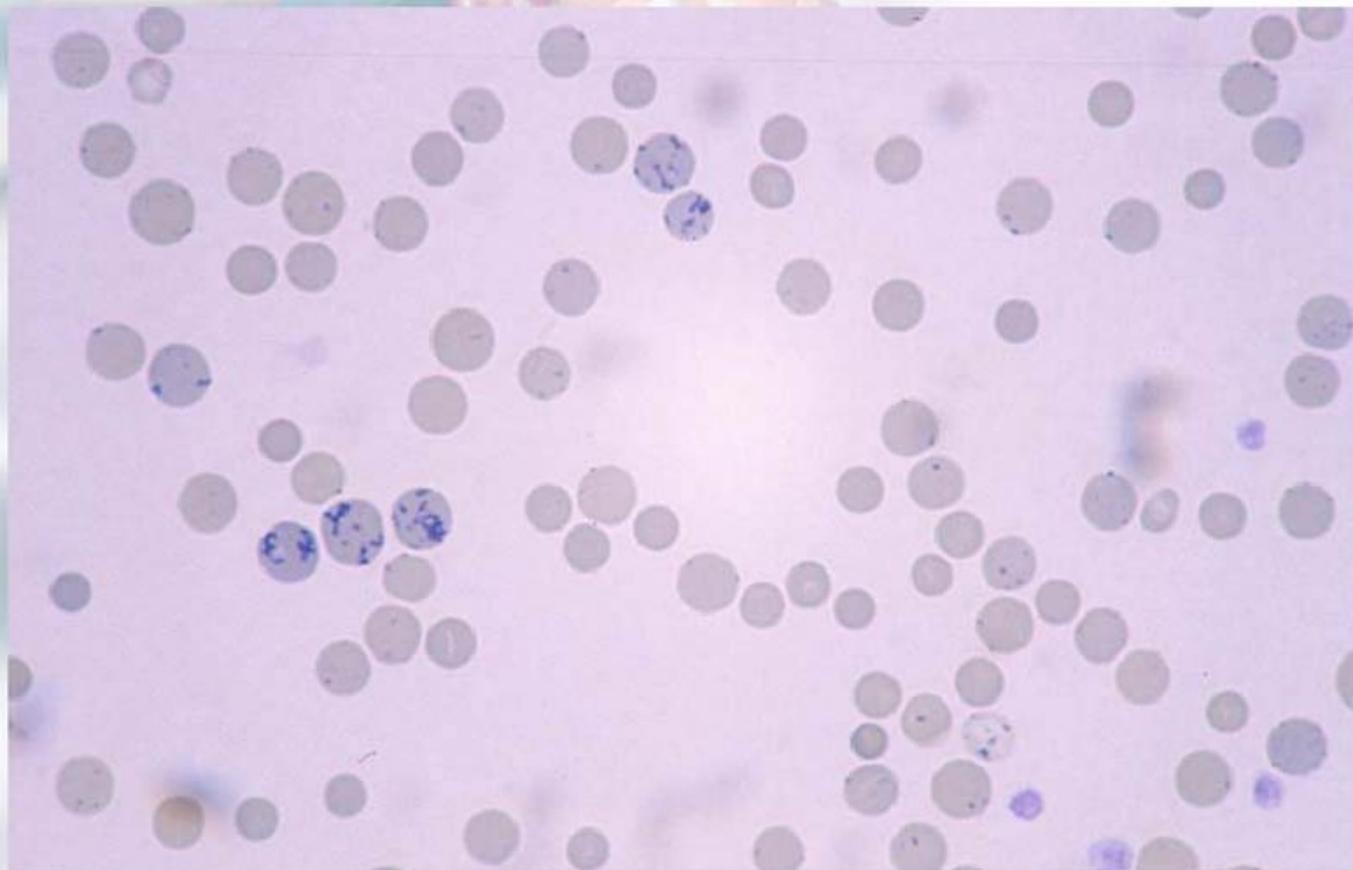
Trombociti

# Cellule del sangue



A. Eritrocita; B. Grande Linfocita granulare; C. Neutrofilo; D. Eosinofilo;  
E. Neutrofilo; F. Monocita; G. Piastrine; H. Linfocita; I. Neutrofilo; J. Basofilo

# RETICOLOCITI



# ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

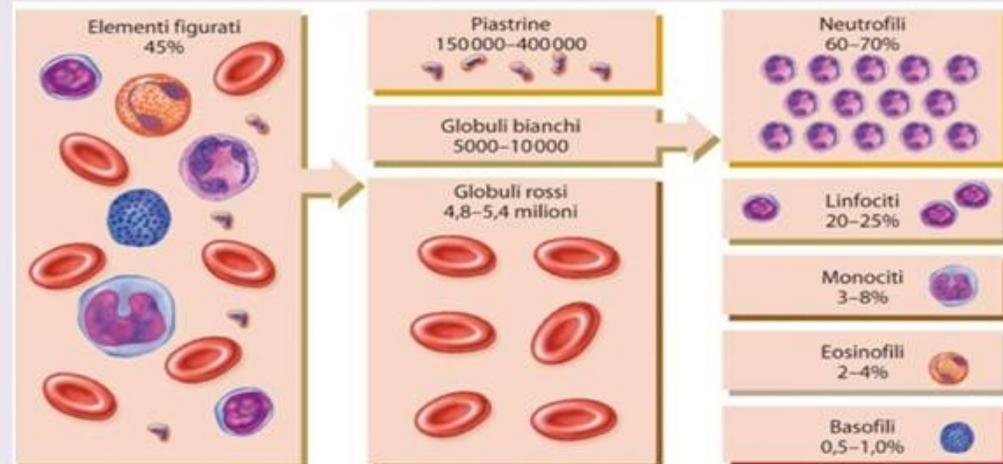


- Anticoagulante EDTA: chela in modo irreversibile il  $\text{Ca}^{2+}$
- Esame emocromocitometrico letteralmente significa "misurazione del colore del sangue e del numero delle sue cellule, cioè dei globuli".
- Valutazione 'funzioni del sangue'

**Def:** Con il termine esame emocromocitometrico con formula leucocitaria, o con quello più noto di **emocromo**, si indica una serie di valutazioni qualitative e quantitative relative alle diverse popolazioni di elementi corpuscolati presenti nel sangue periferico.

*I principali parametri ematologici valutati dall'esame emocromocitometrico sono:*

- Conta e dimensioni dei globuli rossi
- Conta delle piastrine
- Conta differenziale dei leucociti
- Concentrazione di emoglobina
- Ematocrito



OPERATORE NELLA GESTIONE DEGLI EMOCROMI CON BC-6800



AZIENDA OSPEDALIERA MATER DOMINI CATANZARO  
 UNIVERSITA' DEGLI STUDI "MAGNA GRECIA" CZ  
 U.O. SERVIZIO DI PATOLOGIA CLINICA  
 DIRETTORE PROF. ELIO GULLETTA

NOME :  
 PAT# : 80227-705  
 SESSO: M

CAMPIONE ID : 27705  
 DATA:27/02/08 11:19  
 REPARTO : CDR

TEST	RISULTATI	ANORMALI	NORMALI	UNITA'
GLOB. BIANCHI	5,38		( 5,2 - 12,4 )	10e3 µL
GLOB. ROSSI	4,90		( 4,7 - 6,1 )	10e6/µL
EMOGLOBINA	14,8		( 14 - 18 )	g/dL
EMATOCRITO		41,0	( 42 - 52 )	%
MCV	83,7		( 80 - 94 )	fL
MCH	30,1		( 27 - 31 )	pg
MCHC	35,9		( 33 - 37 )	g/dL
RDW	12,4		( 11,5 - 14,5 )	%
HDW	2,76		( 2,2 - 3,2 )	g/dL
PIASTRINE	254		( 130 - 400 )	10e3/µL
%NEUTROFILI	43,1		( 40 - 74 )	%
%LINFOCITI	44,7		( 19 - 48 )	%
%MONOCITI	5,9		( 3,4 - 9 )	%
%EOSINOFILI	4,4		( 0 - 7 )	%
%BASOFILI	0,3		( 0 - 1,5 )	%
%LUC	1,6		( 1,5 - 6 )	%
#NEUTROFILI	2,32		( 1,9 - 8 )	10e3 µL
#LINFOCITI	2,40		( 0,9 - 5,2 )	10e3 µL
#MONOCITI	0,32		( 0,16 - 1 )	10e3 µL
#EOSINOFILI	0,24		( 0 - 0,8 )	10e3 µL
#BASOFILI	0,02		( 0 - 0,2 )	10e3 µL
#LUC		0,09	( 0,15 - 0,6 )	10e3 µL

$$RDW = CV$$

INDICE DI  
ANISOCITOSI

$$RDW = \frac{K.S}{MCV}$$

## L'ESAME EMOCROMOCITOMETRICO "URGENTE O ROUTINE»

- Necessità di orientarsi bene fra le tante “*sigle e numeri*” dei moderni contaglobuli elettronici

Necessità di individuare un numero non elevato di “*parametri informativi*” per il sospetto diagnostico

## Parametri informativi

- E' presente:
- anemia, poliglobulia?
  - leucocitosi, leucopenia?
  - piastrinosi, piastrinopenia?

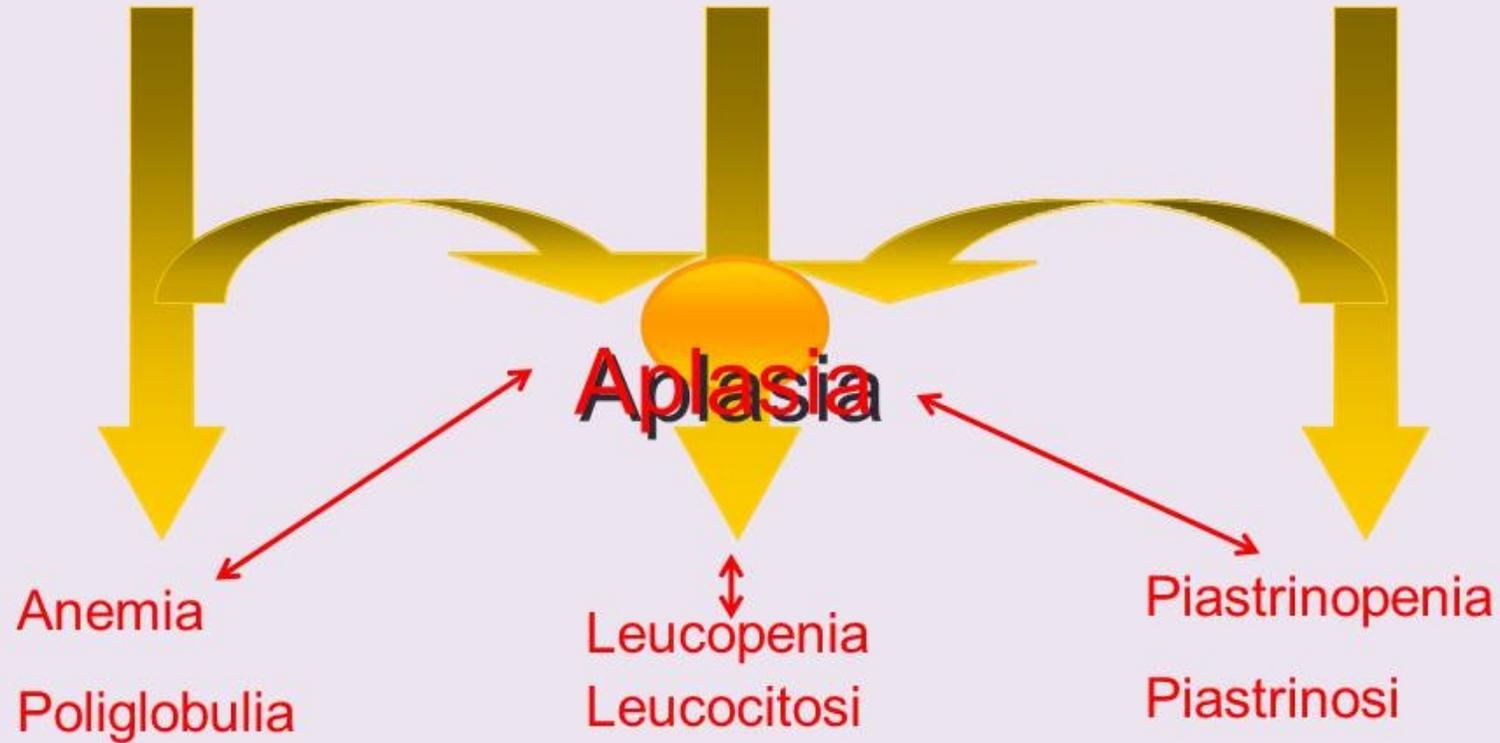
Sono interessate più linee cellulari?

E' disponibile un esame emocromocitometrico precedente?

Globuli Rossi

Globuli Bianchi

Piastrine



# Emergenze ematologiche

## Globuli bianchi

Sindromi iperleucocitosiche  
Sindromi emofagocitiche  
Leucopenie/leucocitosi

## Globuli rossi

Anemia acuta: emorragia, AEA, deficit enzimatici, anemie microangiopatiche  
Crisi emolitica o aplastica in corso di anemia emolitica cronica (talassemia, microdrepanocitosi....)

## Piastrine

Piastrinopenia acuta

Difetti della coagulazione

# GLOBULI BIANCHI

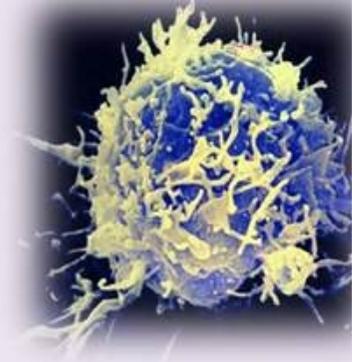
Leucocitosi

Leucopenie

Sindromi iperleucocitosiche

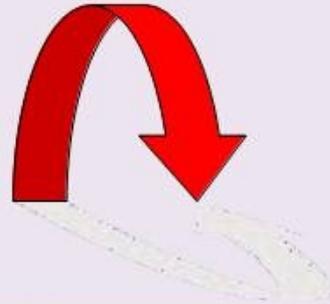
Sindromi emofagocitiche

# Leucocitosi



Aumento del numero dei globuli bianchi al di sopra dei limiti normali per l'età

**FALSA**

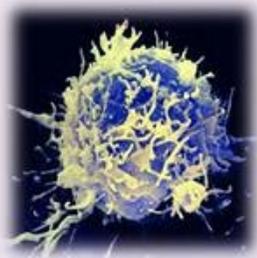


Eritroblasti in circolo

Aggregati piastrinici

Crioglobuline

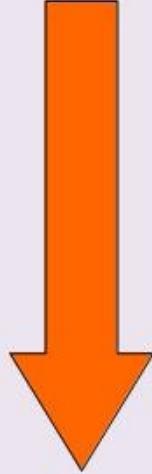
Chetoacidosi diabetica



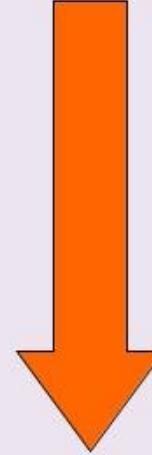
## Leucocitosi “falsa”

- ❖ In alcune patologie (soggetti splenectomizzati, talassemici), il tasso di **eritroblasti circolanti** è molto elevato e questo determina un conteggio leucocitario/mmc falsamente elevato.
- ❖ Gli **aggregati piastrinici**, sono un artefatto di laboratorio e non hanno nessun significato clinico.
- ❖ La presenza di **crioglobuline** nel sangue può alterare il conteggio dei leucociti, che risulta generalmente più alto.
- ❖ Nella chetoacidosi diabetica i **leucociti neutrofili** vengono mobilizzati dal pool marginato nel sangue

# Leucocitosi



**GRANULOCITOSI**



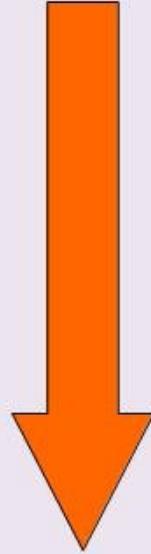
**LINFOCITOSI**

# CAUSE DI NEUTROFILIA



## AUMENTATA PRODUZIONE

- Infezioni croniche
- Infiammazioni croniche
- Malattie mieloproliferative
- Farmaci



## RALLENTATA ELIMINAZIONE DAL CIRCOLO

- Steroidi
- Splenectomia
- Epinefrina



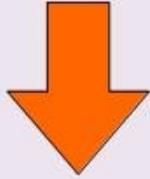
## AUMENTATO RILASCIO DAL POOL MIDOLLARE

- Infezioni acute
- Steroidi
- Stress
- Ipossia

# NEUTROPENIE

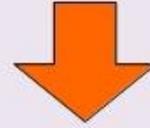
- ❖ Fra le due settimane e la fine del primo anno il limite inferiore è di 1.000/mL
- ❖ Successivamente  $<1.500/\text{mL}$
- ❖ Neutropenia lieve 1.000 - 1.500/ml
- moderata 1.000 – 500/mL
- grave  $<500/\text{mL}$

# CAUSE DI LINFOCITOSI



## Relativa

- neutropenia
- ipertiroidismo
- morbo di Addison



## Assoluta

- influenza , pertosse, tubercolosi,
- parotite, varicella, herpes, rosolia
- brucellosi, mononucleosi infettiva
- epatite virale, farmaci, neoplasie ematologiche (LLA LM...)

# LINFOCITOPENIA

terapia con steroidi/ chemioterapia /  
radioterapia

infezioni virali/batteriche

HIV  
TBC

neoplasie

linfoma di Hodgkin  
leucemia acuta  
tumori solidi

malattie croniche

sarcoidosi  
lupus  
sclerosi multipla  
miastenia grave  
sindrome di Guillain Barre'



## STRISCIO DI SANGUE PERIFERICO

Colorazione May Grunwald – Giemsa

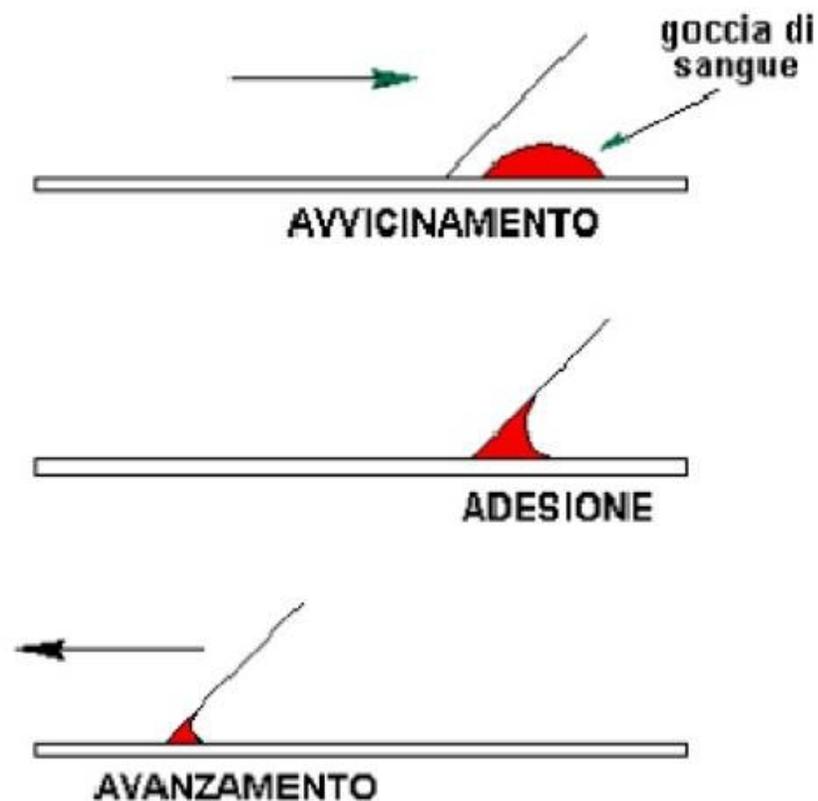
1 Porre sul vetrino 3-4 gocce di May Grunwald e lasciare agire per 3 minuti;

2 Diluire il colorante con acqua distillata e lasciare agire per 6-8 minuti;

3 Lavare con acqua distillata e lasciare il vetrino ricoperto della stessa

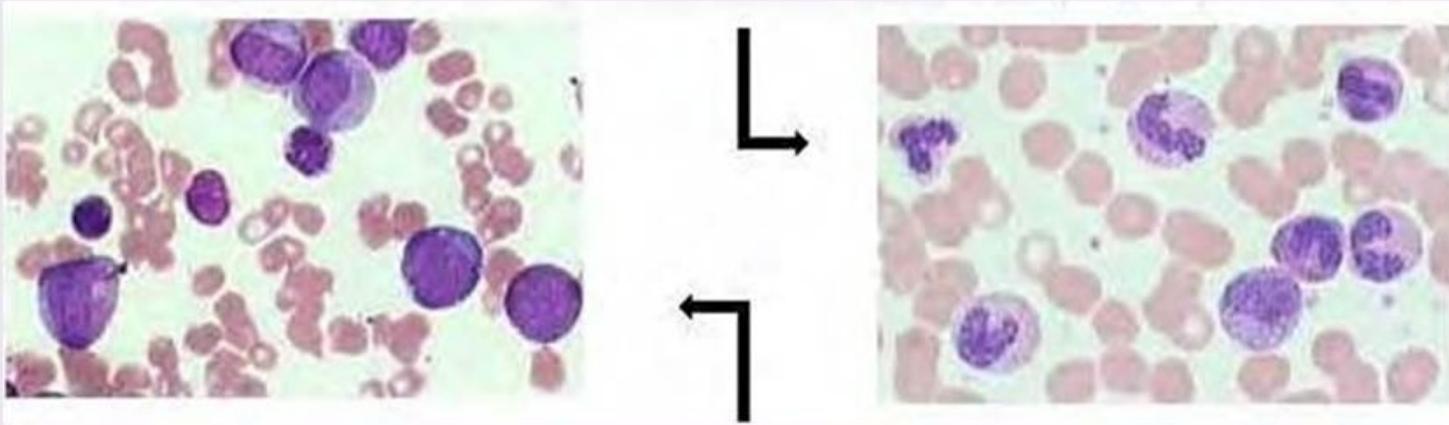
4 Aggiungere il colorante Giemsa e lasciare agire per 10 minuti

5 Far essiccare il vetrino e osservare al microscopio



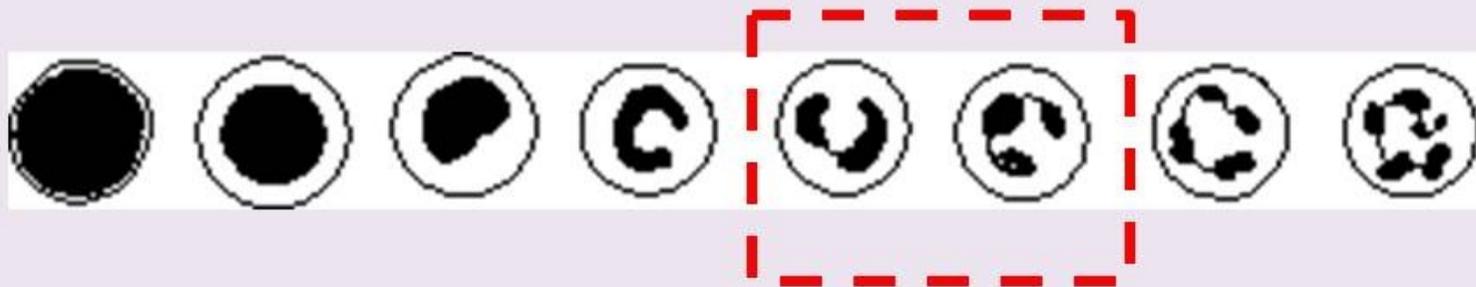
## AIUTANO LA DIAGNOSI

- Valutazione dell' LI (**indice di lobularità**)
- Morfologia : shift maturativo



forte shift maturativo a sinistra

shift maturativo a destra



shift maturativo a sinistra



shift maturativo a destra



# Schema di Arneth

## Classificazione granulociti in base ai lobi nucleari

1 lobo → 5%    2 lobi → 35%    3 lobi → 41%    4 lobi → 17%    5 lobi → 2%

- Deviazione a sx: granulociti giovani (es. infezioni acute)
- Deviazione a dx: granulociti vecchi (es. carenza ac.folico, vit.B12)

## SINDROMI IPERLEUCOCITOSICHE

- ✓ Si definisce Iperleucocitosi una conta di leucociti nel sangue periferico **> 100.000/ $\mu$ l**
- ✓ L'iperleucocitosi è clinicamente significativa quando la conta leucocitaria è **> 200.000/ $\mu$ l** nella LMA e **> 300.000/ $\mu$ l** nelle LLA e nella LMC

# Cosa ci indicano i globuli rossi

## ❖ Numero:

- valore assoluto
- ematocrito
- reticolociti



## ❖ Emoglobina

## ❖ Indici eritrocitari (MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW)

## ❖ Morfologia

## Esame multiparametrico



### BC-6800Plus

Analizzatore ematologico automatico

Più che veloce

#### - IMPEDENZIOMETRIA

Analisi cellule sospese in una soluzione conduttiva

#### - CITOMETRIA A FLUSSO:

Analisi cellule sospese in un mezzo fluido.

-Sistema fluidico

-Sistema Ottico (riflessione luce)

-Sistema Elettronico

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO				
TEST	RISULTATI	ABN	Valori normali	UNITA'
G. BIANCHI (WBC)		11,10	( 4,20 - 10,80 )	10e3 $\mu$ L
G. ROSSI (RBC)	5,24		( 4,70 - 6,10 )	10e6/ $\mu$ L
EMOGLOBINA (HGB)	14,5		( 13,5 - 18,0 )	g/dL
EMATOCRITO (HCT)	43,3		( 41,0 - 52,0 )	%
VOL. MED. CELL.	82,6		( 80,0 - 99,0 )	fL
MCH	27,7		( 26,0 - 32,0 )	pg
MCHC	33,5		( 32,0 - 36,0 )	g/dL
RDW	13,2		( 11,5 - 14,5 )	%
HDW	2,23		( 2,20 - 3,20 )	g/dL
PIASTRINE (PLT)	346		( 130 - 400 )	10e3/ $\mu$ L
VOL. PIAST. (MPV)	9,1		( 7,2 - 11,1 )	fL
PDW	50,5		( 25,0 - 65,0 )	%
%NEUTROFILI	61,9		( 40,0 - 70,0 )	%
%LINFOCITI	25,7		( 20,0 - 45,0 )	%
%MONOCITI	5,3		( 3,0 - 9,0 )	%
%EOSINOFILI	5,5		( 0,0 - 7,0 )	%
%BASOFILI	0,4		( 0,0 - 1,5 )	%
%LUC	1,3		( 0,0 - 4,0 )	%
#NEUTROFILI	6,87		( 1,90 - 8,00 )	10e3 $\mu$ L
#LINFOCITI	2,85		( 0,90 - 5,20 )	10e3 $\mu$ L
#MONOCITI	0,59		( 0,16 - 1,00 )	10e3 $\mu$ L
#EOSINOFILI	0,61		( 0,00 - 0,80 )	10e3 $\mu$ L
#BASOFILI	0,04		( 0,00 - 0,20 )	10e3 $\mu$ L
#LUC	0,14		( 0,00 - 0,40 )	10e3 $\mu$ L

Parametro	Acronimo	Valore riferimento	Diminuzione	Aumento
Globuli bianchi	WBC	M/F 4 - 10	<b>Leucopenia</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Farmaci anti proliferatici (neutrofili)</li> <li>Malattie neoplastiche tessuto emopoietiche (neutrofili)</li> <li>AIDS (linfociti)</li> <li>Chemioterapici (linfociti)</li> <li>Corticosteroidi (linfociti)</li> </ul>	<b>Leucocitosi</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Infezioni virali e batteriche, necrosi, traumi e tumori maligni (neutrofili)</li> <li>Malattie virali ed esentematiche (linfociti)</li> <li>Parassitosi e allergie (eosinofili e basofili)</li> <li>Infez croniche (monociti)</li> <li>Sindromi mielo proliferative</li> </ul>
Globuli rossi	RBC	M 4.5 - 6.3 F 4.2 - 5.4	<b>Anemia</b>	<b>Eritrocitosi</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Abuso eritropoietina</li> <li>Alta quota</li> <li>Insuff respiratoria</li> <li>Sindromi mielo proliferative</li> </ul>

Volume Corpuscolare Medio	MCV	M/F 80 - 94	Anemia microcitiche <ul style="list-style-type: none"> <li>Deficit di ferro</li> <li>Talassemie</li> </ul>	Anemie macrocitiche <ul style="list-style-type: none"> <li>Carenza VB12 e Ac Fol</li> </ul> Epatopatie gravi Abuso alcool
Ematocrito	HCT	M 41 - 50 F 36 - 46	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eccessiva idratazione</li> <li>Emorragie</li> <li>Gravi anemie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ipossia</li> <li>Disidratazione</li> <li>Malattie cardiache/polmonari</li> <li>Abuso eritropoietina</li> </ul>
Emoglobina	HGB	M 13 - 18 F 12 - 16	Anemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>Alta quota (ipossia)</li> <li>Fumo (ipossia)</li> <li>Disidratazione</li> </ul>
Piastrine	PLT	M/F 150 - 400	Piastrinopenia <ul style="list-style-type: none"> <li>Difetto midollare o neoplasia</li> <li>Trattamenti chemio/radioterapici</li> <li>Presenza di Ab anti piastrine</li> <li>Aumentato consumo o distruzione</li> </ul>	Trombocitosi <ul style="list-style-type: none"> <li>Alterazione megacariopoiesi</li> <li>Eventi infettivi/flogistici</li> <li>Emolisi</li> <li>Emorragie</li> <li>Sindromi mielo proliferative</li> </ul>

## Formula leucocitaria

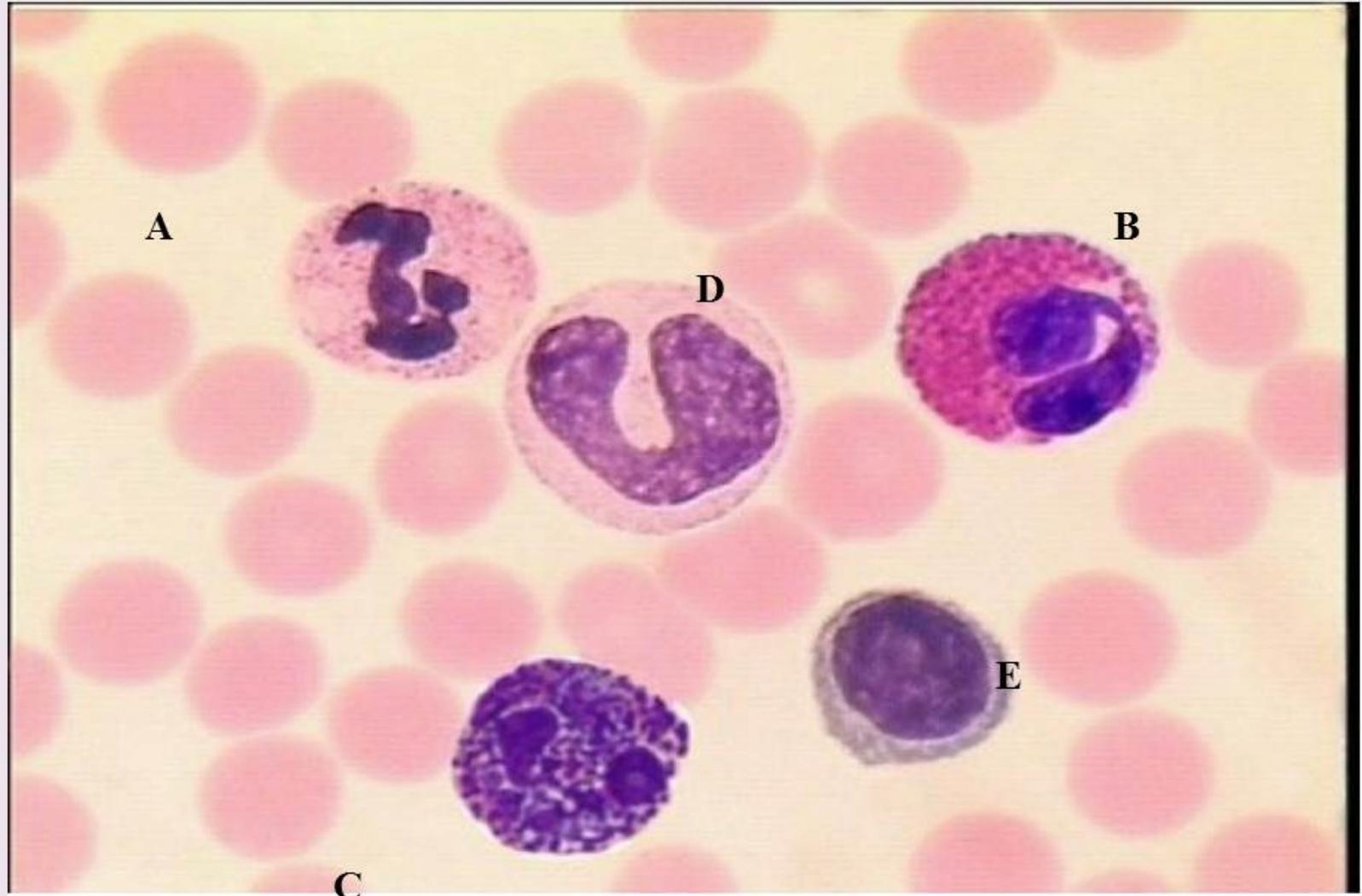
A. Neutrofilo 50 - 70%

B. Eosinofilo 2 - 3%

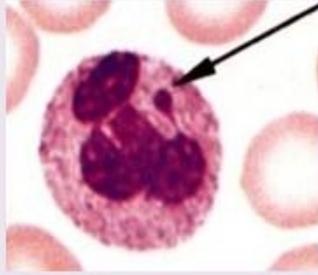
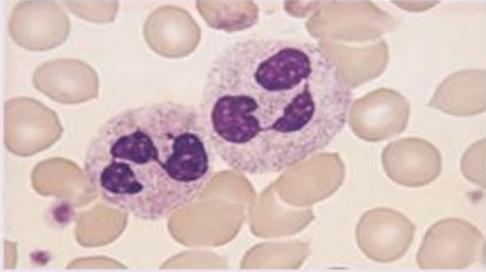
C. Basofilo 0.1 - 1%

D. Monocita 3 - 8%

E. Linfocita 20 - 30%

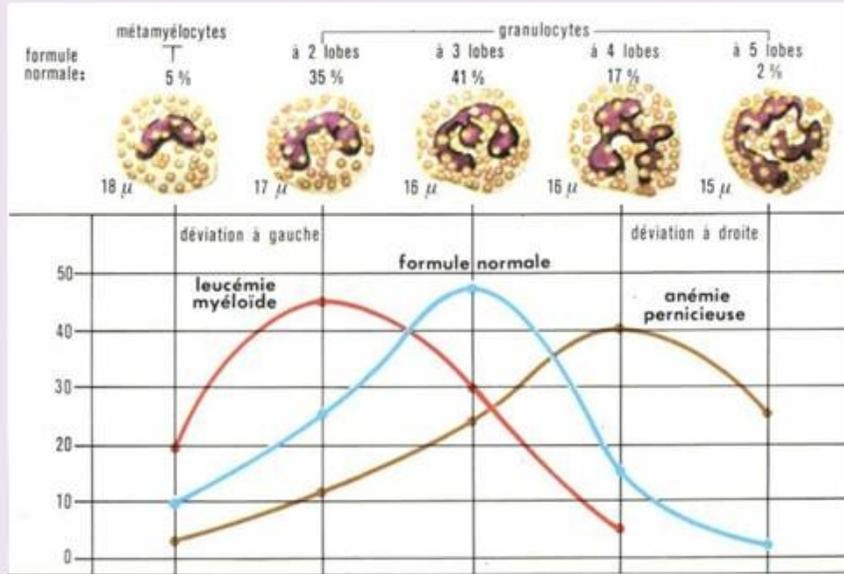


# A-NEUTROFILO



Capacità fagocitaria ed attività ameboide  
 Emivita breve e continuo turn over  
 Aumento correlato a infezione batteriche

- 50-60% dei WBC
- Diametro di circa 9 -14  $\mu m$
- Nucleo pluri segmentato in lobuli uniti (2-5)
- 3% presenta struttura nucleare 'drumstick' (bacchetta di tamburo) appendice di cromatina paragonabile al corpo di Barr nucleare
- Correlazione n° lobuli /età



## Formula di Arneth:

- 5% nucleo non segmentato (ferro di cavallo)
- 25% nucleo segmentato con 2 lobulazioni
- 40% nucleo segmentato con 3 lobulazioni
- 25% nucleo segmentato con 4 lobulazioni
- 5% nucleo segmentato con 5 lobulazioni

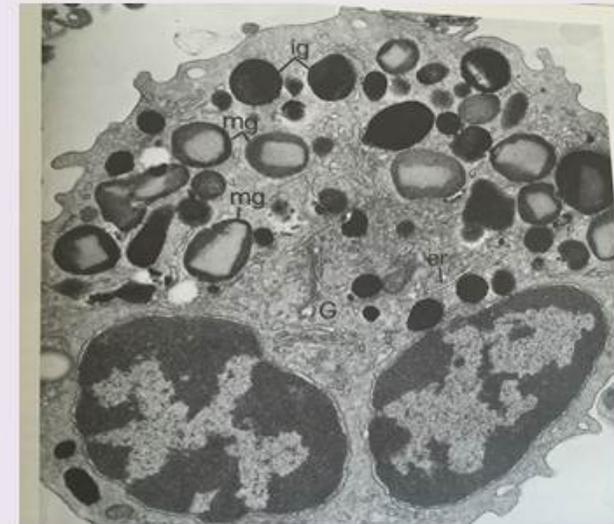
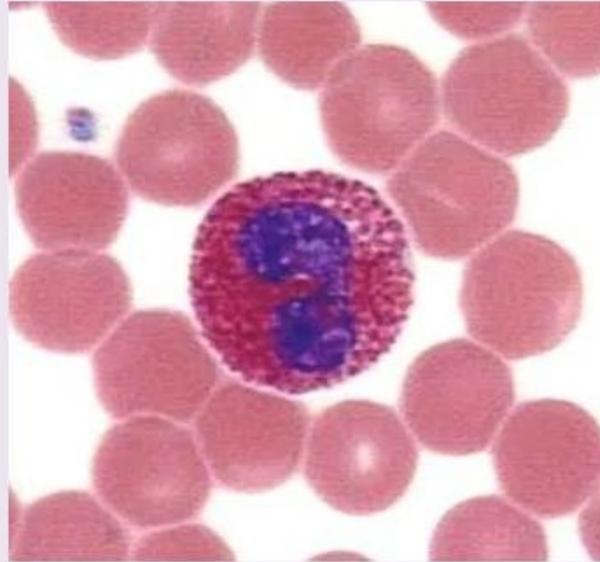
## Granulazioni presenti:

- «Specifici o secondari o tipo B» rappresentano l'80%  
 Piccole dimensioni, contenenti collagenasi e attivatori del plasminogeno
- «Azzurofilo o primari o tipo A» rappresentano il 20%  
 Dimensioni maggiori, contengono idrolasi, proteasi e sostanze ad attività antimicrobica
- «Terziari»

Molto piccoli che contengono la gelatinasi in grado di degradare il collagene denaturato in sede di danno tissutale

## B - EOSINOFILO

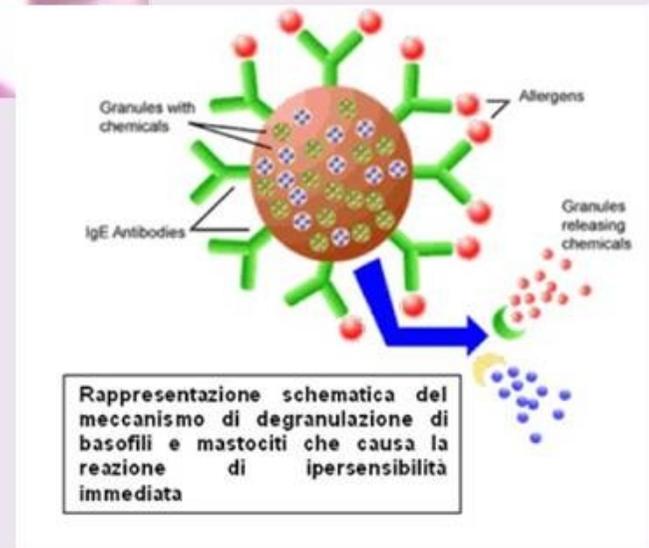
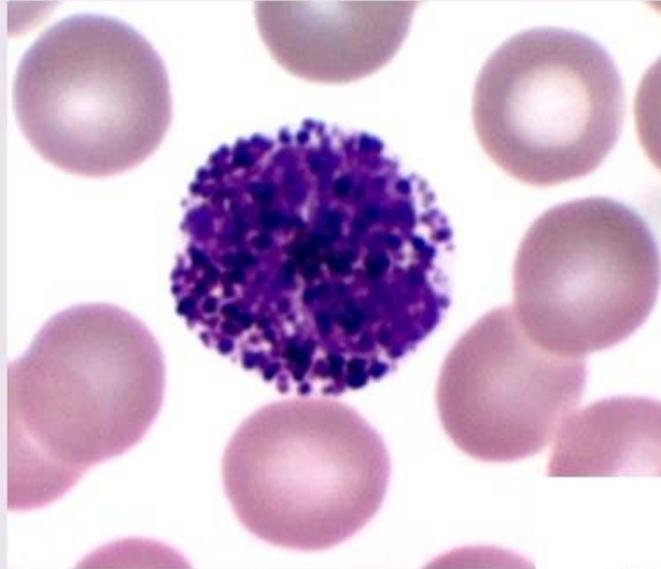
- 2/4 % dei WBC
- Diametro 12  $\mu m$
- Nucleo bilobato
  
- Granulazioni specifiche
  - o Acidofile (colorazione giallo-arancio con eosina)I granuli presentano una struttura para cristallina che forma **corpo centrale** costituito da **proteina basica maggiore**, ricca di zinco, lisina ed arginina (affinità coloranti acidi)
  - o Contengono, inoltre:  
Perossidasi ad effetto citotossico  
Ariilsulfatasi  
Fosfolipasi D  
Lipofosfolipasi  
Istamina.
  - o Possiedono recettori per le porzione Fc delle IgE



Fonte: Istologia «Monesi», Piccin

## C - BASOFILO

- 0.5 – 1 % dei WBC
- Diametro 10  $\mu m$
- Nucleo bilobato o reniforme
  
- Granulazioni
  - o Voluminose
  - o Contenenti:
    - Glicosaminoglicani solforati
    - Eparina
    - Istamina
    - Enzimi ossidativi
  
- Stimolatori dei basofili:
  - IgE e IL3
- Intervengono nelle reazioni di ipersensibilità



## D - MONOCITA

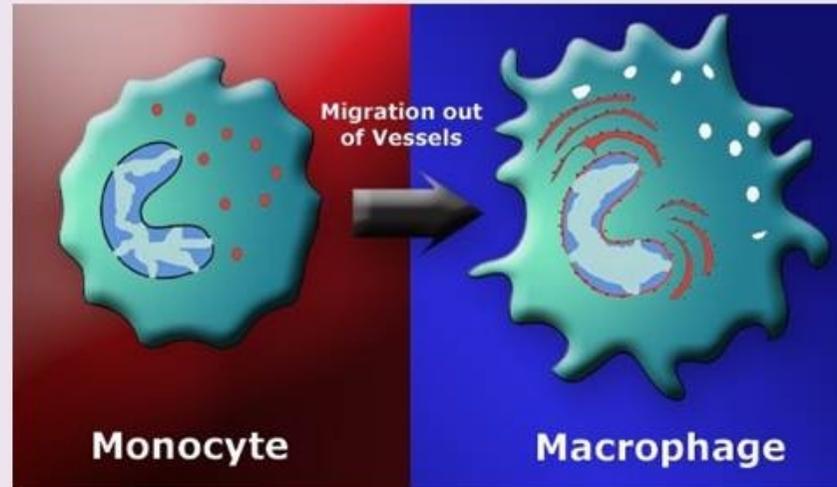
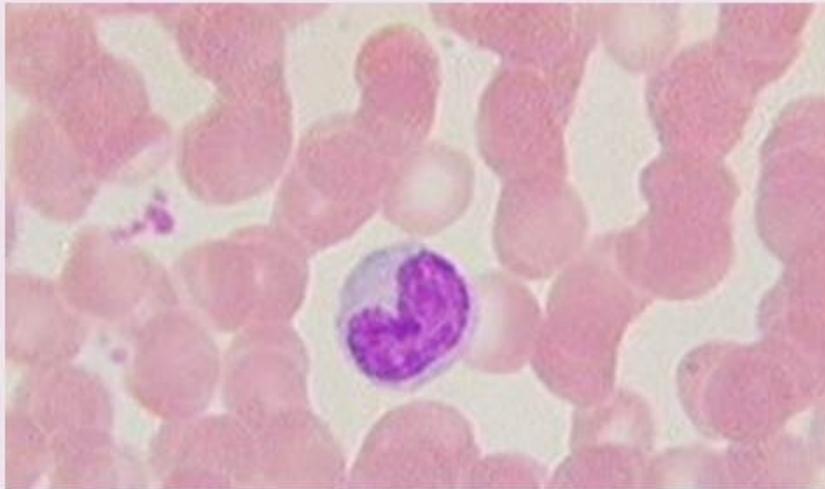
- 3- 8 % dei WBC
- Leucocita più voluminoso con diametro di 12- 18  $\mu m$
- Nucleo eccentricamente posizionato e reniforme
- Granuli precoci contenenti fosfatasi acida e perossidasi
- Granuli tardivi con funzione lisosomiale

*'Il sistema **monocito-macrofagagico** è rappresentato dai monociti del sangue circolante e dai macrofagi dei tessuti.*

*Il sistema svolge un ruolo fondamentale nella difesa dell'organismo, intervenendo nei meccanismi di difesa, antibatterici, nella modulazione della risposta infiammatoria, nella regolazione delle immunità cellulo-mediata ed umorale.*

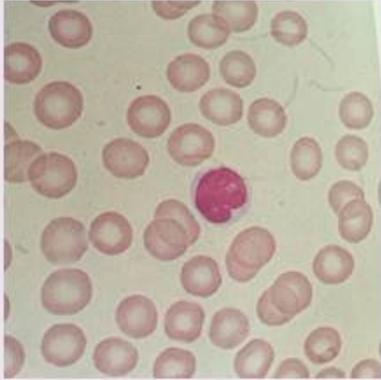
*Il **monocito** risponde agli stimoli chemiotattici ed infiammatori attraversando la parete vascolare fino a raggiungere la sede dell'infiammazione dove matura in **macrofago**, cellula con maggiori capacità fagocitarie ed aumentato contenuto di enzimi idrolitici.'*

*Fonte: Istologia «Monesi», Piccin*

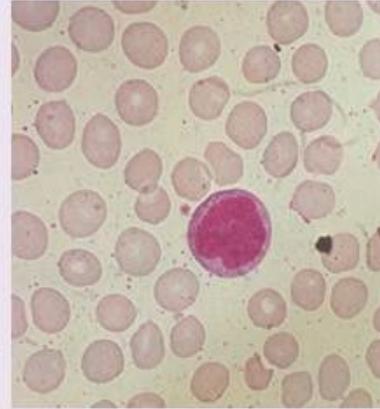


## E - LINFOCITA

- 20 -30% dei WBC
- Presenti anche nella linfa, nei tessuti linfoidi e tessuto connettivo;
- Capacità di ricircolo Sangue-Linfa-Sangue



- PICCOLO LINFOCITA-
- Prevalenti,
- Ampio nucleo ovoidale
- Citoplasma simile ad un alone leggermente basofilo con rare granulazioni azzurrefile



- GRANDE LINFOCITA –
- Rappresentano il 10%
- Nucleo cromatina meno addensata
- Citoplasma abbondante con granulazione azzurrefile

## FUNZIONI

Costituiscono la componente cellulare fondamentale del sistema immunitario.

Essi hanno il compito di riconoscere specificatamente antigeni esterni e di svolgere attività effettrici.

Esistono 2 tipologie di linfociti:

**Linfociti B**, prodotti dal midollo, che riconoscono l'Ag nella sua conformazione naturale, trasformandosi in *plasmacellule* e mediano l'immunità umorale attraverso la produzione di anticorpi;

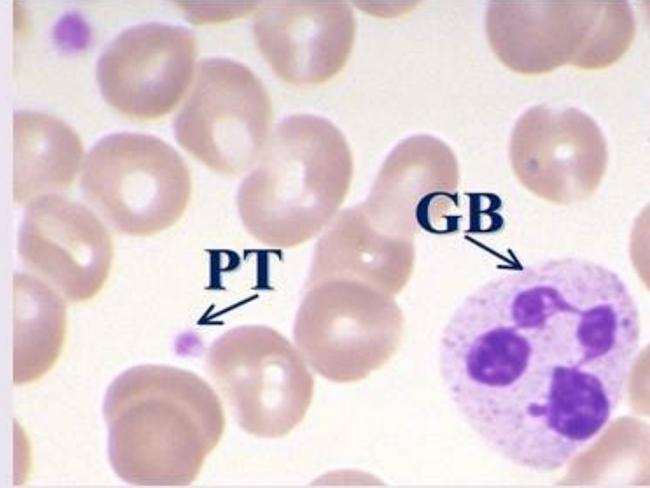
**Linfociti T**, prodotti dal timo, riconoscono gli Ag presentati dalle cellule presentanti l'ag, mediano l'immunità cellulo –mediata. (*Linfociti T citotossici e Linfociti T helper*)

# PIASTRINE

- Emivita 5-9 giorni
- 200.000 /ml
- Diametro 1,5 -3,5  $\mu m$
- Derivati cellulari (privi di nucleo)
- Forma discoidale

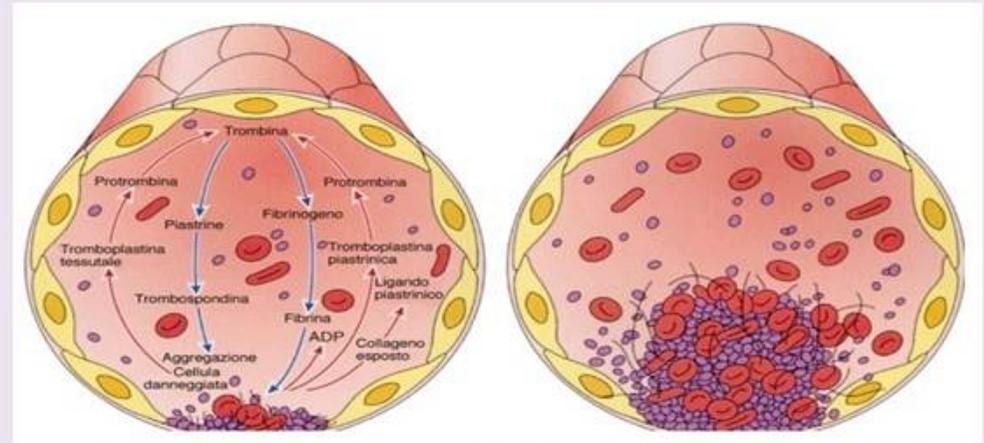
Struttura centrale colorata: *granulomero*

Zona periferica non colorata: *ialomero*



Granulazioni:

- Granuli  $\alpha$* : proteine piastriniche, fattori di coagulazione e di crescita, proteine adesive
- Granuli densi* (ioni, nucleotidi, amine biologiche)
- Granuli lisosomiali*



EMOSTASI

# GLOBULO ROSSO o ERITROCITA

- Uomo 5 mln/ml Donna 4,5 mln/ml
- Disco biconcavo, diametro 7-8  $\mu\text{m}$ , anucleato, citoplasma omogeneo e privo di granuli (derivato cellulare)
- Elemento figurato del sangue specializzato nel trasporto dei gas respiratori (ossigeno ed anidride carbonica)

Classificazione degli RBC nello striscio periferico si base su 3 parametri: *dimensione, forma e contenuto di Hb*

## ANISOCITOSI

Variabilità nella dimensione degli eritrociti

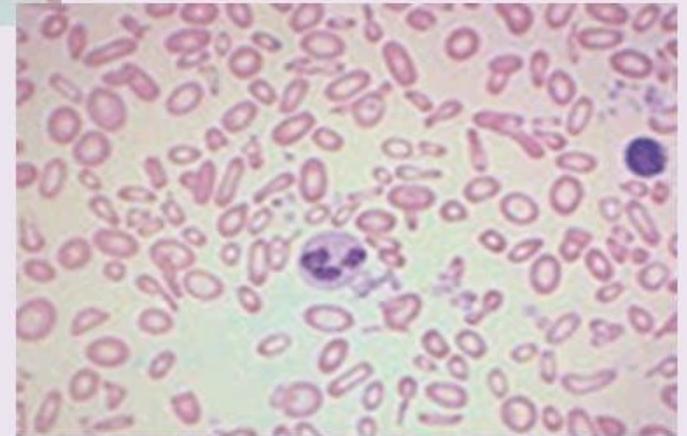
- Macroцитosi MCV >100fl
- Microцитosi MCV < 80 fl



## POICHILOCITOSI

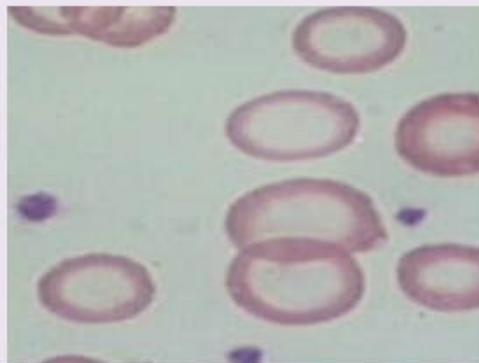
Variabilità nella forma degli eritrociti (anemie)

- Sferocitosi (Perdita forma disco biconcavo, RBC privi dell'area centrale pallida)
- Schistocitosi (Presenza di frammenti di eritrociti)
- Acantocitosi (Superficie regolarmente spinosa)
- Ellisocitosi ( Eritrociti ovali)
- Stomatocitosi (Area pallida allungata centrale)



## **IPOCROMIA**

Eritrocita con area pallida centrale aumentata  
Indice di un contenuto emoglobinico diminuito



## **LEPTOCITOSI**

Eritrociti ipocromici in cui l'Hb occupa una piccola area centrale 'Cellula a bersaglio'

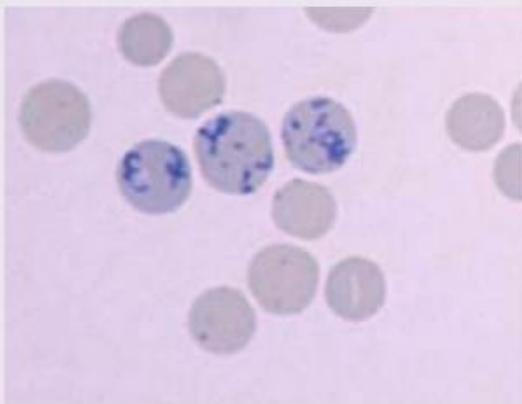


## **POLICROMATOFILIA**

Eritrociti non completamente emoglobinizzati

Indice di **Reticolocitosi**

**RBC immaturi** immessi in circolo che mantengono per 24h un reticolo costituito da sostanza basofila di origine ribosomiale



## ESAME COMPLETO DELLE URINE

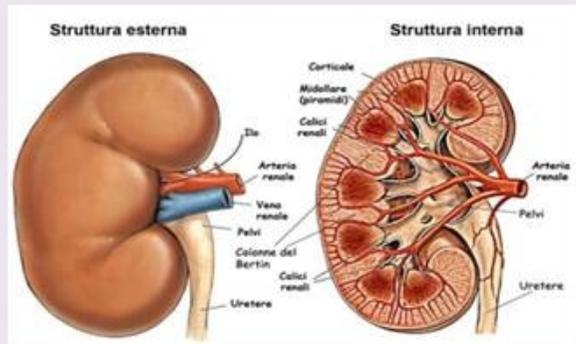
- **Uropatie**

- **Disturbi metabolici**
- **Patologie renali in genere**

- **Infezioni vie urinarie**
- **Nefropatie**
- **Diabete**

• Tra i principale esami di routine eseguiti nel laboratorio di Patologia clinica poiché una sua corretta esecuzione ed interpretazione permette di ottenere numerose informazioni utili per il quadro clinico del paziente relativo alla funzionalità renale.

• Oltre che per indagini preventive l'esame delle urine completo è da suggerire (come primo step) nei pazienti in cui si sospetti:



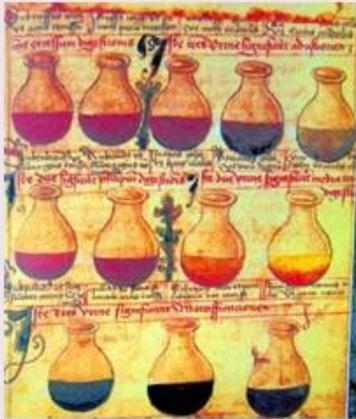
Funzioni renali:

- Depurazione ematica
- Eliminare cataboliti prodotti dall'organismo
- Regolare e monitorare il contenuto idrico dell'organismo
- Regolare il pH ematico
- Funzione endocrina ( renina ed eritropoietina)

# ESAME COMPLETO DELLE URINE

Cenni storici:

- **Papiri egiziani** parlano di *'uroscopia'* intesa come osservazione dell'urina ad occhio nudo;
- **Ippocrate** (460-335 a.C.) riteneva che l'urina fosse prodotta dal rene come filtrato degli umori e che le sue alterazioni fossero il risultato della loro disarmonia;
- **Galeno** (129-200 d.C.) considerò l'esame delle urine utile non solo per la comprensione degli equilibri degli umori ma anche per diagnosticare malattie dei singoli organi;
- **Willis** (1621-1675) descrisse il differente sapore tra le urine dei soggetti diabetici dovuto attribuito alla presenza del glucosio.
- **Justus von Liebig e Bernard** (1800) con l'avvento della biochimica sviluppano *l'esame chimico* delle urine;
- **Rayer** (1800 circa) descrive lo *studio del sedimento*;
- **Pasteur e Koch** (metà 1800) hanno definito lo studio dei batteri nelle urine.



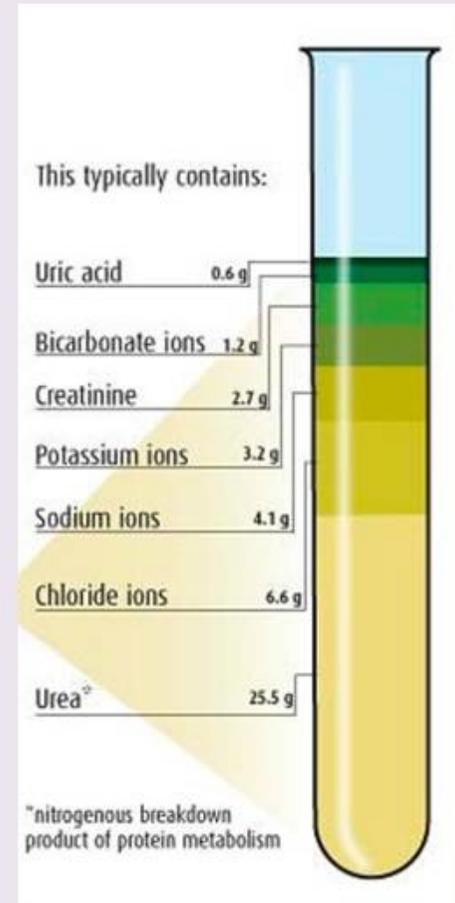
La *'Matula'*, contenitore di vetro a forma di vescica utilizzato per la raccolta, il trasporto e l'analisi delle urine



La *'ruota rinascimentale'* delle urine con descrizione delle diverse caratteristiche fisiche delle urine

L'**urina** rappresenta, quindi il prodotto dell'attività renale, un'attività di equilibrio tra il risparmio (filtrazione e riassorbimento delle sostanze ematiche) e l'attività di scarto finalizzata alla depurazione dell'organismo.

H <sub>2</sub> O g 1200 - 1500	
	Concentrazione mmoli
Urea	mmol 250 - 500
Creatinina	mmol 7 - 16
Acido urico	mmol 1.5 - 4.5
N amminico	mmol 10 - 20
N ammoniacale	mmol 35 - 70
Fosfati (come P)	mmol 16 - 32
Solfati (come S)	mmol 0.16 - 0.34
Cloruri	mmol 125 - 300
Na	mmol 50 - 200
K	mmol 30 - 90
Mg	mmol 3 - 5
Proteine (albumina 30-50 mg/l)	
Glucosio 0,1 g/l	
Enzimi	
Ormoni	
Vitamine	
Pigmenti (urocromo e urobilina)	
Acidi organici	
Acidi fenolici e derivati	



## ANALISI DI ROUTINE

Urine del mattino

Urine concentrate e  
raccolta sterile)

## ANALISI QUANTITATIVE

Urine temporizzate

Urine 24h

## ANALISI MICROBIOLOGICHE

Urine mitto intermedio

Urine raccolta sterile

## ESAME COMPLETO DELLE URINE

- Esame non invasivo
- Consta di 2 fasi: esame chimico fisico ed esame del sedimento
  
- Linee guida per la raccolta (fase preanalitica):
  - Campione 10ml di urine
  - Contenitore sterile
  - Norme igieniche (lavaggio mani e genitali)
  - Raccolta del mitto intermedio del primo campione del mattino
  - Trasporto in Laboratorio entro 1h mantenendolo fresco  
(Utilizzo di conservanti se necessari)
  - Non eseguire il prelievo durante periodo mestruale
  - Segnalare diete particolari, gestazioni o assunzione farmaci particolari



- **Trasporto in Laboratorio entro 1h mantenendolo fresco**

❖ *Moltiplicazione e contaminazione batterica*

- Alcalinizzazione a carico dei batteri ureasici che producono  $\text{NH}_3$
- Alterazione glicosuria poichè i batteri lo metabolizzano
- Falsa ematuria dovuta all'attività perossidasi

❖ *Alterazioni diverse*

- Deterioramento cilindri e cellule
- Modificazioni biochimiche: degradazione di bilirubina e urobilinogeno
- Formazione di cristalli e sedimenti amorfi



# ESAME COMPLETO DELLE URINE

## A- ESAME FISICO

- Aspetto
- Quantità
- Colore
- Odore

## B- ESAME CHIMICO

- Peso specifico
- pH
- Glucosio
- Corpi chetonici
- Bilirubina
- Emoglobina
- Urobilinogeno
- Proteine
- Nitriti
- Leucociti

## C- ESAME DEL SEDIMENTO

- Leucociti
- Emazie
- Cellule
- Cristalli
- Cilindri
- Flora batterica
- Mucopus
- Microorganismi
- Contaminanti



## ESAME FISICO DELLE URINE -

### **ASPETTO** ( v.n. **Limpido** )

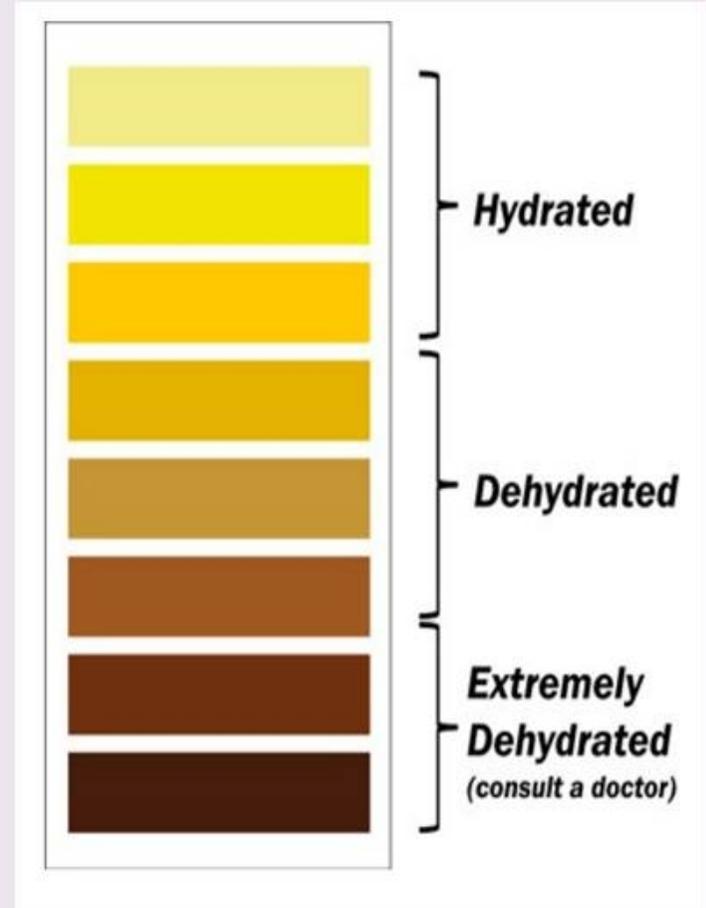
- Torbido deriva dalla presenza di elementi quali muco, leucociti e cellule (*torbidità all'emissione*) o dalla precipitazione di cristalli (*torbidità dopo raffreddamento*) o. dovuta alla presenza di artefatti dovuti a errato trasporto e/o conservazione del campione

### **ODORE** (v.n.) **caratteristico** (*acidi volatili*)

- Ammoniaca deriva dalla presenza batterica;
- Aromatico deriva dalla presenza di corpi chetonici (digiuno)

### **COLORE** (v.n.) **giallo paglierino** dato dal pigmento *urocromo*

- Bianco indica presenza di pus
- Rosa-rosso indica presenza di sangue
- Marrone indica presenza di bilirubina
- Verde indica presenza di pigmenti biliari
- Nero indica presenza di melanina
- Altre colorazioni possono derivare da farmaci o alimenti



## **QUANTITA'** ( v.n. 1200/1500 ml in 24h)

- **Poliuria** quando si manifesta una eccessiva eliminazione delle urine nelle 24h, superando i 2000ml

### Fisiologica

Eccessivo introduzione di liquidi

### Farmacologica

Utilizzo di diuretici

### Patologica

Diabete, malattie renali di alterato riassorbimento, adenoma prostatico (**Nicturia**, emissione notturna supera i 500ml)

- **Oliguria** indica un abbassamento significativo del volume urinario

### Fisiologica

Eccessivo perdita di liquidi o disidratazione

### Patologica

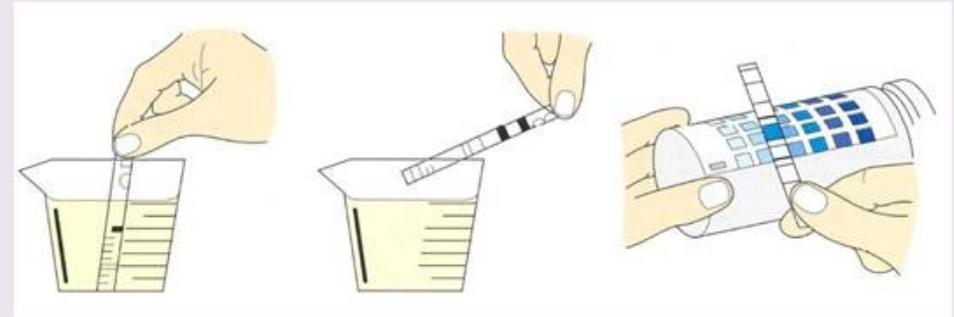
Malattie renali di alterata filtrazione, occlusioni delle basse vie urinarie  
Blocco renale, intossicazione, gravi ostruzioni (**Anuria**, emissione non supera i 150 ml/24h)



# ESAME CHIMICO DELLE

## URINE -

Densità 60 sec							
	1.000	1.005	1.010	1.015	1.020	1.025	1.030
pH 60 sec							
	5.0	6.0	6.5	7.0	8.0	9.0	
Leucociti 60-120 sec							
	neg.	ca. 15	ca. 75	ca. 125	ca. 500	leucociti/ $\mu$ L	
Sangue/Emoglobina 60 sec							
	neg.	ca. 5-10	ca. 10	ca. 25	ca. 25	ca. 50	ca. 250
						eritrociti/ $\mu$ L	
Nitriti 60 sec							
	neg.	+	++				
Corpi chetonici 60 sec							
	neg.	5 (0.5)	15 (1.5)	50 (5)	150 (15)	mg/dL (mmol/L)	
Bilirubina 60 sec							
	neg.	+	++	+++			
Urobilinogeno 60 sec							
	normale	1 (17)	4 (70)	8 (140)	12 (200)	mg/dL (mmol/L)	
Proteine 60 sec							
	neg.	15 (0.15)	30 (0.3)	100 (1)	300 (3)	1000 (10)	mg/dL (g/L)
Glucosio 60 sec							
	normale	100 (5.5)	300 (17)	1000 (55)	mg/dL (mmol/L)		



- Immersione (30 sec della strip nel campione)
- Rimozione eccesso
- Lettura, **visivamente** tramite confronto cromatografico o **strumentalmente** (sistemi fotometrici)

### **pH** (v.n. 5,5-6.5)

Fornisce indicazioni circa la funzione renale di regolazione dell'equilibrio acido-base.

-*Urine acide*: digiuno, ipo-potassiemia, disidratazione, diabete, febbre e alcuni farmaci

-*Urine basiche*: ritenzione urinaria, infezioni vie urinarie, dieta vegetariana, alcalosi e vomito

### **Glucosio** (v.n. Assente)

Soglia renale: glicemia 180 mg/dl (incapacità di riassorbimento tubulare)

- *Glicosuria patologica*: diabete, alterazione tubulare o epatica.

- *Glicosuria farmacologica*: indotta da farmaci glucocorticoidi.

Si possono avere falsi positivi per presenza di acido ascorbico



### **Peso specifico** (v.n. 1002 -1030)

Chimicamente indica la quantità di soluti presenti in una soluzione.

*Urine ipotoniche o urine ipertoniche*

Indicatore della *capacità del rene di concentrazione* e quindi il grado di riassorbimento tubulare.

Valore fortemente influenzato dall'apporto di liquidi, dalla insufficienza renale e da patologie extra renali (diabete).

### **Corpi chetonici** (v.n Assente)

Prodotti dal catabolismo lipidico (acetone, acido aceto-acetico, acido  $\beta$ -idrossibutirrico).

*Chetonuria*: diabete mellito, digiuno prolungato  
Stati febbrili, vomito o diete prive di carboidrati e ricche di lipidi

### Bilirubina (v.n. Assente)

Se presente indicatore di Ittero ostruttivo  
o anemia emolitica

### Urobilinogeno (v.n. 0.2-1.0 UI )

Prodotto di trasformazione  
della bilirubina a livello intestinale.  
Aumenta in caso di turnover  
elevato della bilirubina.



### Sangue (v.n. Assente)

*Ematuria* segnalata non distingue RBC intatti da Hb  
derivante da RBC emolizzati.

Gli eritrociti possono derivare da diverse sedi  
anatomiche urogenitali e possono essere indicatori di  
calcoli renali, patologie renali o traumi e tumori  
vescicali.

### Proteine (v.n. Assente)

Nei soggetti sani sono espulse piccole quantità di proteine  
(40 – 200 mg in 24h).

La proteina principalmente eliminata è l'albumina.

○ *Proteinuria transitoria*: stati febbrili, infezioni, sforzi fisici,  
gravidanza .

Possiamo distinguere inoltre:

- ❑ *Proteinuria renale*, più frequenti, (danno glomerulare,  
passano proteine con peso > 67kDa **markers di danno  
glomerulare**) – *albumina, transferrina-*
- ❑ *Proteinuria post-renale* ( alterata funzionalità tubulare o suo  
danno, passano le proteine con peso molecolare < 67kDa  
**markers di danno tubulare**) – *alfa2 e beta2microglobuline e  
lisozima-*
- ❑ *Proteinuria pre-renale, overflow*, (no nefropatia ma: alta  
pressione, danno epatico o da sovraccarico)

### Nitriti (v.n. Assenti)

Il 90% dei batteri responsabili di infezioni urogenitali  
riducono i nitrati in nitriti

### Leucociti (v.n. Assenti)

Sono rilevati livelli anomali di granulociti neutrofili, da  
confermare con esame microscopico.

# ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO-

- Entro 1h dal prelievo o 4°C
- Travaso in provetta
- Centrifugazione
- Decantazione sovrantante
- Risospensione sedimento
- Osservazione al microscopio



## Raccomandazioni del NCCLS per l'esecuzione dell'esame del sedimento urinario

Volume di partenza: 12 ml

Tempo e forza di centrifugazione: 5' a 400 RCF

Fattore di concentrazione: volume del sedimento consigliato 0,5 ml

Volume del sedimento esaminato: costante, in base alla camera di conteggio usata

Osservazione al microscopio. Primo esame a basso ingrandimento (obiettivo 10x, oculare 10=100x) quindi esame a maggiore ingrandimento (obiettivo 40x=400x)

Formato del referto: terminologia, ordine della risposta, valori di riferimento standardizzati

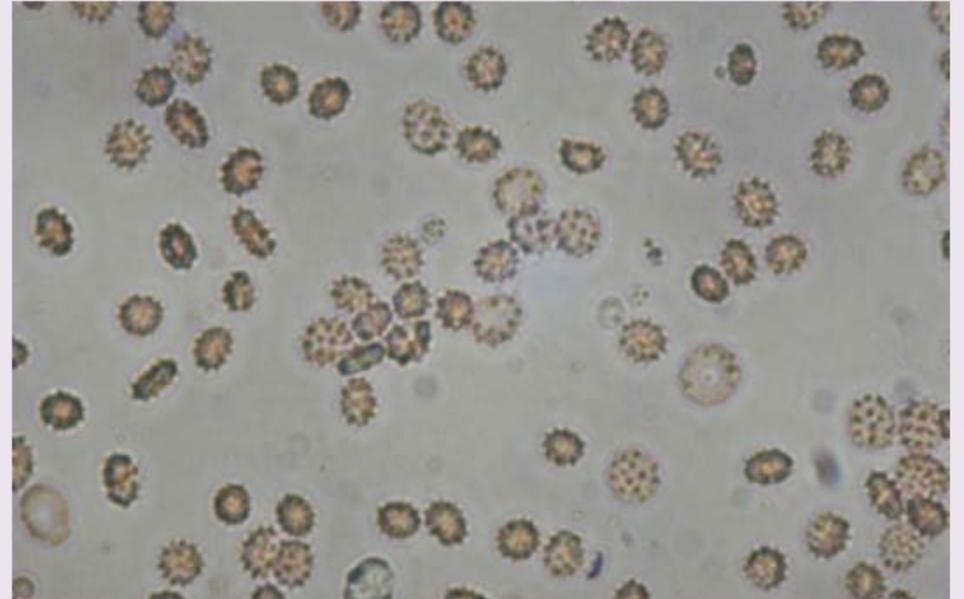
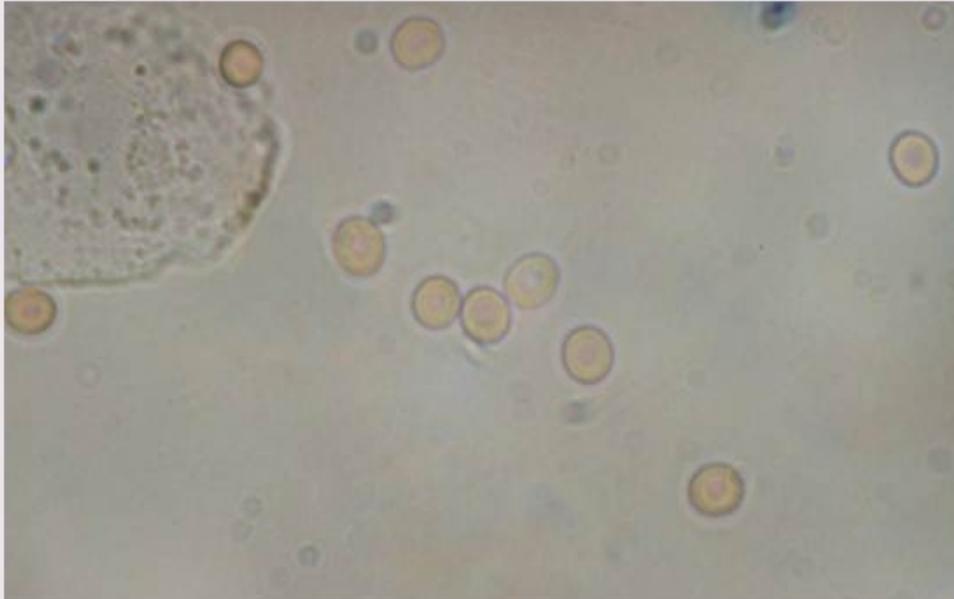
# - ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO- CELLULE

## **GLOBULI ROSSI – EMATURIA-**

> 1-3 emazie per campo

Sanguinamento derivante da diversi distretti anatomici

- *Ematuria dalle basse vie*: emazie ben conservate con caratteristiche simile a quelle ematiche indice di bassa permanenza nelle urine.
- *Ematuria dalle alte vie*: emazie dismorfiche (a margini raggrinziti, ellittiche o ovaloidi)



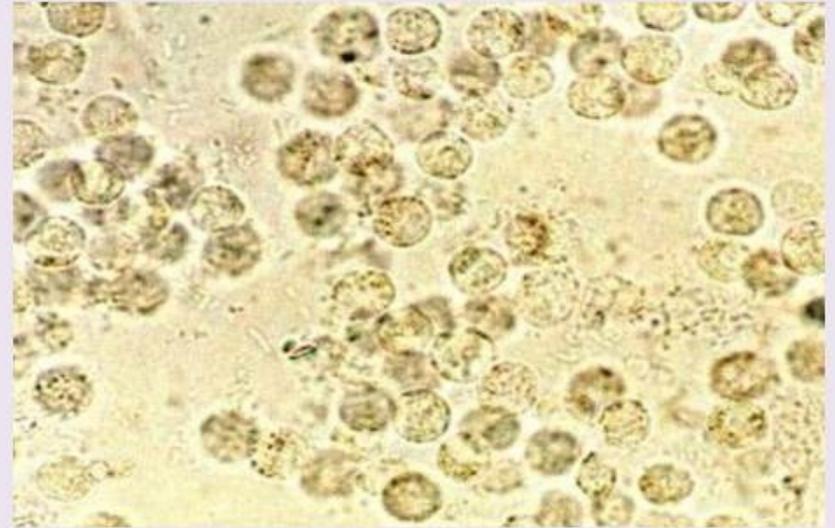
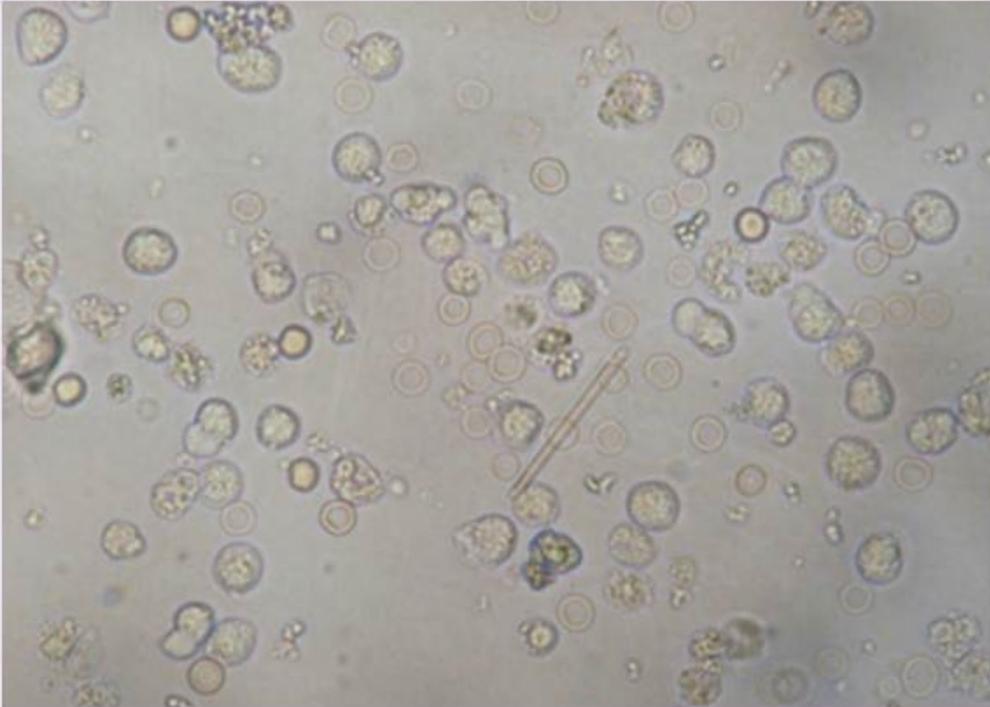
## C- ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO- CELLULE

### **GLOBULI BIANCHI – PIURIA o LEUCOCITURIA-**

Se  $> 4-8$  per campo: segnalare

Stati infettivi in corso apparato urogenitale.

Patologie non infettive: disidratazione, alterazioni glomerulari, stress o febbre



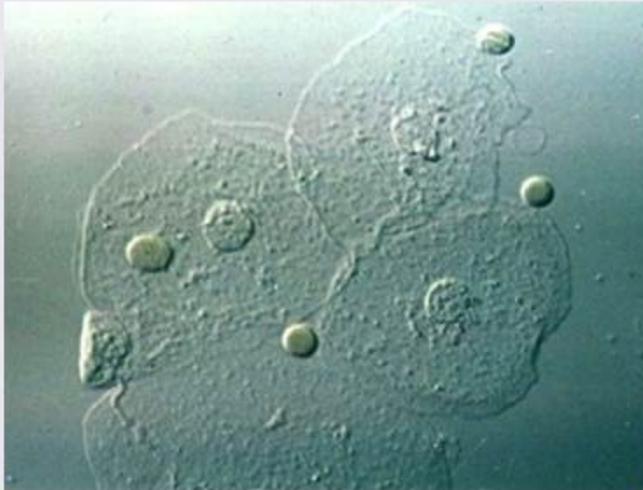
## C- ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO- CELLULE

### CELLULE EPITELIALI

Possono essere presenti in piccole quantità.

#### CELLULE SQUAMOSE

Origine uretrale o vaginale  
Scarso significato diagnostico  
Indicate come «di sfaldamento» indici  
del ricambio fisiologico dell'epitelio



#### CELLULE DELL'EPITELIO DI TRANSIZIONE

2-4 volte più grandi dei leucociti  
Tonde o a forma di pera  
Originano da: pelvi renale, vescica uretere o uretra



#### CELLULE DELL'EPITELIO TUBULARE

Poco più grandi dei leucociti  
Piatte, cuboidali o colonnari  
La loro presenza suggerisce un danno tubulare



## ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO- CRISTALLI

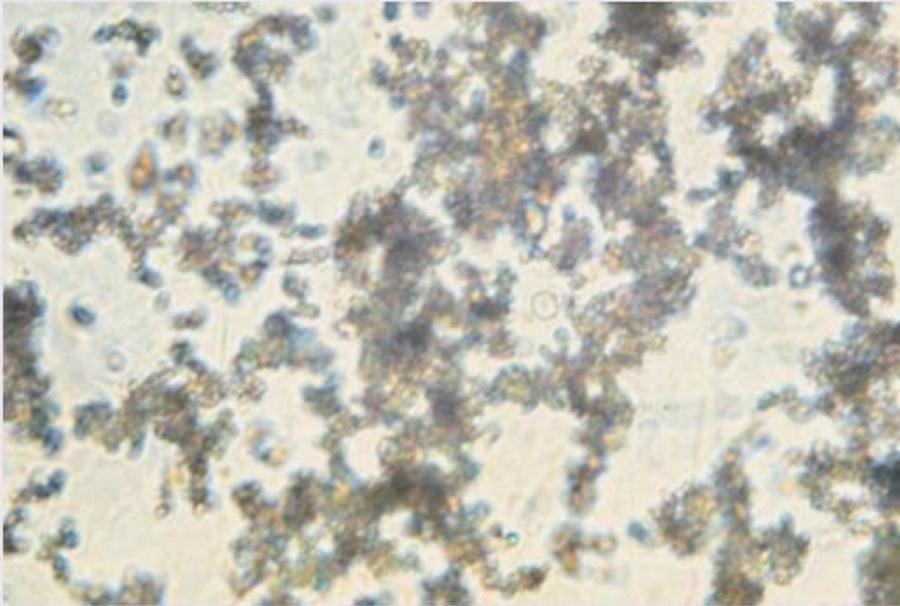
Elementi che si formano quando la concentrazione urinaria dei costituenti diventa talmente alta da superare il limite di solubilità. La loro formazione dipende dall'alimentazione, dall'assunzione di farmaci, dal grado di idratazione.

Dai cristalli si possono formare successivamente i calcoli.

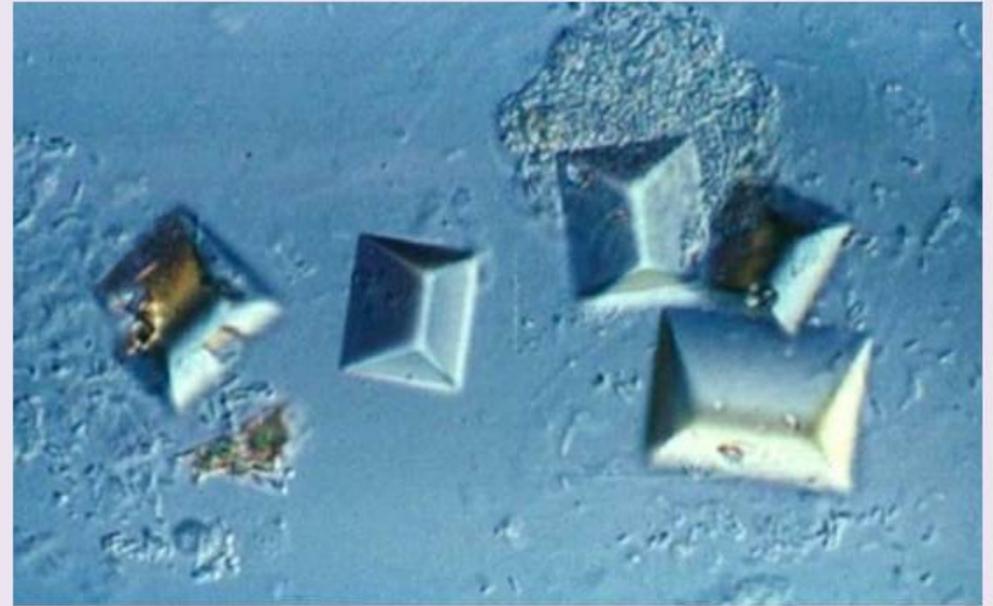
I cristalli possono essere riscontrati anche in condizioni fisiologiche in soggetti sani. classificarli in base al ph urinario

*pH basico*: fosfati amorfi, fosfati tripli, fosfato di calcio e biurato di ammonio

*pH acido*: acido urico, urati amorfi, ossalato di calcio

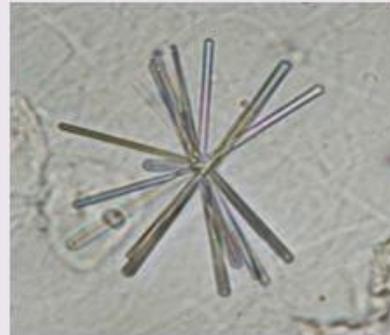
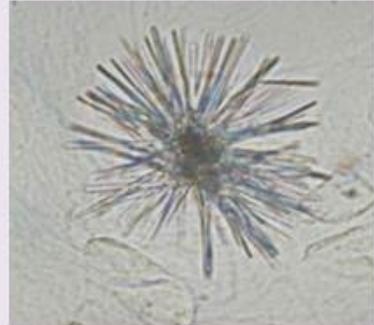
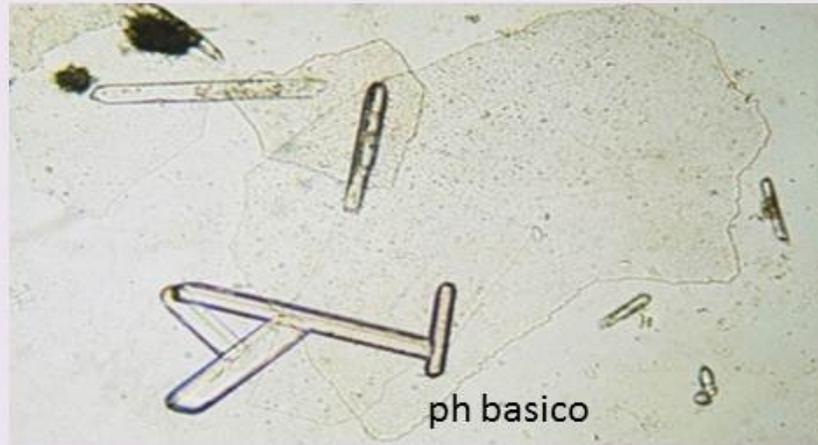


*Fosfati amorfi*



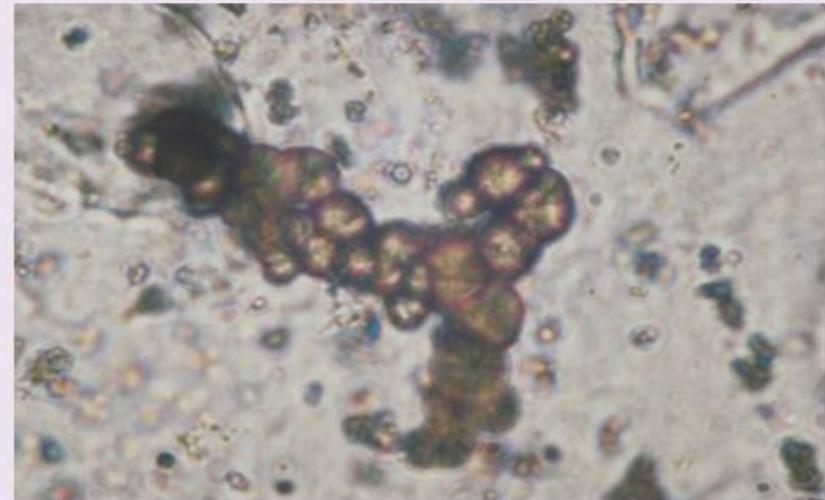
*Fosfati tripli: fosfato di ammonio magnesiaco esaidrato (struvite)*

# Ph basico



Cristalli di fosfato di calcio sotto forma di:

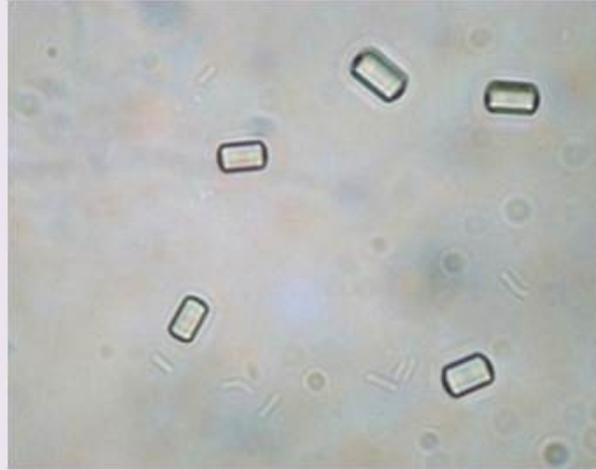
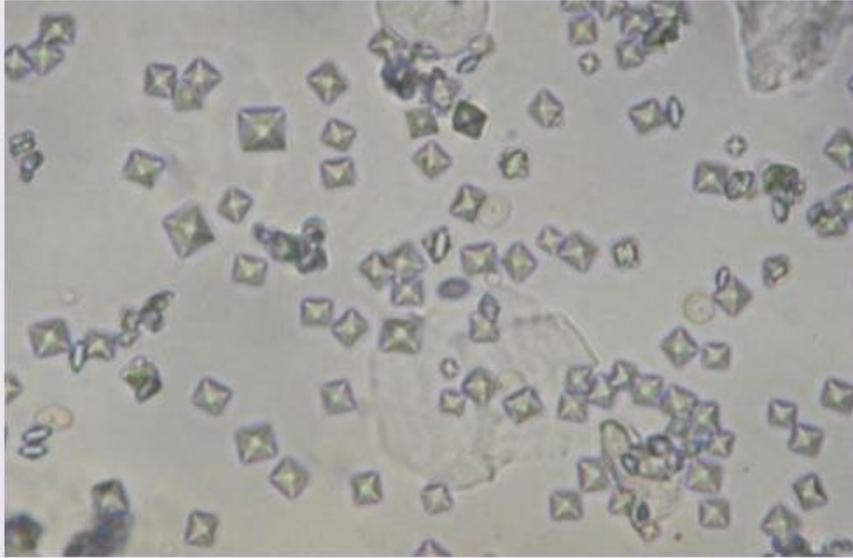
- Placche e cristalli prismoidali allungati
- Ricci di cristalli aghiformi e Bacchette



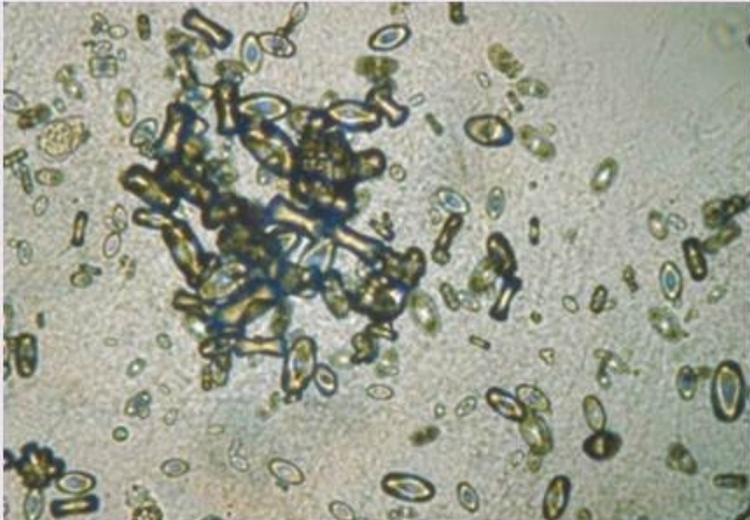
Cristalli di biurato di ammonio sotto forma di:

- Cristalli sferoidali
- Aggregati di cristalli sferoidali spinosi

ph acido



Cristalli di ossalato di calcio  
diidrato a tipica forma ' busta di  
lettera' e nella meno nota forma  
'esagonale'

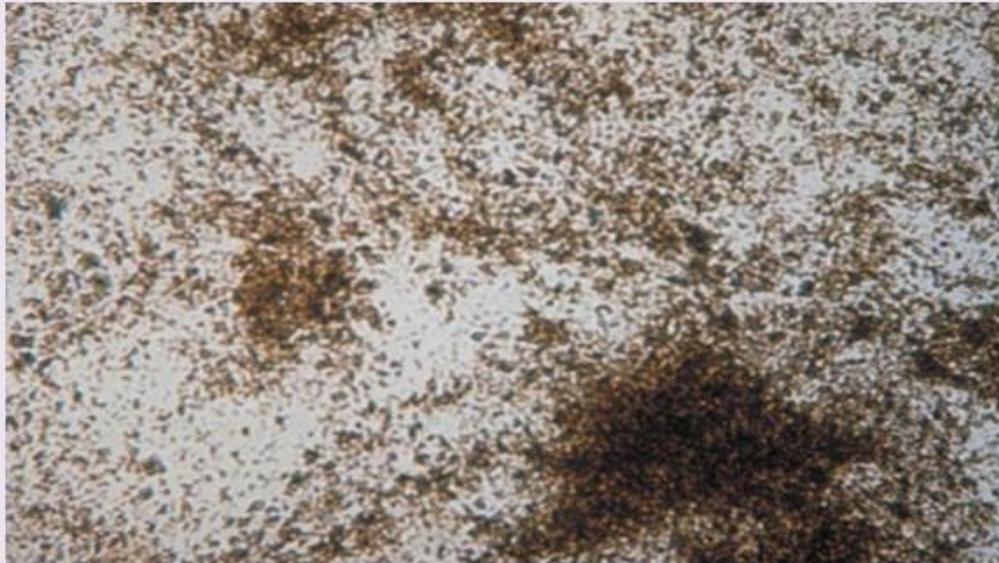
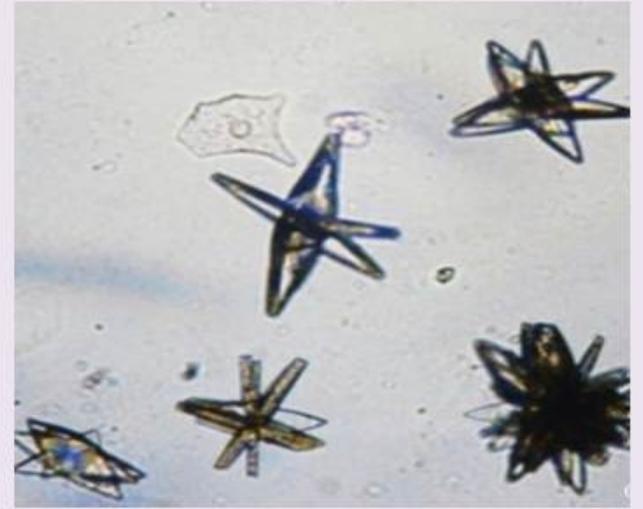


Cristalli di ossalato di calcio  
monidrato a forma ovoidale e a  
clessidra

ph acido



Cristalli di acido urico a forma di foglia di ulivo (sx)  
Aggregati di cristalli di acido urico a stella (dx)

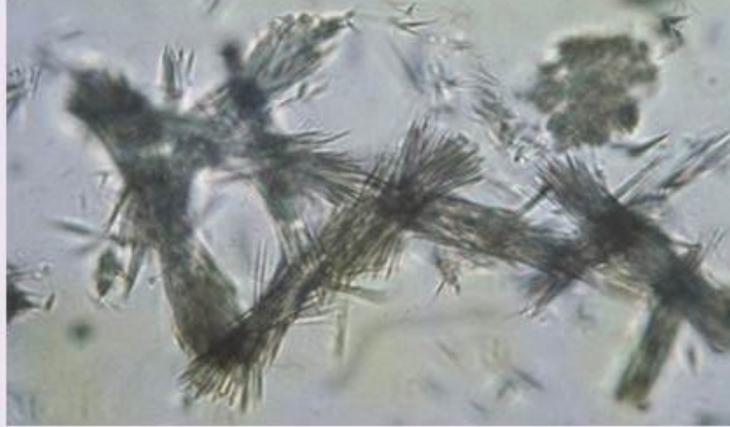


Cristalli di urati amorfi

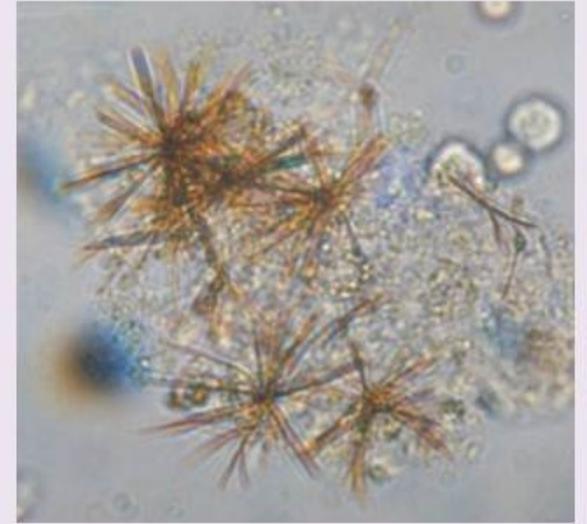
# avere significato



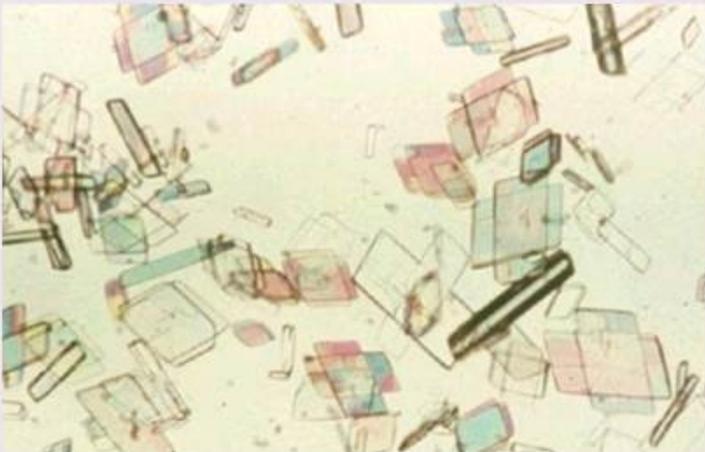
Cristalli di cistina



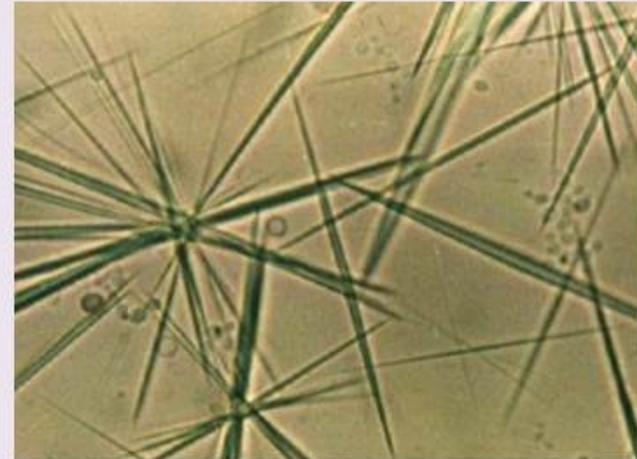
Cristalli aghiformi di tirosina



Cristalli aghiformi bilirubinici



Cristalli di colesterolo



Cristalli sulfamidici

# ESAME MICROSCOPICO DEL SEDIMENTO- CILINDRI

I cilindri sono elementi di origine pre-renale o renale che si formano per precipitazione di alcune sostanze filtrate o secrete dall'epitelio tubulare, la loro forma rappresenta lo stampo di un tubulo nel cui lume si sono accumulati gli elementi costituenti. Si distinguono in:

## Cilindri ialini:

costituiti da proteine sono i più comuni,  
Si riscontrano anche dopo eventi fisiologici quali stress, anestesia o sforzi



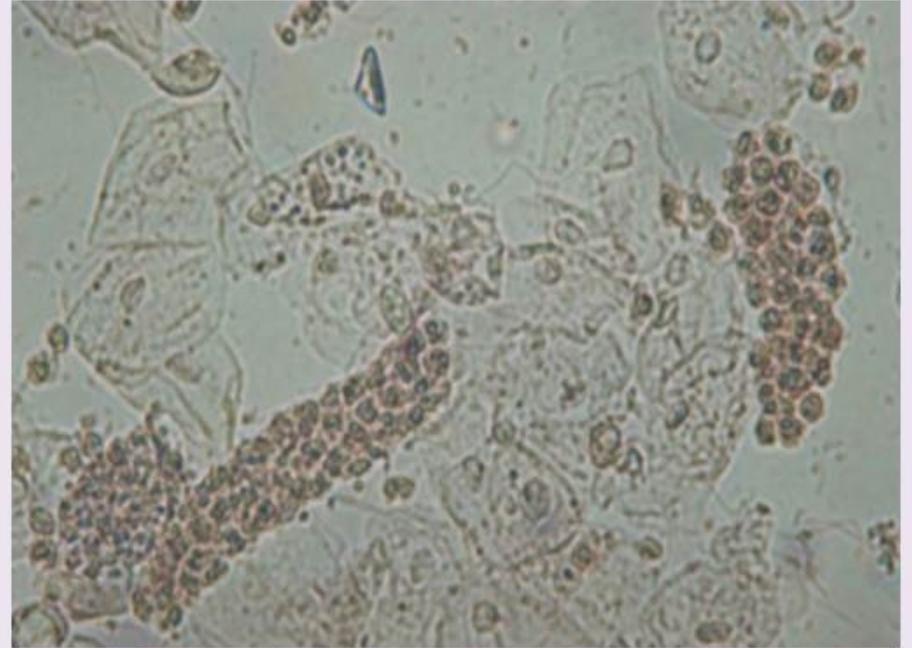
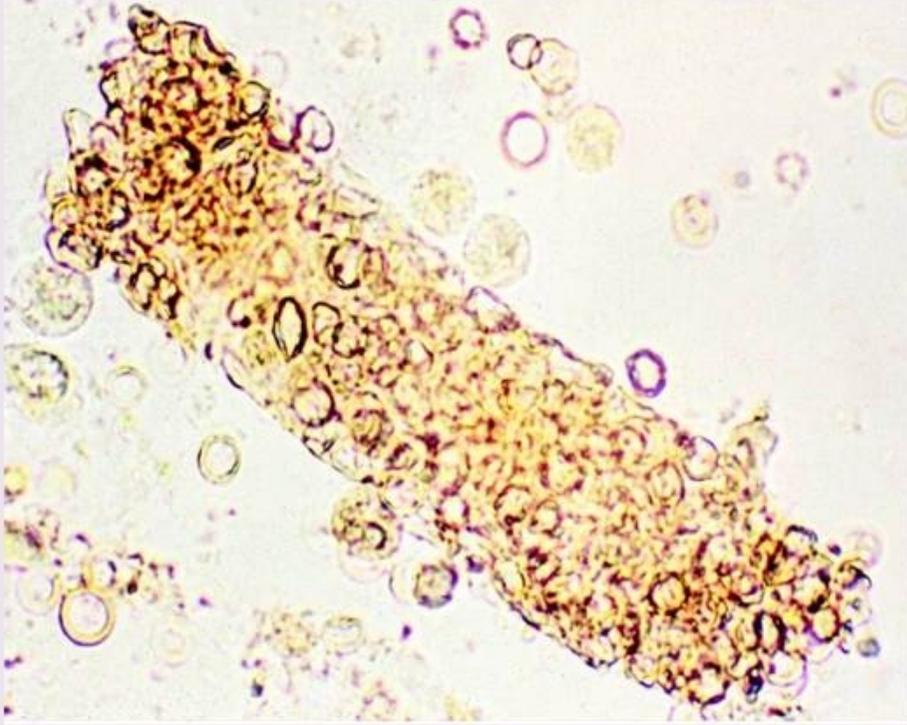
## Cilindri granulati:

costituiti da cellule di sfaldamento dell'epitelio la loro presenza indica in genere patologie renali

*Cilindri eritrocitari:*

Permettono di accertare l'origine renale dell'ematuria.

Indici di nefriti acute e croniche



*Cilindri leucocitari:*

Permettono di accertare  
l'origine renale della piuria.  
Presenti nelle pielonefriti

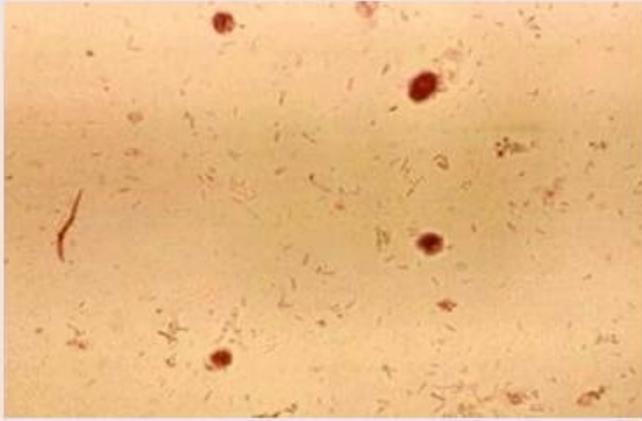


*Cilindri cerei:*  
Derivano dalla  
degenerazione dei cilindri  
granulosi.  
osservati in insufficienza  
renale cronica severa,  
ipertensione maligna,  
patologie renali acute

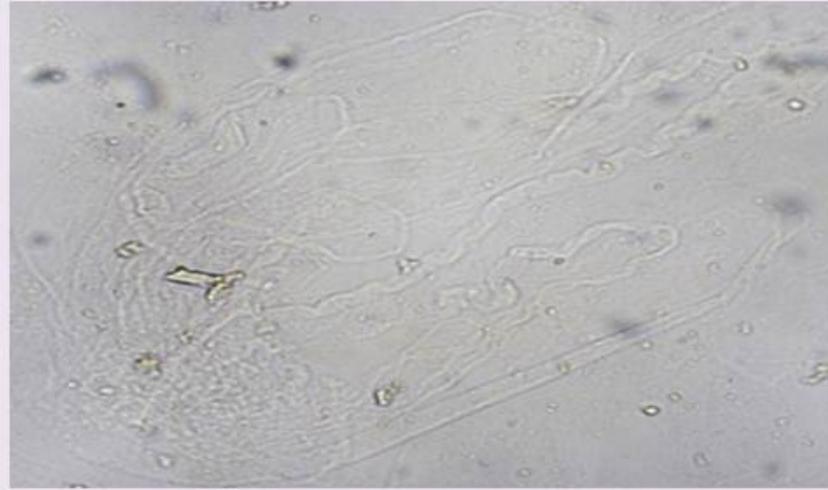


*Cilindri epiteliale:*  
Derivano da stasi urinaria e  
degenerazione tubulare

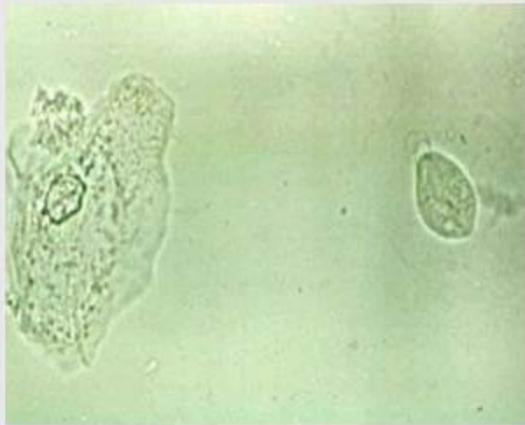
Elementi ulteriori:



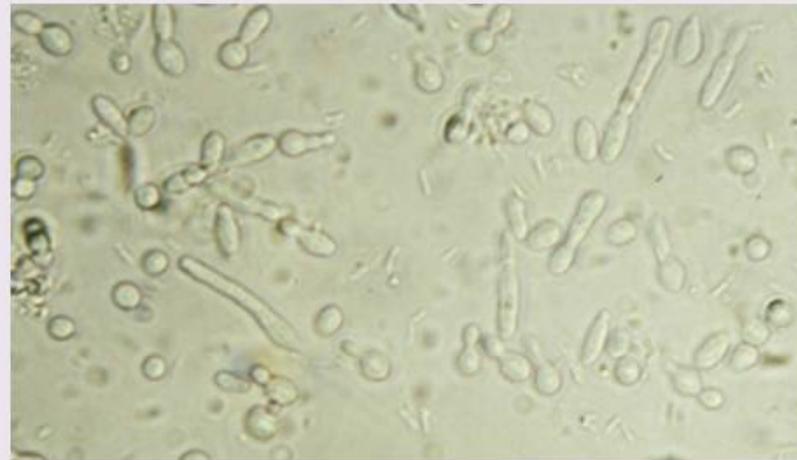
Flora batterica



Muco



Parassita: Trichomonas vaginalis



Miceti: spore i ife



Spermatozoi

# ELETTROFORESI DELLE PROTEINE EMATICHE

L'elettroforesi delle sieroproteine, chiamata anche protidogramma o quadro sieroproteico, è una analisi di laboratorio che permette di separare e valutare, qualitativamente e quantitativamente le proteine del siero.

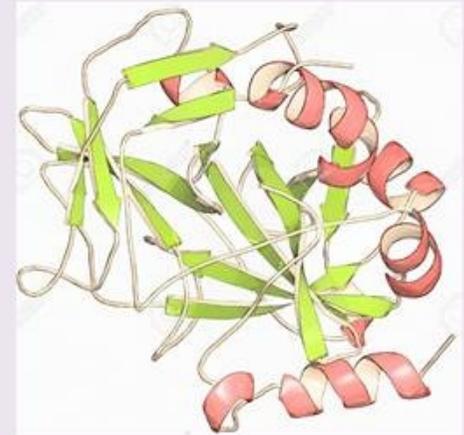
Le proteine sono molecole biologiche che svolgono diverse **funzioni** nell'organismo, sia **dinamiche** (trasporto,, controllo metabolico, enzimatiche) sia **statiche** (strutturali).

**Tramite questo esame diagnostico si possono investigare 5 tipi di proteine:**

**Albumina**  
 **$\alpha_1$ -globuline**  
 **$\alpha_2$ -globuline**  
 **$\beta$ - globuline**  
 **$\gamma$  globuline**



Frazioni proteiche eterogenee, ognuna delle quali comprende diversi tipi di proteine, che possono essere identificate con un miglior potere risolutivo ed esami di II livello.  
Proteine che sono correlate ad una ampia gamma di situazioni fisiopatologiche.



Le sieroproteine sono sintetizzate principalmente dal fegato (albumina e globuline).

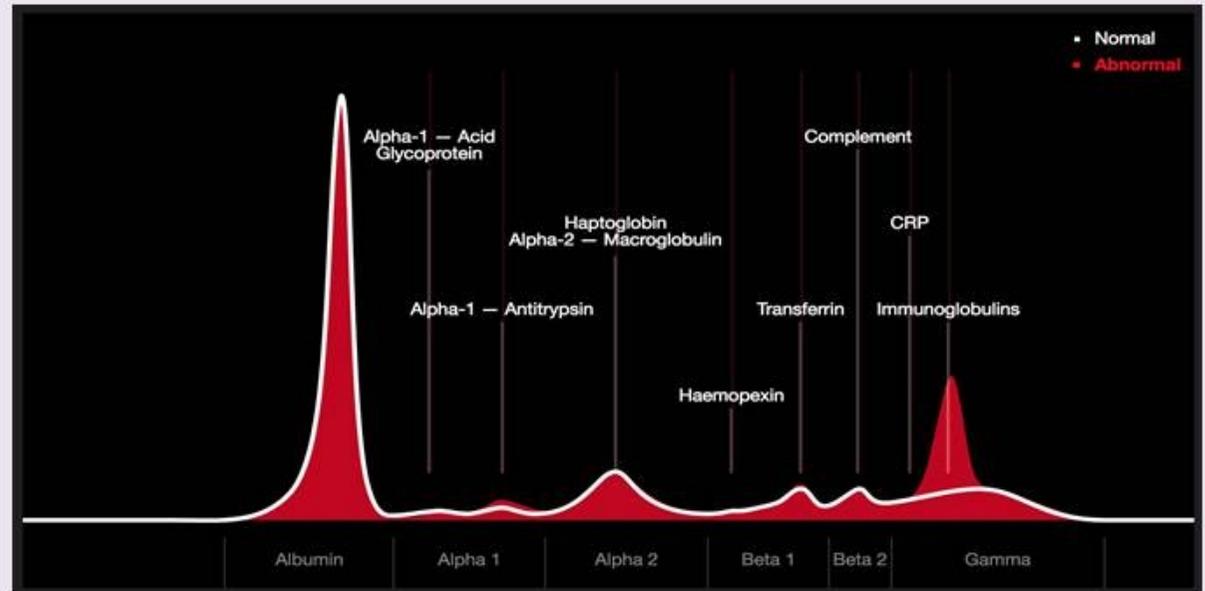
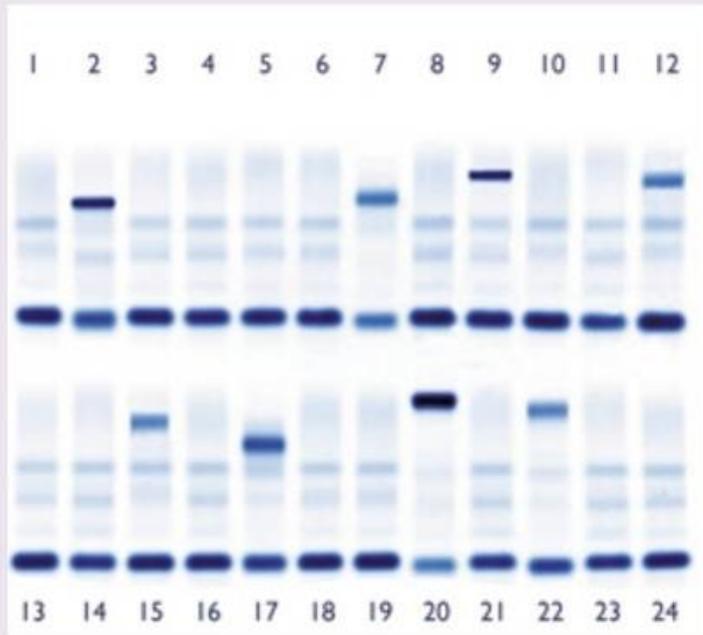
Le immunoglobuline vengono prodotte dal sistema immunitario (plasmacellule).

Variabilità di concentrazione ematica è legata all'età ed al sesso, all'attività fisica, alla postura, ai ritmi biologici.

# ELETTROFORESI

Migrazione, attraverso un mezzo liquido e/o solido, e sotto l'impulso di un campo elettrico, di particelle dotate di cariche (proteine).

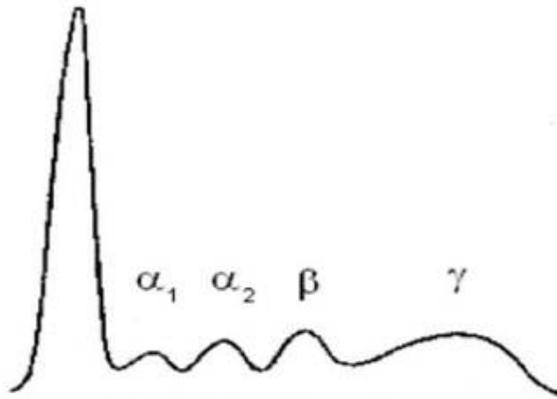
Elettroforesi Su Carta  
Elettroforesi Su Acetato Di Cellulosa  
Elettroforesi Su Gel d'Agaroso  
Elettroforesi Su Gel Di Poliacrilammide  
Elettroforesi Capillare



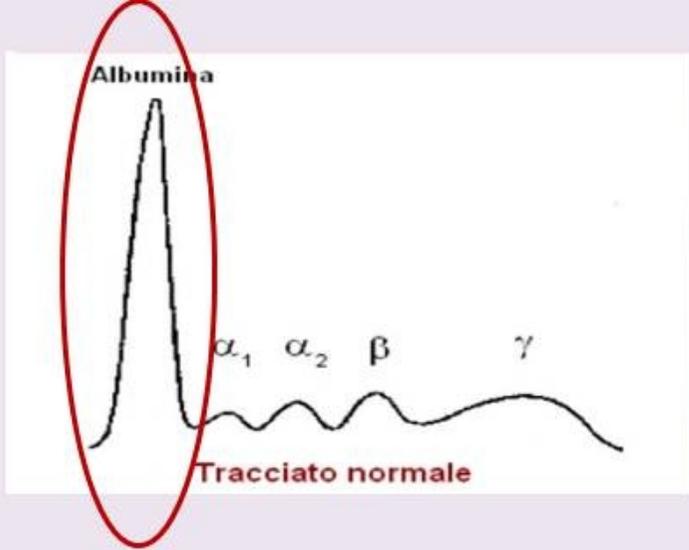
## PARAMETRI NORMALI

Banda prealbumina	prealbumina	
BANDA A	Albumina	55-66%
BANDA $\alpha_1$	$\alpha_1$ Antitripsina (lipoproteine HDL, fetoproteina <sup>4</sup> antichimotripsina, glicoproteina acida)	4-8 %
BANDA $\alpha_2$	$\alpha_2$ Macroglobulina aptoglobina (ceruloplasmina)	5-10%
BANDA $\beta$	( $\beta_1$ ) transferrina ( $\beta_1$ -lipoproteine (LDL) ( $\beta_2$ ) C3 complemento (emopessina, $\beta_2$ -microglobulina)	8-14%
BANDA $\gamma$	Immunoglobuline	9-18%

Albumina



Tracciato normale



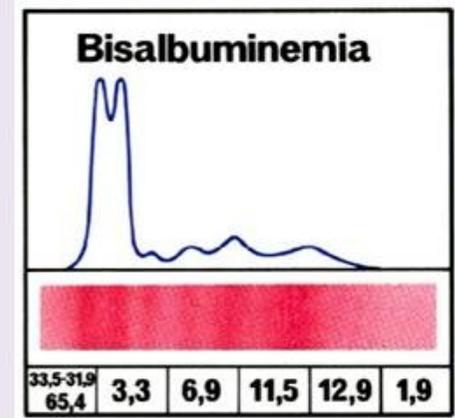
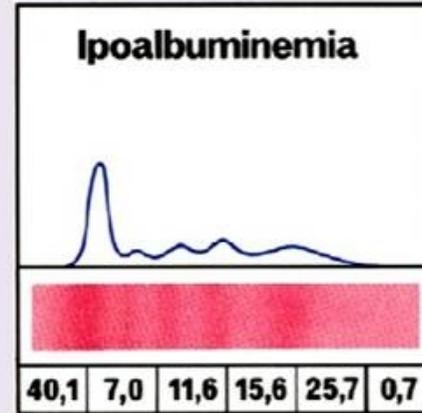
L'**albumina** è la proteina presente in maggior concentrazione a livello ematico. Sintetizzata a livello epatico, pm di circa 66kDa, emivita di circa 20gg. Svolge funzione di regolazione della pressione colloidale osmotica sanguigna e funzione di trasporto nel circolo ematico, avendo una bassa specificità ed affinità è il principale 'trasportatore'. La concentrazione fisiologica è di 35-55g/dl.

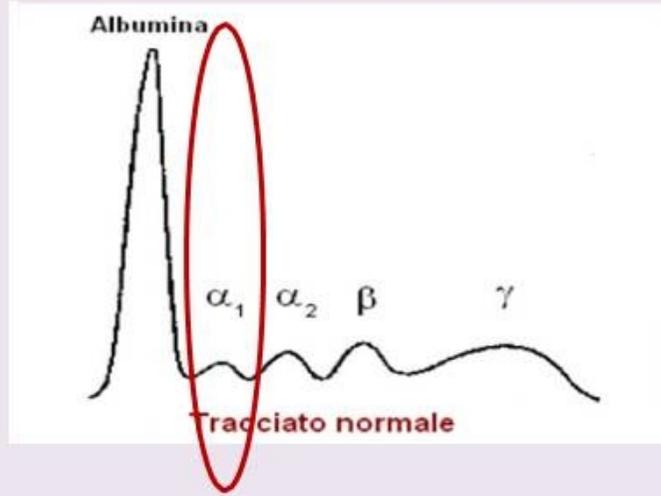
L'**ipoalbuminemia** può essere causata da:

- Processi infiammatori
- Perdite
- Malattie croniche ed acute del fegato (diminuita sintesi),
- Fattori tossici endogeni ed esogeni
- Malnutrizione e malassorbimento
- Catabolismo accelerato (ipertiroidismo, diabete)
- Stati fisiologici (gravidanza, lattazione)

L'**iperalbuminemia** (rara) può essere causata da disidratazione

La condizione di **bisalbuminemia** (rara) è dovuta alla presenza di due varianti genetiche della proteina che hanno capacità migratorie diverse





Nella banda delle **alfa1globuline** le principali componenti sono:

- **Alfa1-Antitripsina**, costituisce il 90% del picco.

Di sintesi epatica, rappresenta una delle principali proteine attive nella fase acuta dell'inflammazione.

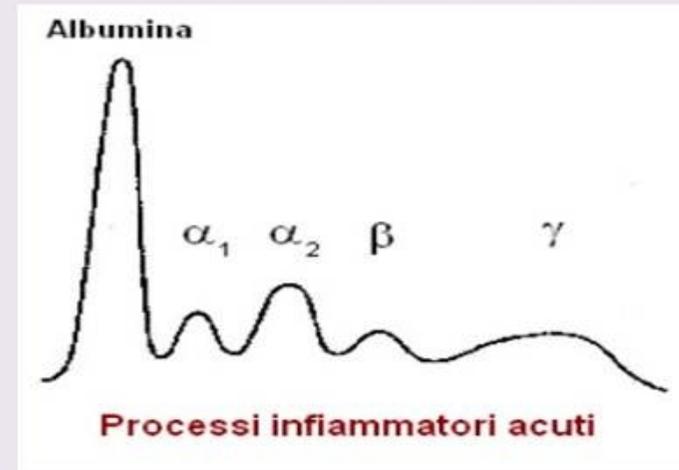
Glicoproteina che funge da **inibitore di diversi enzimi proteolitici**.

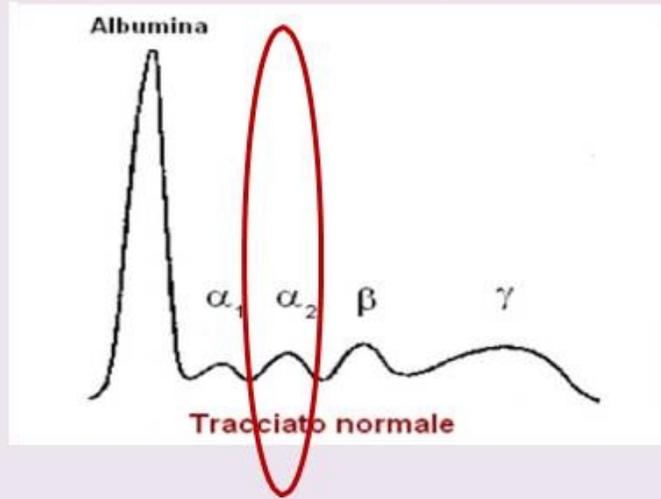
Essa impedisce a questi enzimi di attuare l'autodistruzione dei tessuti.

- **Alfa 1glicoproteina acida** anch'essa proteina della fase acuta dell'inflammazione.
- **Alfa 1fetoproteina**
- **Colesterolo hdl o alfa lipoproteine**

**Diminuzione** dell'alfa1-antitripsina indica una probabile patologia sia epatica sia polmonare, dove il parenchima degli organi è stato distrutto dagli enzimi proteolitici e sostituito con tessuto connettivo (enfisema polmonare e cirrosi epatica).

**Aumento** della banda indica un processo infiammatorio in atto





Nella banda delle alfa 2 globuline migrano principalmente:

- **Alfa2 macroglobulina**, una glicoproteina epatica, inibitore di proteasi e modulatore dell'attività delle citochine che esplica la propria azione a livello ematico a causa delle grandi dimensioni;
- **Aptoglobina** capace di legare l'emoglobina libera nel sangue;
- **Ceruloplasmina**
- **Alfa 2 antiplasmina**

L'**alfa1 macroglobulina** aumenta fisiologicamente:

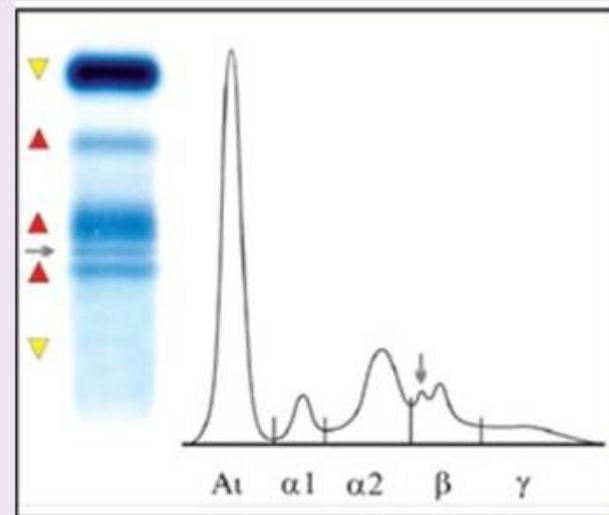
- nel 3° trimestre della gravidanza
- nell'infanzia
- nell'età avanzata

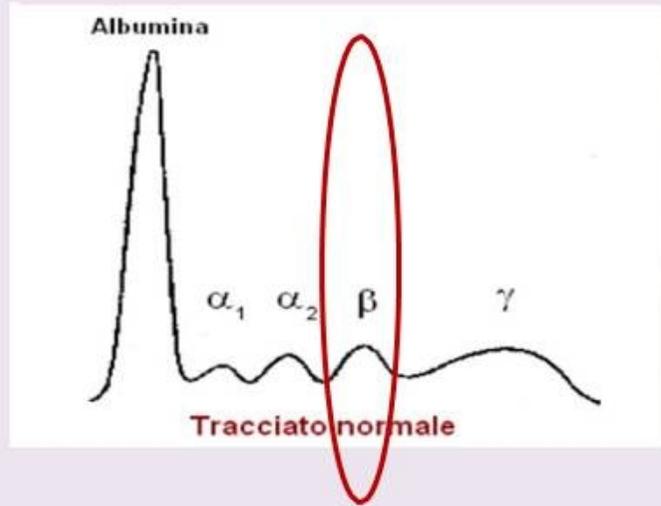
Aumenti patologici si hanno a causa di:

- Sindrome nefrotica
- epatopatie
- diabete

L'**aptoglobina** diminuisce nei casi di:

- emolisi intravascolare
- difetto di sintesi
- in seguito a sport prolungati, che comportano distruzione di eritrociti.





La principale proteina caratterizzante la banda delle beta globuline è la **Transferrina**, deputata al trasporto del ferro nel circolo ematico.

La sua concentrazione ematica va da 200 a 320 mg/dl

In piccole percentuali sono presenti:

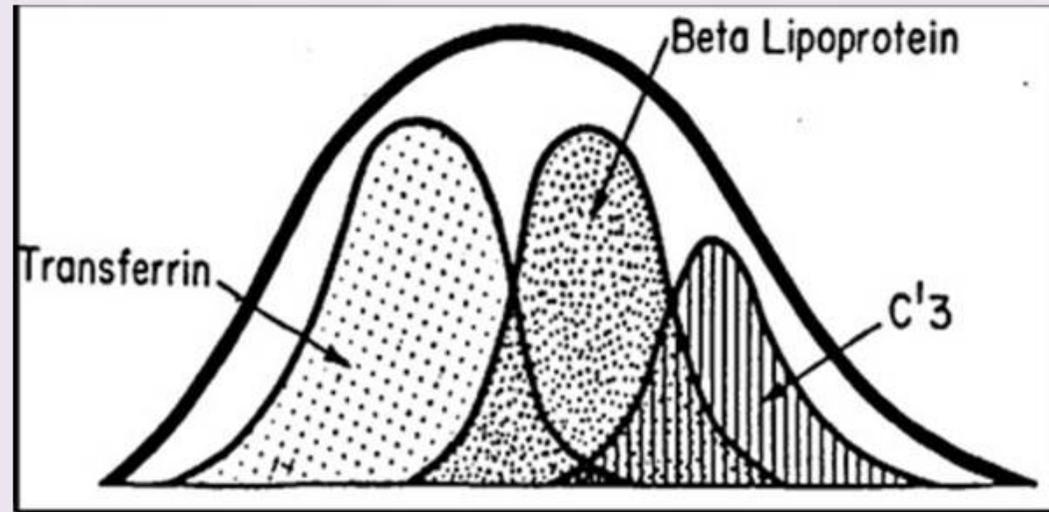
- **Fattore C3 complemento**
- **LDL o beta lipoproteina**
- **Beta-2-microglobulina**

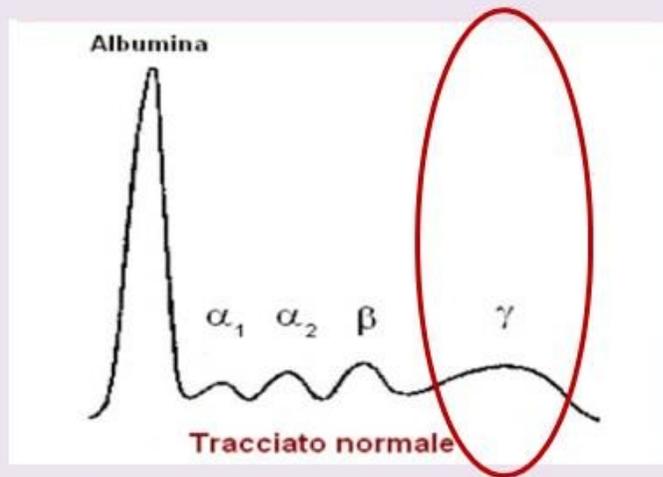
La **transferrina** aumenta:

- negli stati ferro-carenziali
- in gravidanza

Diminuisce nei casi di

- malattie croniche
- epatopatie





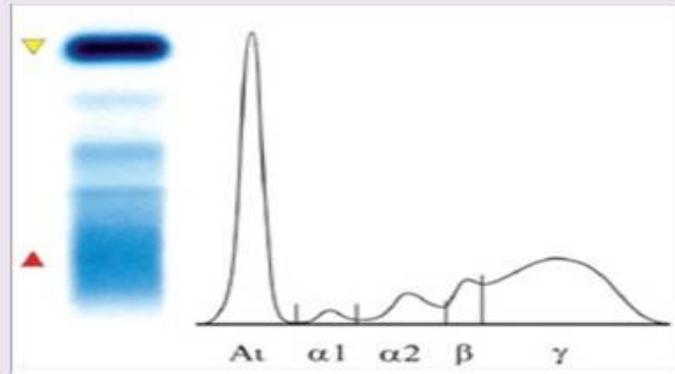
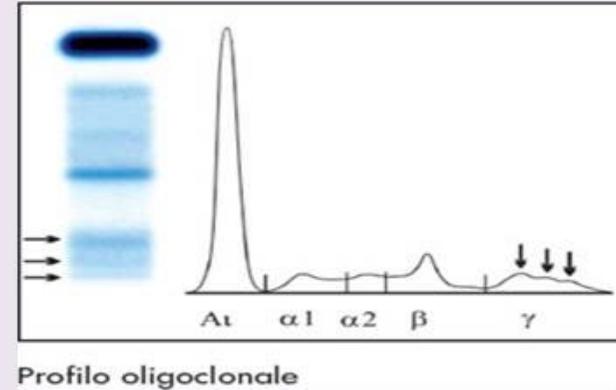
La frazione  $\gamma$  del tracciato elettroforetico è costituita dalle **Immunoglobuline IgG, IgA, IgM, e IgD e IgE** (meno rappresentate), molecole prodotte dai linfociti B durante la risposta umorale del sistema immunitario.

Le immunoglobuline sono prodotte in seguito ad infiammazioni croniche e in risposta ad agenti batterici, micotici, virali e parassitari.

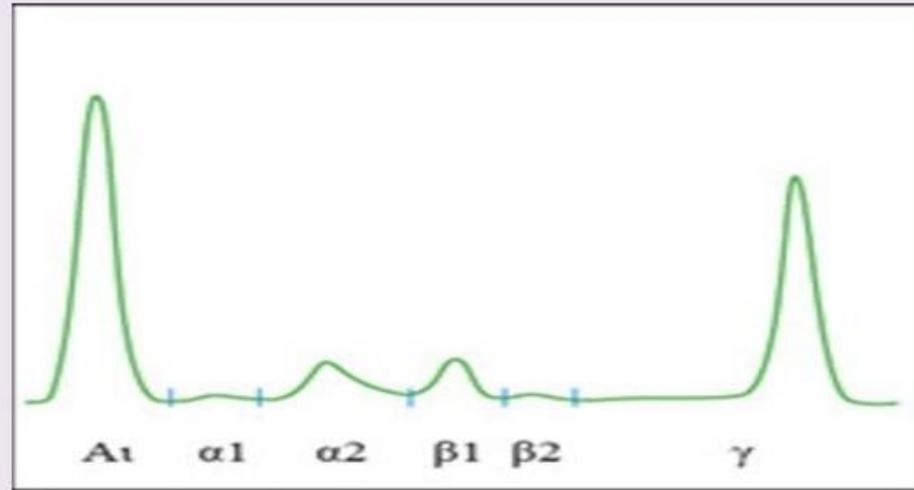
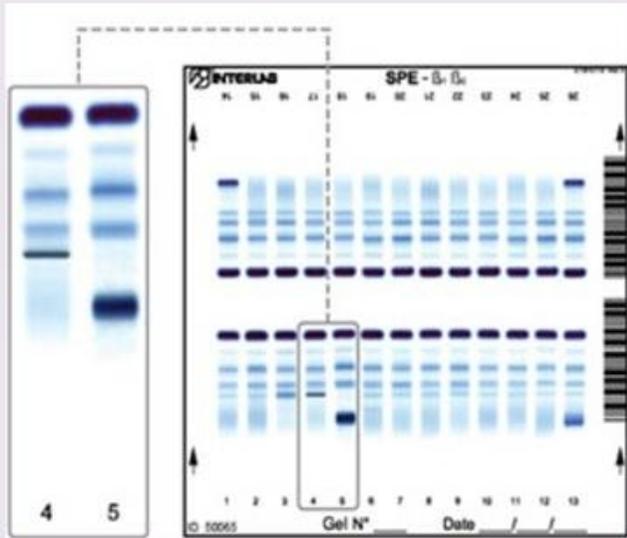
A causa della loro eterogeneità, le Ig si possono estendere dalla regione  $\beta$  a quella  $\gamma$  (in posizione intermedia tra queste due bande migra anche il fibrinogeno se è presente)

L'analisi elettroforetica permette di evidenziare:

- **Ipo-gammaglobulinemia**, causata da perdite o da ipoplasie
- **Iper-gammaglobulinemia** distinta in
  - 1- **aumento policlonale** quando interessa tutti i tipi di Ig ed è tipico delle infiammazioni acute o croniche.

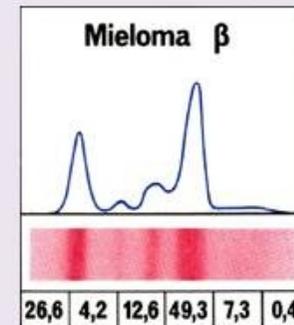
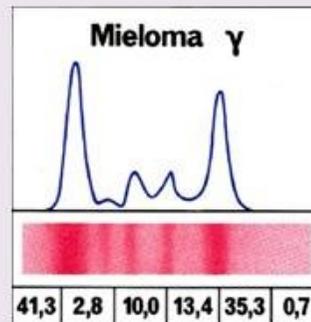


**2- aumento monoclonale** si evidenzia con la comparsa in zona  $\gamma$  di un picco estremamente alto, con base molto stretta, che rispecchia una produzione anticorpale massiva di un unico tipo di anticorpo (**componente monoclonale**).



La presenza di una componente monoclonale può indicare neoplasia delle plasmacellule (mieloma, leucemie e linfomi).

Il mieloma multiplo è la più frequente neoplasia plasmacellulare.

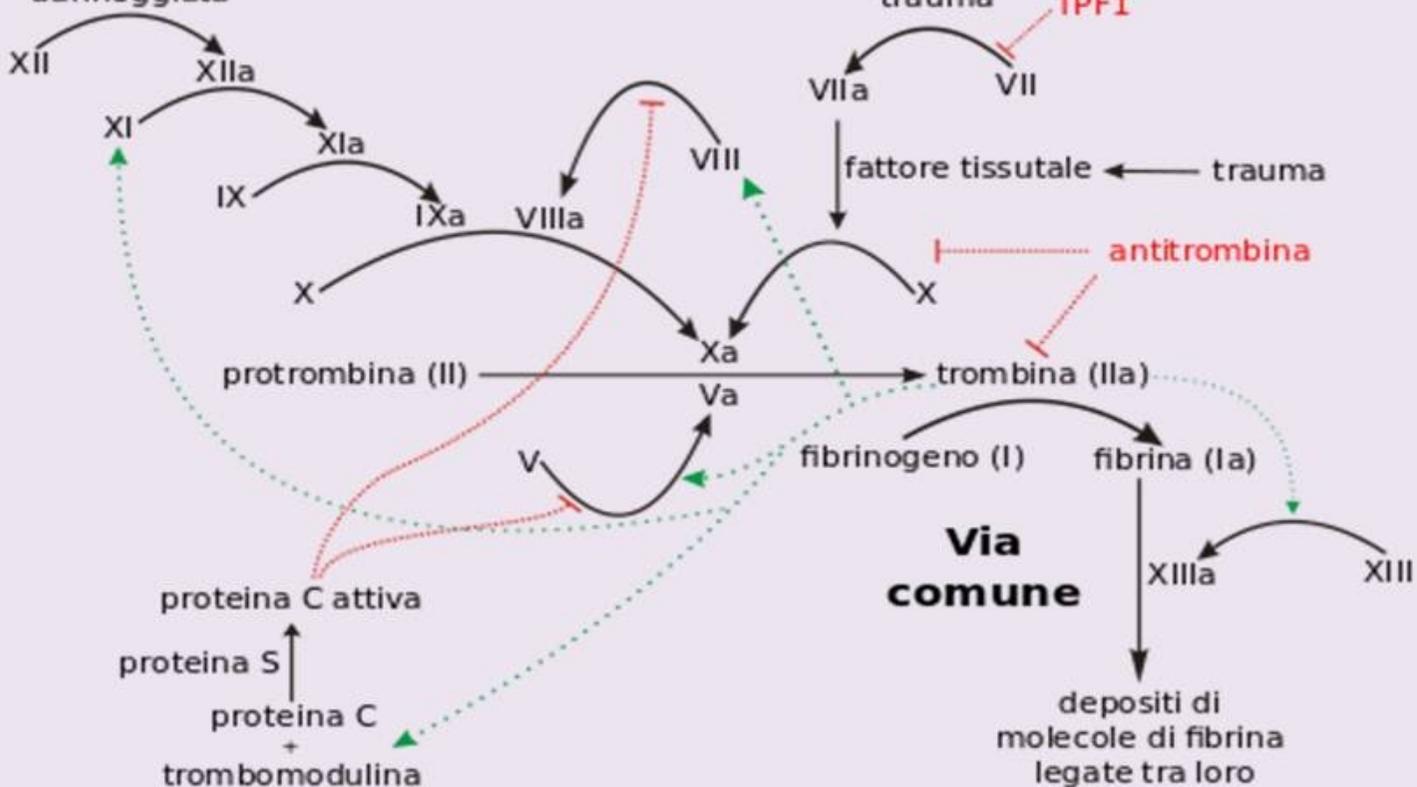


PROCESSO EMOSTATICO

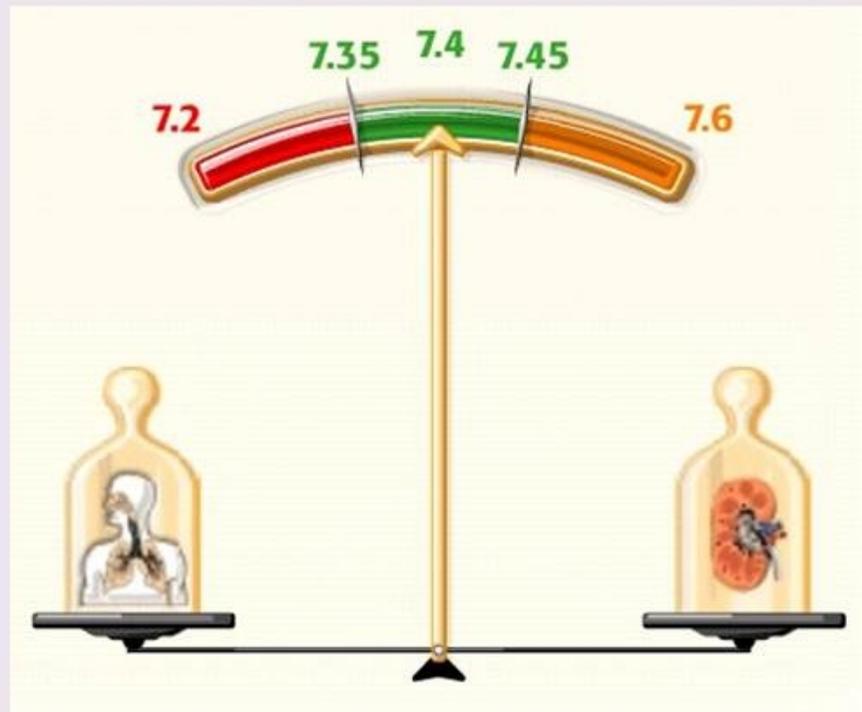
## Via intrinseca

(contatto con superficie non endoteliale)

superficie  
danneggiata



# EMOGASANALISI



## SERIE ABL90 RADIOMETER

ABL90 1393-090R0977N0001      11.03      24/01/2020  
 REFERTO PAZIENTE      Siringa - 5.65uL      Campione      1848

Identificazioni  
 ID paziente      00286644  
 Cognome paziente  
 Nome paziente  
 Tipo di campione      Arterioso  
 Reparto  
 FO<sub>2</sub>(i)      21.0 %  
 T      37.0 °C

Valori emogas			
pH	7.412		[ 7.350 - 7.450 ]
pCO <sub>2</sub>	45.2	mmHg	[ 32.0 - 48.0 ]
↓ pO <sub>2</sub>	71.3	mmHg	[ 83.0 - 108 ]
Valori ossimetrici			
↓ cHb	10.0	g/dL	[ 11.5 - 17.8 ]
sO <sub>2</sub>	95.7	%	[ 94.0 - 98.0 ]
↓ FO <sub>2</sub> Hb	93.6	%	[ 94.0 - 98.0 ]
FCOHb	1.6	%	[ 0.1 - 3.0 ]
↑ FHhb	4.2	%	[ 0.1 - 2.9 ]
FMetHb	0.6	%	[ 0.1 - 1.5 ]
Valori elettroliti			
Hct.c	30.7	%	
↓ cK <sup>+</sup>	3.4	mmol/L	[ 3.5 - 5.1 ]
cNa <sup>+</sup>	136	mmol/L	[ 136 - 145 ]
↓ cCa <sup>2+</sup>	1.15	mmol/L	[ 1.15 - 1.33 ]
cCl <sup>-</sup>	103	mmol/L	[ 98 - 107 ]
Valori metaboliti			
↑ cGlu	151	mg/dL	[ 60 - 110 ]
cLac	1.4	mmol/L	[ 0.4 - 2.2 ]
ctBil	0.7	mg/dL	[ 0.0 - 1.0 ]
Stato di ossigenazione			
ctO <sub>2</sub> .c	13.2	Vol%	
p50.c	22.78	mmHg	
Stato acido-base			
cBase(Ecf).c	4.2	mmol/L	
cHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (P).c	28.8	mmol/L	
cHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (P.st).c	27.6	mmol/L	
ABE.c	3.6	mmol/L	
SBE.c	4.2	mmol/L	
mOsm.c	280.5	mmol/kg	

### Note

↑ Valore/i sopra l'intervallo di riferimento  
 ↓ Valore/i sotto l'intervallo di riferimento  
 .c Valori calcolati



IL SYNTHESIS  
29 SETT. 98 15:52

Acc. No. 790 B.P. 768 mmHg  
ID Operatore 123  
Campione arterioso prelevato alle 15:50

#### INFO PAZIENTE

ID Paziente 5678901234  
Nome: Mario Galli  
temperatura 37 °C  
FIO<sub>2</sub> 60.0 %

#### EMOGASANALISI

Misurati a 37.0 °C  
pH 7.419  
pCO<sub>2</sub> 37.4 mmHg  
pO<sub>2</sub> 80 mmHg

#### ELETTROLITI

Na<sup>+</sup> 140 mmol/L  
K<sup>+</sup> 4.1 mmol/L  
Ca<sup>++</sup> 1.20 mmol/L  
Cl<sup>-</sup> 106 mmol/L

HCT (conduttimetrico)

Hct 46 %

#### PARAMETRI CALCOLATI

HCO<sub>3</sub> 24.4 mmol/L  
TCO<sub>2</sub> 25.6 mmol/L  
BE<sub>b</sub> 0.8 mmol/L  
BE<sub>act</sub> -0.3 mmol/L  
SBC 25.5 mmol/L  
Ca<sup>++</sup> (pH 7.4) 1.21 mmol/L  
sO<sub>2c</sub> 95.9 %  
AaDO<sub>2</sub> 311.3 mmHg  
RI 3.89  
Anion Gap 16 mmol/L  
pO<sub>2</sub> / FIO<sub>2</sub> 1.3

#### CO-OSSIMETRO

Hb 11.8 g/dL  
%O<sub>2</sub>Hb 96.0  
%COHb 1.9  
%MetHb 0.4  
%RHb 1.7  
O<sub>2</sub>Ct 15.7 Vol %  
O<sub>2</sub>cap 16.0 Vol %  
sO<sub>2m</sub> 98.2 %  
T. Bil —

# SCOPI SCOPI DELL'EMOGASANALISI DELL'EMOGASANALISI

**La funzione principale della respirazione è quella di assicurare ossigeno all'organismo e di eliminare l'eccesso di anidride carbonica.**

**L'emogasanalisi arteriosa permette di:**

- 1) valutare eventuali alterazioni dello stato di ossigenazione e dell'eliminazione di CO<sub>2</sub>**
- 2) identificare disordini dell'equilibrio acido-base**
- 3) monitorare O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e pH in caso di terapia**

# EMOGASANALISI EMOGASANALISI LISI

L'emogasanalisi valuta

- **gli scambi gassosi**
- **lo stato dell'equilibrio acido-base**

mediante la determinazione diretta dei:

valori di pressione parziale arteriosa di ossigeno

**paO<sub>2</sub>**

valori di pressione parziale arteriosa di anidride carbonica

**paCO<sub>2</sub>**

concentrazione nel sangue arterioso degli ioni H<sup>+</sup> espressi come **pH**

ed il calcolo di alcuni parametri derivati

Saturazione arteriosa di O<sub>2</sub>

**(SaO<sub>2</sub>)**

Bicarbonati totali

**(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>),**

Bicarbonati standard

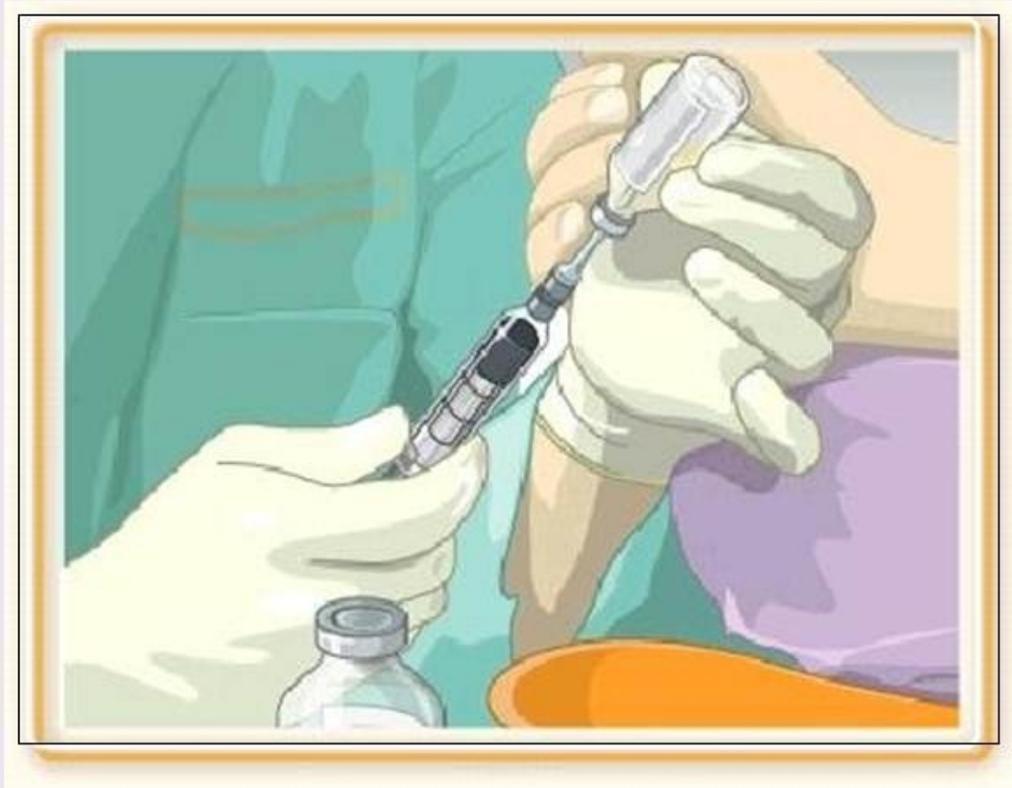
**(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> st),**

Eccesso di basi

**(BE)**

# ~~EMOGASANALISI - TECNICA DI PRELIEVO~~ **TECNICA DI PRELIEVO**

# TECNICA DI TECNICA DI PRELIEVO PRELIEVO



Utilizzare siringhe eparinate impermeabili all'O<sub>2</sub> e alla CO<sub>2</sub>.

## TECNICA DI PRELIEVO



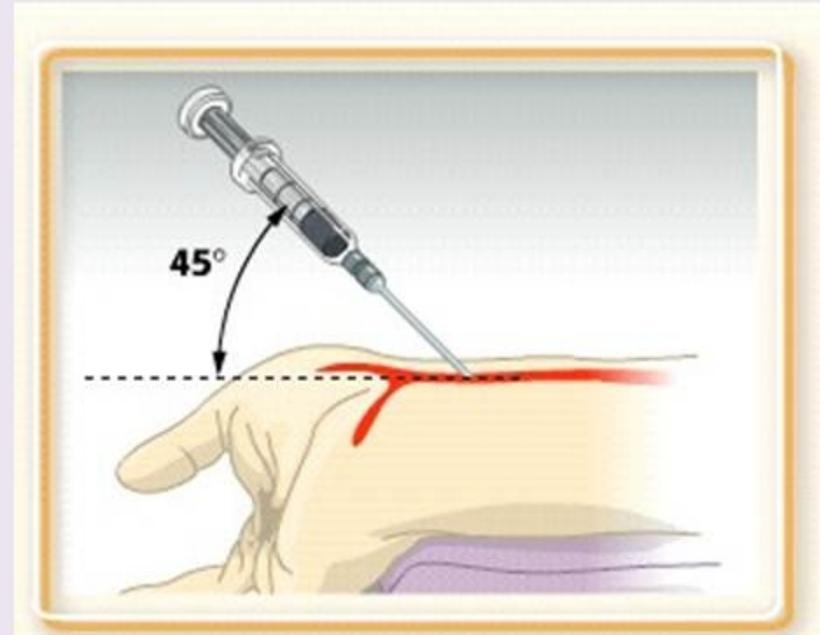
Far sedere il paziente ponendo il braccio su un cuscino con il palmo della mano rivolto verso l'alto in iperestensione in modo da allungare l'arteria radiale, stabilizzandola.

## TECNICA DI PRELIEVO



Disinfettare la superficie cutanea.  
Indossare i guanti

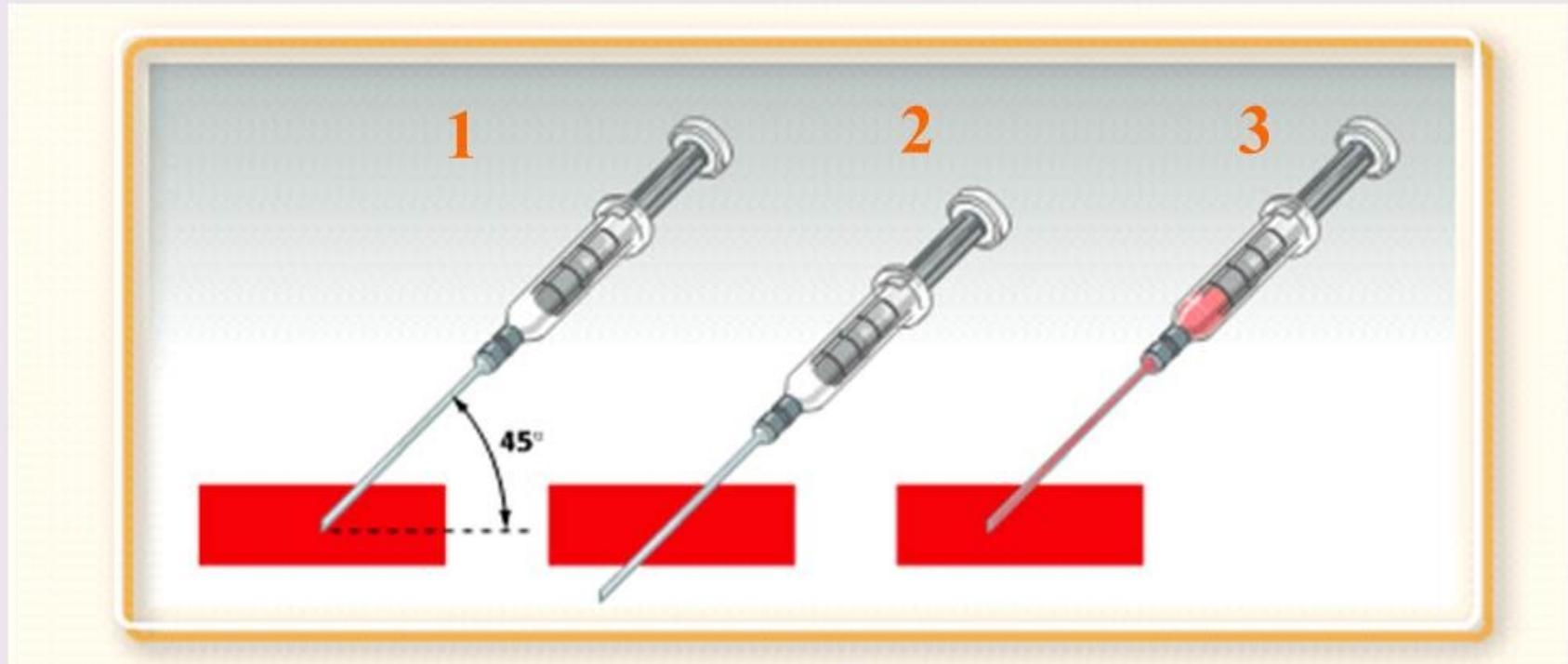
## TECNICA DI PRELEVO



Delimitare il decorso dell'arteria con 2 dita palmandola con i polpastrelli.

Penetrare nell'arteria con la parte tagliente dell'ago rivolta verso l'alto.

## TECNICA DI PRELIEVO



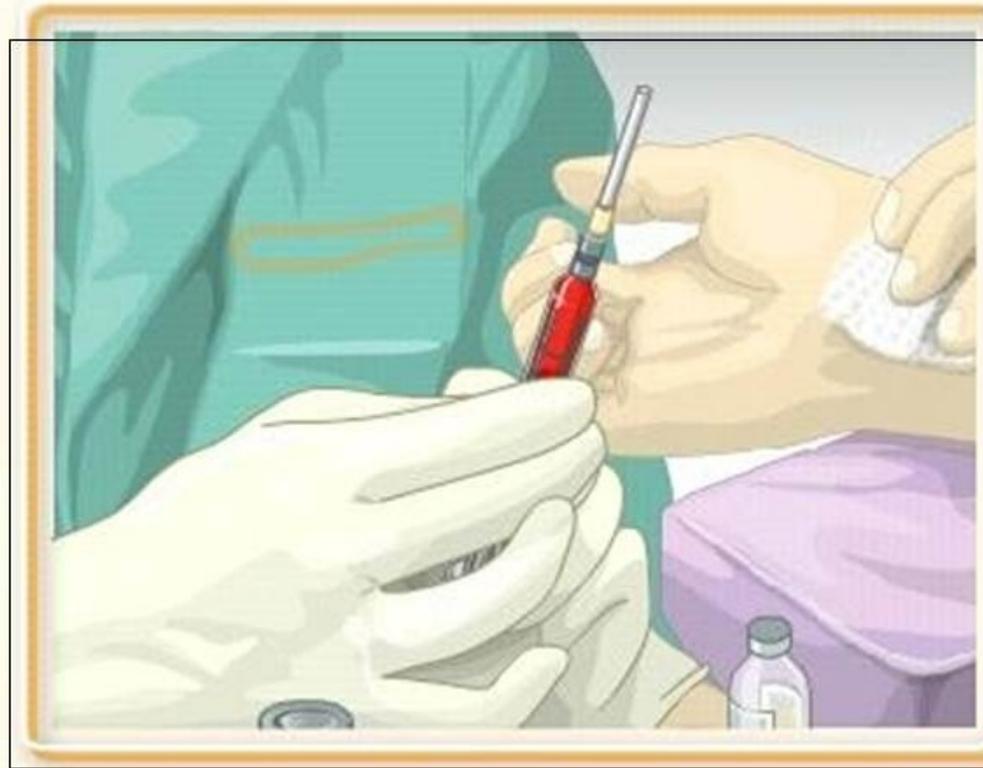
Introdurre l'ago in profondità (pochi millimetri !) con una inclinazione di 45°. Ritirare lentamente l'ago fin quando non si osserva il sangue refluire spontaneamente. Attendere il riempimento della siringa (1 ml circa)

## TECNICA DI PRELIEVO



Estrarre l'ago pressando il vaso con una garza per alcuni minuti

## TECNICA DI PRELIEVO



Espellere eventuali bolle d'aria e chiudere ermeticamente la siringa per evitare il contatto del sangue arterioso con l'aria ambiente

## TECNICA DI PRELIEVO



Ruotare delicatamente la siringa nel palmo delle mani per miscelare il sangue all'eparina

## TECNICA DI PRELIEVO



Porre la siringa in ghiaccio e inviarla immediatamente in laboratorio

# L'EMOGASANALIZZATORE



Gli emogasanalizzatori sono oggi completamente automatici e di facile uso.

Permettono una valutazione completa degli squilibri acido base e se corredati con elettrodi per il dosaggio del  $\text{Na}^+$ , del  $\text{K}^+$  e del  $\text{Cl}^-$  permettono anche un esame dell'equilibrio elettrolitico

GRAZIE PER L'ATTENZIONE