

APPENDICE A – ESAMI DEL SANGUE

Il D.M. 26/1/2001 stabilisce una serie di controlli che devono essere ripetuti dopo il primo check-up ad ogni donazione ed almeno una volta all'anno. Per i donatori di plasma di aferesi deve essere prevista anche l'elettroforesi proteica, per quelli di piastrine, il tempo di protrombina e di tromboplastina parziale.

La legislazione italiana indica perciò in modo preciso lo standard minimo di esami da eseguire per accertare l'idoneità contingente del donatore, il suo stato di salute e consente di eseguire, a giudizio del medico trasfusionista anche altri eventuali esami diagnostici e strumentali.

Dalla valutazione dei parametri biochimici può derivare un giudizio di idoneità globale o limitata, l'esigenza di una sospensione temporanea o definitiva, la possibilità di un rinvio al medico curante per ulteriori accertamenti quando l'iter diagnostico diventa troppo complesso¹.

Glicemia

Il dosaggio del glucosio nel sangue e nelle urine mira ad evidenziare la presenza di un diabete mellito e se questo è in compenso oppure no; il tipo di terapia, dieta, ipoglicemizzanti orali o insulina, condiziona l'eventuale esclusione permanente (diabete insulino-dipendente), tuttavia anche per i diabetici non insulino-dipendenti in compenso, l'idoneità a donazioni di sangue o plasma (vietata la piastrino-leucaferesi) deve essere subordinata all'assenza di complicanze micro-macrovascolari in atto, in base agli accertamenti periodicamente eseguiti dal diabetico, secondo il centro antidiabetico di riferimento (fundus oculi, doppler arti inferiori, ECG, microalbuminuria).

Azotemia e creatininemia

L'aumento dell'urea e della creatinina nel sangue sono in genere espressione di alterata funzionalità renale o epatica. In tutti i casi il donatore va sospeso in attesa che venga accertata la causa dell'alterazione.

Velocità di eritrosedimentazione (VES)

La VES è uno degli indici aspecifici di flogosi, quali infezioni, traumi, tumori, necrosi tissutali (infarti) e, dopo un'eventuale conferma, prevede il rinvio del donatore al medico curante per gli accertamenti del caso.

Protidemia totale ed elettroforesi proteica

| Frazione proteica | Valori % | G/dL |
|-------------------------------|----------|---------|
| Albumina | 45-55 | 3,5-5,0 |
| Alfa ₁ – globuline | 5-8 | 1,5-3,0 |
| Alfa ₂ – globuline | 8-13 | |
| Beta – globuline | 11-17 | |
| Gamma – globuline | 15-25 | |
| Protidemia totale | 100 | 6-8 |

Condizioni di ipoprotidemia si possono verificare per turbe dell'assorbimento e perdita intestinale (sprue, m. di Crohn, rettocolite ulcerosa, ecc.), deficit di sintesi (epatopatie) perdite renali (evidenziate da proteinuria), eccesso di catabolismo (neoplasie, infiammazioni).

Un aumento della protidemia può riscontrarsi in condizioni di disidratazione oppure per aumentata sintesi, come durante l'uso di steroidi e contraccettivi, o per aumento delle gamma-globuline (gammopatia monoclonale, mieloma).

Colesterolo e trigliceridi

I valori normali del colesterolo variano con l'età, ma sono attualmente indicati tre intervalli di valori legati al rischio crescente di patologia cardiovascolare. Non rappresentano fattori di idoneità alla donazione, anche se trigliceridi elevati possono interferire con il normale funzionamento dei

¹ Casalini G.: "Valutazione dei parametri biochimici". In Atti del XXXIII Convegno Nazionale di Studi di Medicina Trasfusionale. Ed. SIMTI. Pescara, 13-17 giugno 1998, pp. 57-86.

separatori cellulari per l'aferesi. Tuttavia valori costantemente levati, soprattutto se associati ad altri fattori di rischio cardiovascolare (fumo, ipertensione arteriosa, obesità, diabete mellito, storia familiare di cardiopatia ischemica, sesso maschile) possono consigliare la sospensione temporanea del donatore in attesa che dieta e/o trattamento farmacologico riportino i valori nella norma.

Elettroliti sierici

Il sodio (136-145 mEq/L) ed il potassio (3,5-5,1 mEq/L) sono due elementi fondamentali per una normale funzione delle cellule. La loro modifica, in senso ipo ed iper, dipende da innumerevoli patologie renali, epatiche, ormonali, dall'uso improprio di farmaci (diuretici), da situazioni parafisiologiche (eccesso di sudore, vomito e diarrea), da alimenti (eccesso di consumo di liquirizia).

Tempo di protrombina (PT) - Tempo di Tromboplastina parziale (PTT)

Una piastrinoafèresi in un soggetto con difetti della coagulazione può provocare emorragie anche importanti.

Il tempo di protrombina è normalmente 12-14 secondi, varia dal 70-100% o meglio da 0,95 a 1,15 INR. Il tempo di tromboplastina parziale attivata è di 25-35 secondi, con una variabilità legata al tipo di reattivo.

Transaminasi

In assenza di test specifici, il dosaggio delle transaminasi rappresentava un espediente per ridurre l'incidenza delle epatiti virali. Attualmente solo la ALT è prevista obbligatoria per legge ad ogni donazione, anche se normalmente viene effettuato anche il dosaggio di AST.

Dopo l'avvento degli ultimi test anti-HCV il ruolo delle transaminasi ha perso molto del suo significato, tuttavia il basso costo, la ridotta percentuale di unità di sangue eliminate per ALT elevate (~ 5%), la possibilità di identificare epatiti a diversa eziologia virale (da citomegalovirus, da Epstein-Barr virus) o tossicofarmacologica, ne hanno consigliato il mantenimento.

Le cause di aumento delle ALT sono innumerevoli, soprattutto legato all'assunzione di farmaci, alcool, alimentazione non corretta, ma anche in seguito ad esercizi fisici pesanti.

Quando i livelli di ALT superano i limiti fino a 1,5 volte il valore massimo, il donatore, pur rimanendo idoneo alla donazione viene innanzitutto invitato a limitare l'assunzione di alcool e di altri alimenti potenzialmente dannosi per il fegato, consigliando, se in sovrappeso, una dieta ipocalorica, quindi riammesso alle donazioni previo controllo dopo un mese.

Quando i valori oltre 1,5 volte il valore massimo, dovrà essere sospeso dalla donazione e sottoposto ad accertamenti, ripetuti nell'arco di sei mesi per escludere la presenza di un'epatite e valutare se riammetterlo alle donazioni o escluderlo definitivamente.

Ferritina sierica e sideremia

Nell'organismo umano il ferro (Fe) è presente in misura variabile in tre forme differenti: 1) *il compartimento funzionale*, costituito da emoglobina (70% del Fe totale), mioglobina muscolare (5%) ed enzimi (0,7%); 2) *il compartimento di deposito*, ferritina ed emosiderina dei tessuti (24% del Fe totale); 3) *il compartimento di trasporto*, che circola nel plasma e nei liquidi extracellulari (0,1-0,3% del Fe totale) sotto forma di transferrina e **ferritina sierica**.

La ferritina è una grossa proteina composta da 24 subunità, disposte in modo tale da darle la forma di un guscio vuoto, all'interno del quale, passando attraverso 6 canali, si deposita il metallo sotto forma di idrossifosfato ferrico². Ogni molecola di ferritina può contenere fino a 4.500 atomi di ferro, ma generalmente è satura solo parzialmente (2-3.000 atomi).

² Harrison P.M., Clegg G.A., May A.: "Ferritin structure and function", in Jacobs A. e Worwood M. (eds): "Iron in biochemistry and medicine II". Academic Press, London, 1980, pp. 73-114.

Poiché il Fe non può rimanere libero nel citoplasma in quanto tossico per le strutture intracellulari, ogni cellula che ne tratta grandi quantità (muscoli, cuore, fegato, midollo osseo, reticoloendotelio, intestino) ha una sua ferritina di deposito, che si differenzia dalle altre per alcune delle 24 subunità. Un terzo circa della ferritina forma degli aggregati più stabili ed insolubili che prendono il nome di *emosiderina*.

La *cellula intestinale* assorbe il Fe alimentare dal tubo digerente e lo deposita in ferritina; la *transferrina*, una proteina plasmatica capace di legare solo due atomi di Fe allo stato ferrico, lo preleva dalle cellule intestinali e lo trasferisce a tutte le cellule dell'organismo che catturano la transferrina mediante uno specifico recettore di membrana. Le cellule intestinali si rinnovano ogni 3-4 giorni, e perdono così tutto il Fe non utilizzato fino a quel momento.

Le *cellule reticoloendoteliali* recuperano invece il ferro dall'emoglobina dei globuli rossi ormai invecchiati, che vengono sistematicamente distrutti prevalentemente a livello della milza e lo rendono nuovamente disponibile nel circolo ematico sotto forma di una *ferritina sierica glicosilata*, rimossa per la maggior parte dalle cellule del fegato. In questo processo vengono movimentati circa 25 mg al giorno di ferro.

Altra ferritina tissutale non glicosilata entra in circolo per rottura di alcune cellule e per processi di esocitosi (espulsione dalla cellula); **la concentrazione sierica della ferritina (< 1% della totale) riflette fedelmente i depositi di ferro dell'organismo e rappresenta quindi il metodo più semplice e meno invasivo per la loro valutazione**³: per quanto la variabilità sia notevole, si assume che 1 nanogrammo/L di ferritina sierica corrisponda a 8-10 mg di ferro di deposito⁴.

Il dosaggio della transferrina viene effettuato valutando la quantità di Fe ad essa legata o legabile: si distingue pertanto una quota di *transferrina circolante satura (sideremia)*, una quota *insatura*, una quota *totale* (TIBC, total iron binding capacity) ed il *quoziente di saturazione* (sideremia/TIBC).

In caso di deplezione dei depositi di Fe la riduzione di ferritina sierica si accompagna ad un **aumento** della quota totale di transferrina circolante (TIBC) e ad una riduzione della transferrina satura (sideremia) e del quoziente di saturazione della transferrina.

Ai fini della tutela della crisi ematica sono quindi fondamentali l'emocromo e la ferritina; la carenza di ferro si manifesta infatti con anemia ipocromica microcitica, ovvero diminuzione sotto i limiti normali di Hb, Ht, MCV, MCH, ferritina⁵. Talvolta la sideremia risulta ancora normale, mentre gli altri parametri denunciano già un inizio della carenza di Fe, da contrastare sospendendo le donazioni di sangue intero, facendo una dieta appropriata e/o, se necessario, ricorrendo a farmaci integratori delle riserve di ferro (v. APPENDICE C – Fisiopatologia e trattamento della carenza di Fe).

Né va trascurata la ricerca delle cause della carenza, rappresentate da menometrorragie nella donna (anamnesi, visita ginecologica), ulcere o emorroidi sanguinanti, rettocolite ulcerosa, neoplasie intestinali (sangue occulto nelle feci), deficit di assorbimento, come nel morbo celiaco in forma frustra (ricerca di anticorpi anti-transglutaminasi tissutale e anti-endomisio).

Epatite B (Infezione da HBV)

Il rischio odierno di epatite B da trasfusione è di circa 1 su 66.000 unità trasfuse. Per l'epatite B esiste una fase finestra di almeno 60 giorni, durante i quali solo il DNA del virus (HBV DNA) è

³ Worwood M.: "Ferritin in human tissues and serum". Clin. Hematol., 1982, 11:275.

⁴ Cazzola M.: "Metodologie e strategie per lo studio di laboratorio del metabolismo del ferro". Clinica e Laboratorio, 1989, 13,3:147-143.

⁵ Giussani B.: "La tutela della crisi ematica". In Atti del XXXIII Convegno Nazionale di Studi di Medicina Trasfusionale. Ed. SIMTI. Pescara, 13-17 giugno 1998, pp. 49-56.

dosabile con metodiche sofisticate (ibridizzazione molecolare o amplificazione genica). La diagnosi di infezione B solitamente viene invece fatta con il test HbsAg, metodo ELISA, che oggi è in grado di positivizzarsi quando in circolo ci sono almeno 2 nanogrammi/mL di HbsAg.

Possono quindi ancora sfuggire portatori dell'epatite a bassissimo livello, soprattutto in quelle zone ad elevata prevalenza dell'infezione nella popolazione. Le alternative per migliorare la sicurezza dei riceventi potrebbero essere quella di affiancare al test HbsAg altri esami specifici, con costi di produzione degli emocomponenti notevolmente aumentati, oppure la vaccinazione di tutti i donatori, con un costo assorbito in termini di mancate epatiti B e di disponibilità di plasma iperimmune per la produzione di immunoglobuline specifiche anti epatite B⁶.

Epatite C (Infezione da HCV)

La via trasfusionale è oggi assai raramente causa di infezione da epatite C per la migliore selezione del donatore, i test di screening più sensibili, l'uso più razionale del sangue e degli emoderivati, la più efficace sterilizzazione di questi ultimi da parte delle industrie produttrici.

Il contagio avviene nella maggior parte dei casi in seguito a tatuaggi, manicure, rasatura dal barbiere, fori dei padiglioni auricolari, piercing, agopuntura, ecc.; il rischio di trasmissione sessuale dell'HCV non è improbabile, anche se non elevato.

L'epatite C decorre in genere (40-70%) asintomatica, purtroppo tende a cronicizzare, evolvendo spesso in cirrosi o in epato-carcinoma.

La fase finestra della sierconversione può giungere fino a 90 giorni.

Epatite E (Infezione da HEV)

È un virus endemico ad andamento stagionale nei Paesi tropicali e subtropicali; sarebbe responsabile di circa il 6% delle epatiti nonA-nonB-nonC post trasfusionali; non si effettua la ricerca specifica degli antigeni virali sui donatori.

Epatite G (Infezione da HGV)

È spesso una coinfezione HBV/HCV e non sembra correlato con problemi clinici di rilievo, per cui non è ipotizzabile né giustificata la sua ricerca sistematica nei donatori di sangue.

Infezione da HIV

La sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) è un'infezione causata da un virus isolato a Parigi nel 1983, presso l'Istituto Pasteur, di cui esistono due ceppi HIV1 e HIV2, quest'ultimo relativamente meno aggressivo del primo.

Il contagio prevalente avviene con lo scambio delle siringhe fra tossicodipendenti e con pratiche eterosessuali ed omosessuali promiscue non protette.

Dopo 3-6 settimane dal contagio, in circa il 50-70% dei soggetti, si manifesta la cosiddetta "infezione primaria", una sindrome simil-mononucleosica della durata di 1-2 settimane, con febbre, faringite, dolori muscolari, disturbi gastroenterici, eritema fugace morbilliforme e linfonodi superficiali ingrossati in alcune stazioni linfatiche. La successiva progressiva distruzione delle difese immunitarie alla base di gravi infezioni opportunistiche e neoplasie, avviene, come tutti sanno, dopo anni, anche oltre un decennio dal contagio.

La fase finestra, durante la quale l'infezione non è accertabile mediante i classici esami del sangue, è variabile da 1 settimana ad oltre 3 mesi.

⁶ Scuterini E.: "La valutazione virologica". In Atti del XXXIII Convegno Nazionale di Studi di Medicina Trasfusionale. Ed. SIMTI. Pescara, 13-17 giugno 1998, pp. 87-98.

BIOCHIMICA CLINICA

| | | Val.Rif. |
|--|-------|--|
| S-Glucosio | mg/dL | (60 — 110) |
| S-Urea | mg/dL | (15 — 50) |
| S-Creatinina | mg/dL | (0,6 — 1,3) |
| S-Acido Urico | mg/dL | (3,0 — 7,0) |
| S-Albumina | g/dL | (3,5 — 5,0) |
| S-Colesterolo | mg/dL | Inf. 200 Val. Desiderabile Tra 200 e 239 Val. Limite Sup. 240 Val.Elevato |
| S-Trigliceridi | mg/dL | (30 — 170) |
| S-Ferro | g/dL | (60 — 170) |
| S-GGT (Gamma Glut. Transp) | U/L | (5 — 45) |
| S-AST (Asp. Amino Transf.) | U/L | (5 — 40) |
| S-ALT (Alan. Amino Transf.) | U/L | (5 — 40) |
| S-Ferritina maschio | ng/L | (30 — 340) |
| “ femmina | ng/L | (8 — 110) |
| S-Sideremia | ng/dL | (60 — 140) |
| S-TIBC (Total Iron Binding Capacity) | ng/dL | (250 — 360) |
| S-Quoziente saturazione della transferrina | % | (15-50) |

EMATOLOGIA

| | | | |
|---------------------------------|--|----------------------|----------------|
| B-VES 1 ^a ora | | mm/h | (0 — 35) |
| B-Emocromo | | | |
| WBC Globuli bianchi | | x10 ⁹ /L | (4,00 — 10,00) |
| RBC Globuli rossi maschio | | x10 ¹² /L | (4,50 — 5,80) |
| “ “ femmina | | x10 ¹² /L | (4,00 — 5,40) |
| Hb Emoglobina maschio | | g/dL | (13,5 — 18,0) |
| “ “ femmina | | g/dL | (12,0 — 16,0) |
| Hct Ematocrito maschio | | % | (40,0 — 52,0) |
| “ “ femmina | | % | (35,0 — 48,0) |
| MCV Volume Corp.Medio RBC | | fL | (79,0 — 96,0) |
| MCH Contenuto Med.Emogl | | pg | (27,0 — 33,0) |
| MCHC Conc.Med.Emogl | | g/dL | (31,0 — 36,0) |
| RDW Ind.Distr.Vol.RBC | | % | |
| “ Reticolociti | | x10 ⁹ /L | (0,2 — 2,0) |
| Plt Piastrine | | x10 ⁹ /L | (140 — 450) |

B-Formula leucocitaria con metodo citochimico

| | Val. Rif. | Val. Assoluti paziente |
|-----------------------|-----------------|--|
| Neutrofili | % (40,0 — 70,0) | Neutrofili (3,00-5,20) x10 ⁹ /L |
| Linfociti | % (20,0 — 45,0) | Linfociti (1,50-3,60) x10 ⁹ /L |
| Monociti | % (1,0 — 10,0) | Monociti (0,20-0,60) x10 ⁹ /L |
| Eosinofili | % (1,0 — 4,0) | Eosinofili (0,10-0,30) x10 ⁹ /L |
| Basofili | % (0,0 — 1,0) | Basofili (0,04-0,10) x10 ⁹ /L |
| LUC gr.cell.peros.neg | % | |

URINE E FECEI

Esame completo delle urine

U-Esame chimico e organolettico

| | Val. Rif | | Val. Rif |
|----------------|------------|-----------------|-------------------|
| Aspetto | limpido | Glucosio | mg/dL (assente) |
| Colore | paglierino | Proteine | mg/dL (0 — 10) |
| Peso Specifico | 1010-1025 | Emoglobina | mg/dL (assente) |
| pH | 6-4,5 | Corpi Chetonici | mg/dL (assenti) |
| | | Bilirubina | mg/dL (assente) |
| | | Urobilinogeno | mg/dL (0,0 - 0,2) |

U-Esame microscopico del sedimento (campo di lettura 400 ingr.)

Leucociti (fino a 5 x campo)

Eritrociti

assenti

MARCATORI DELLE EPATITI VIRALI

Antigene di superficie virus EPATITE B - HBsAg
Anticorpi anti virus EPATITE C - HCV

Val. Signific.
negativo
assenti

SIEROLOGIA DELLE INFEZIONI BATTERICHE

Sierodiagnosi di LUE - Anticorpi totali anti TREPONEMA (EIA)

Val. Signific.
assenti

RICERCA ANTICORPI ANTI-HIV

Test di screening: HIV1 – HIV2 (ELISA)
Test di screening: HIV1 – HIV2 (AGGLUTINAZIONE)

Val. Signific.
negativo
negativo