

www.medicalsystems.it

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio *Italiano*



Guglielmo Bracco



Progettare un Laboratorio di Analisi

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

197

... il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

Caleidoscopio

Italiano



Guglielmo Bracco

*Dipartimento di Laboratorio - ASO S. Croce e Carle -
Cuneo*



Progettare un Laboratorio di Analisi

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

197

... il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI



INFORMAZIONI GENERALI. Caleidoscopio pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'International Committee of Medical Journal Editors. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte ovvero 100-130.000 caratteri (spazi inclusi). Si invita a dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. *Apreliminary report. J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2) Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse. Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLAMONOGRAFIA. Riporre il dattiloscritto, le fotografie, una copia del testo in formato .doc oppure .rtf, ed copia di grafici e figure in formato Tiff con una risoluzione di almeno 240 dpi, archiviati su CD in buste separate.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista Caleidoscopio rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed accettandone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al seguente indirizzo:

Restless Architect of Human Possibilities sas
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Caleidoscopio

Italiano

Editoriale

Illustrare il tema di questa monografia è sicuramente un compito arduo e, altrettanto complesso, presentarla perché richiede delle competenze specifiche. Ho pensato così corretto riportare alcuni commenti di “addetti ai lavori”, rese spontaneamente, dopo aver letto questa monografia.

“Il dott. Bracco descrive in modo dettagliato i cambiamenti che il Laboratorio ha subito in questi anni, la crescente considerazione da parte del Clinico, e l'importanza data al paziente. Vengono successivamente sviluppate le argomentazioni relative alla progettazione di un Laboratorio, dalla logistica, al personale, gli strumenti, fino ad arrivare alla gestione dello stesso. posso affermare di aver acquisito al termine di questa lettura una migliore conoscenza del funzionamento di un Laboratorio, dove il tutto è più della somma della parti” (Davide Bui).

“Quanto illustrato nella monografia del dottor Bracco si potrebbe definire neutrale rispetto alle politiche ed alle strategie delle Aziende” (Mario Da Ronco).

“L'argomento viene trattato nella sua interezza con competenza e serietà, con un linguaggio chiaro e comprensibile anche ai non addetti ai lavori. Il lavoro è molto interessante e indica in modo molto chiaro e condivisibile come dovrebbe essere il laboratorio moderno, con una corretta divisione dei ruoli fra le varie figura professionali e un flusso di lavoro orientato al paziente oltre che alla qualità analitica. Inoltre, la fase preanalitica viene finalmente riconosciuta come la base dell'organizzazione del laboratorio arrivando ad affermare che sta divenendo sempre più chiara l'enorme importanza della fase preanalitica all'interno del laboratorio. Il corretto smistamento, fin dal momento del loro arrivo, di tutti i materiali biologici che giungono in laboratorio è di fondamentale importanza per un corretto svolgimento dei flussi di lavoro in laboratorio. Sarebbe molto bello se tutti i laboratori fossero organizzati e gestiti come descritto dal dott. Bracco” (Daniele Reggio).

“Ho attentamente letto la monografia del Dott. Bracco trovandola estremamente interessante. Esprime in linea teorica come deve essere l'approccio di un laboratorista nel crearsi il suo mondo. Iniziando dalla gestione del paziente, alla esecuzione dei dosaggi fino ad arrivare anche alla gestione dei fornitori”.

L'autorevolezza del contenuto di questa monografia è sicuramente legata anche all'esperienza notevole dell'autore.

Il dottor Guglielmo Bracco ha conseguito la laurea in Medicina e Chirurgia e la specializzazione in Medico settore laboratorista presso l'Università di Torino e quella di specializzazione in Anatomia patologica e tecniche di laboratorio presso l'Università di Parma. E' stato prima assistente e quindi aiuto del Laboratorio Analisi dell'Ospedale Infantile Regina Margherita di Torino, per poi assumere l'incarico di primario del Laboratorio Analisi dell'Ospedale Evangelico Valdese di Torino e successivamente direttore sanitario dello stesso. Chiamato per ricoprire la carica di primario del Laboratorio Analisi dell'Azienda Ospedaliera Santa Croce e Carle di Cuneo, ha assunto quindi anche l'incarico di direttore del Dipartimento di Laboratorio della stessa. Dopo un breve intervallo in cui ha ricoperto l'incarico di direttore sanitario dell'ASL 1 Imperiese, è stato direttore sanitario di AMOS (Azienda multiservizi ospedalieri e sanitari) società costituita ex-art 9 bis D. lgs. 502/92 fra le Aziende sanitarie del Quadrante di Cuneo con altri soci privati di Cuneo, che ha un laboratorio analisi che esegue circa 2.500.000 analisi all'anno, gestendo 1000 - 1500 passaggi di pazienti ogni giorno. Gestione completamente informatizzata del Laboratorio con una semplificazione e standardizzazione delle procedure e automazione dei processi certificati ISO 9002. Dal 2006 è direttore di Laboratorio dell'ASO S. Croce e Carle di Cuneo.

Tra le tante attività ci piace ricordare che presso l'Ospedale Infantile Regina Margherita di Torino ha istituito ed è stato responsabile del Centro Screening neonatali della Regione Piemonte, gestendolo secondo criteri di scientificità, creando una rete piemontese di Pediatri ed Endocrinologi, e curando i rapporti con altri Centri italiani e stranieri (Svizzera ed Australia in particolare) lavorando con il Prof. Fiorucci: Sulla base di quell'esperienza scrisse uno dei numeri del *Caleidoscopio* nel 1992 dedicato agli "Screening neonatali". Presso l'Ospedale Evangelico Valdese di Torino ha organizzato un sistema di accettazione e refertazione in tempo reale.

Il dottor Bracco ha ricoperto cariche elettive in alcune associazioni scientifiche (Società italiana di Medicina di Laboratorio, Società italiana di Biochimica e Biologia molecolare clinica). Ha fatto parte della "Commissione Laboratori" dell'Assessorato alla Sanità della Regione Piemonte. E' stato responsabile per la Regione Piemonte del programma di verifica esterna di qualità per l'Ematologia. E' stato ed è docente in numerose Scuole di Specializzazione dell'Università di Torino.

Sergio Rassu

Prefazione al volume del dott. Guglielmo Bracco

Nell'ultima metà del secolo la medicina ha compiuto un enorme progresso, sia per l'ampiezza delle conoscenze che si sono andate accumulando, sia per l'evoluzione tecnologica dei metodi di misura.

Se è vero che a nessun paziente verrebbe in mente di criticare questo progresso, molti pazienti risultano insoddisfatti del rapporto con il loro medico. Ciò deriva, almeno in parte, dal fatto che al progresso della medicina come scienza non ha corrisposto un parallelo progresso di umanizzazione riguardante il modo con il quale le conoscenze scientifiche vengono applicate alla clinica. In altri termini, è mancata l'attenzione all'evoluzione del rapporto medico-paziente in un'epoca dominata dalla tecnologia.

Così accade che, mentre cinquant'anni fa era considerato professionalmente capace il medico che formulava la diagnosi dopo la visita senza far ricorso agli esami di laboratorio, oggi gode della stessa stima solo il medico che faccia ricorso anche a indagini strumentali e di laboratorio.

In realtà, il buon medico, oggi come ieri, è colui che raccoglie le informazioni necessarie a formulare ipotesi diagnostiche pertinenti, procede alla deduzione di alcune conseguenze controllabili e verifica sperimentalmente le ipotesi fino a scegliere quella più accettabile in base ad un giudizio di probabilità. Quindi, le ragioni per le quali il medico di un tempo faceva scarso o nullo ricorso alle indagini di laboratorio sono esclusivamente di tipo storico e non logico; egli, infatti, utilizzava al meglio gli strumenti a sua disposizione che a quel tempo erano confinati prevalentemente all'esame clinico data la "rudimentalità" del laboratorio. Risalgono a quel tempo affermazioni come "la clinica è maestra, il laboratorio è ancillare" oppure "quando il dato clinico e il dato di laboratorio sono discordanti, rigetta il dato di laboratorio", che hanno perso oggi ogni significato.

Attualmente il buon medico deve utilizzare al meglio gli strumenti a sua disposizione che, in alcuni casi, possono essere confinati all'esame clinico, mentre in altri possono comprendere un numero piccolo o grande di esami di laboratorio. Infatti, l'utilità di un esame di laboratorio dipende dal grado di informazione che questo può fornire per la risoluzione di un dato problema diagnostico. Non deve perciò sorprendere che il problema della febbre in

un soggetto in buona salute con un ascesso da corpo estraneo possa essere risolto con la sola visita al termine della quale il medico può procedere all'incisione dell'ascesso ed alla rimozione del corpo estraneo senza ricorrere ad alcuna ulteriore indagine. La stessa febbre comparsa da alcuni giorni in un altro soggetto che accusa da mesi artralgie alle piccole articolazioni può richiedere il ricorso agli esami di laboratorio per giungere alla diagnosi. Il "potere informativo" del dato clinico è sufficientemente forte nel primo caso per non richiedere un ulteriore approfondimento diagnostico, mentre risulta debole e quindi richiede altre informazioni dai dati di laboratorio per giungere alla diagnosi nel secondo caso.

Il medico deve perciò essere consapevole che il proprio paziente è "confuso" dal progresso tecnologico. Dalla disponibilità del medico a comunicare con il paziente per informarlo o rassicurarlo dipende l'esistenza del rapporto di fiducia senza il quale la soluzione dei problemi della salute risulta difficile perché disturbata dall'ansia, dall'incomprensione, dalla diffidenza. La trasformazione del rapporto medico-paziente, un tempo connotato dall'autorità e oggi basato sull'informazione, è quindi una necessità e non una moda.

Questo cambiamento epocale ha innescato anche un nuovo rapporto tra medico curante e medico di laboratorio, oggi più propriamente denominato Patologo Clinico ad indicare un suo contributo più diretto al procedimento diagnostico: scelta dell'esame più conveniente da impiegare, interpretazione del risultato ottenuto alla luce dei dati clinici. Tale collaborazione ha anche coinvolto il patologo clinico nel rapporto con il paziente: disponibilità alla comunicazione, organizzazione di orari per facilitare prelievi e consegna di campioni, ritiro dei risultati, semplificazioni burocratico-amministrative. Questa nuova relazione tra medico curante, patologo clinico e paziente si è resa necessaria non solo per migliorare la qualità e l'efficacia dell'atto medico, ma anche per conferire umanità alla dimensione tecnologia del laboratorio.

Lo scritto del dott. Guglielmo Bracco costituisce una "visita guidata al laboratorio analisi". Gli invitati alla visita, cioè i potenziali lettori, sono tutti coloro che, a vario titolo e più o meno direttamente, hanno o avranno un rapporto con il laboratorio: studenti di diplomi di laurea o corsi di laurea di medicina, infermieri, medici, assistenti sociali, amministratori della sanità, persone impegnate nel volontariato dell'assistenza ai malati. L'autore è un medico che ha sempre rivolto il proprio impegno professionale alla medicina di laboratorio vivendo in prima persona tutte le trasformazioni tecnologiche del laboratorio analisi avvenute negli ultimi 30 anni. Di questo cambiamento è stato non solo attento osservatore, ma anche attivo protagonista. La sua cultura deriva non solo da una solida preparazione scientifica e tecnolo-

gica, ma anche da una attenta sensibilità ai problemi dell'uomo malato, che egli considera elemento centrale della propria attività professionale. Questo piccolo volume costituisce un prezioso contributo del suo impegno ad "aprire la porte del laboratorio". Ai lettori l'augurio di poter conoscere ed apprezzare il laboratorio analisi nella sua moderna dimensione tecnologica ed umana.

Prof. Paolo Cavallo Perin
Dipartimento di Medicina Interna
Università di Torino

Introduzione

L'insegnamento di Federico Levis è stato fondamentale per la medicina di laboratorio e per la mia professione. Le sue profonde conoscenze fisiopatologiche, il suo intuito clinico, il suo rigore scientifico hanno ispirato la sua interpretazione del laboratorio clinico.

Egli comprese molto presto come l'automazione e l'informatica fossero l'ausilio migliore per il patologo che deve cogliere le alterazioni bioumorali che affiancano la tradizionale semeiotica nella diagnosi e nella terapia delle patologie umane.

Questo volume si prefigge un solo scopo: ricordare che il laboratorio è una branca della medicina. Le professionalità sono diverse nel laboratorio, ma la medicina di laboratorio deve intendere la propria missione come il complemento alla clinica, interagendo con il medico che ha di fronte il malato, completando il suo iter diagnostico.

Il laboratorio deve quindi essere diretto ed organizzato da un esperto di metodi analitici e di variabilità biologica, preanalitica ed analitica, nell'ottica del medico che ha bisogno di tutte le possibili informazioni cliniche, strumentali e biochimiche per una corretta diagnosi, terapia, e follow-up del paziente.

I metodi analitici devono essere accurati, precisi, e costantemente tenuti sotto controllo. Su ciò non si transige. Ma neppure si transige sul fatto che il laboratorio deve essere diretto con lo sguardo del clinico, con la certezza di dare tutte le necessarie informazioni semeiotiche, con partecipazione alla sofferenza del malato.

Senza queste preoccupazioni, il laboratorio diviene un luogo tecnico, preoccupato di badare alle proprie esigenze anziché a quelle del malato. E poiché il laboratorio ha scarsi contatti diretti con il malato, grande deve essere lo sforzo e l'opera di convincimento per rendere il laboratorio di analisi un indispensabile punto di riferimento e di collaborazione con il clinico.

Dobbiamo imparare, noi laboratoristi, a dirigere il laboratorio con l'occhio di chi ha bisogno delle nostre informazioni. Facciamo in modo di vederlo come se il malato, e non solo un suo materiale biologico, fosse davanti noi, con la sua esigenza di salute, le sue preoccupazioni, le sue ansie.

Chi vive in laboratorio deve avere buona conoscenza delle norme che regolano la Sanità, il Servizio Sanitario Nazionale, le Regioni, ciascuna Azienda sanitaria locale e ciascuna Azienda ospedaliera.

Oggi la modalità di finanziamento delle strutture sanitarie è assai diversa rispetto a pochi anni. Un tempo ogni unità territoriale o ospedaliera veniva rimborsata a pie' di lista, cioè in base alle spese e non alle prestazioni. Risultava difficile verificare l'efficienza di ogni struttura sanitaria.

Oggi, a seguito del D.L. 502/92 e successive modifiche, si sono create autonome aziende sanitarie, locali o ospedaliere, ciascuna retta da un direttore generale, che ha ampi poteri di nomina dei suoi collaboratori dirigenti, ed ha il dovere di avere il bilancio in pareggio.

Le entrate sono stabilite in base alle prestazioni. I DRG (diagnosis related groups) o ROD (raggruppamenti omogenei di diagnosi) consentono di inquadrare ogni ricovero in una determinata posizione corrispondente ad un determinato rimborso. Anche le prestazioni ambulatoriali vengono valorizzate, e le aziende ospedaliere vengono dunque finanziate in base al totale delle prestazioni prodotte.

Le aziende sanitarie locali (ASL) vengono invece finanziate in base alla quota capitaria: esse ricevono circa 1.700 euro per ogni persona assistita. Con tale quota le ASL devono garantire la salute del cittadino, rimborsando il medico di base, i farmaci, i veterinari, l'igiene pubblica, le prestazioni diagnostiche (esclusi i ticket), i ricoveri ospedalieri, e così via.

Tenendo scisse le funzioni di aziende sanitarie e ospedali (come avviene in alcune Regioni d'Italia), l'ente che richiede la prestazione (ASL) paga l'ente che fornisce la prestazione (ospedale) e può fare valere il suo controllo.

Prima di avviarvi alla lettura di questo libro, consentitemi un consiglio. Avviatevi alla professione del laboratorio (da medici, biologi, chimici, tecnici) solamente se siete sicuri di averlo fatto come prima scelta. Se farete questo mestiere come seconda spiaggia, dopo avere tentato altre e più desiderate strade, diverrete insofferenti, scontenti e cercherete una perenne rivalsea verso il clinico che ha nelle mani la vita del malato.

Se avrete scelto questo mestiere come prima e desiderata strada, vi renderete conto come la medicina di laboratorio sia l'integrazione fra l'alta tecnologia e la profonda essenza della fisiopatologia umana.

Il Laboratorio e il suo utilizzo in medicina

Il laboratorio di analisi chimico-cliniche e microbiologiche è divenuto uno dei punti fondamentali della diagnostica della maggior parte delle malattie umane. La semeiotica, cioè la ricerca e l'interpretazione dei sintomi, comprende a pieno titolo le indagini strumentali e di laboratorio con la stessa importanza dell'anamnesi, del fonendoscopia, della palpazione dell'addome, della ricerca dei polsi periferici.

Segue qualche esempio:

- le numerose forme di leucemia necessitano, sia al momento della diagnosi sia nel corso del follow-up, della diagnostica di laboratorio,
- l'ipercolesterolemia necessita, sia al momento del primo sospetto diagnostico sia per seguire l'andamento della patologia e della terapia, di accurati dosaggi della colesterolemia e di altri fattori di rischio, ed eventuali studi familiari di biologia molecolare,
- lo studio dell'anemia da qualunque causa deve essere completo per stabilirne la causa, ed essere poi seguito con successivi conteggi di globuli rossi e valutazioni dell'emoglobina, che devono valutare l'effetto della terapia sull'anemia stessa.

Di alcune patologie il laboratorio può eseguire uno screening precoce per l'individuazione di malattie prima che entrino nella fase clinica:

- screening neonatali di fenilchetonuria, ipotiroidismo e altre condizioni gravi se non immediatamente diagnosticate,
- screening mediante esame citologico del carcinoma del collo dell'utero,
- screening di ipercolesterolemie.

Perché abbia senso e significato eseguire un programma di screening occorre rispettare alcune regole fondamentali:

- che la malattia sia ben nota, sia nella sua evoluzione naturale, sia dopo l'effetto di una terapia efficace,
- che una terapia efficace esista, e sia sopportabile,
- che la malattia sia diagnosticabile per mezzo del laboratorio ben prima della fase clinica e in tempo utile perché l'instaurazione di una terapia abbia efficacia,
- che la malattia sia relativamente frequente,
- che esista un test di laboratorio sufficientemente specifico e sensibile per mettere in evidenza tutte le forme in momento preclinico,

- che il test di laboratorio sia sufficientemente economico da poter essere adottato su larga scala e che quindi il test stesso sia anche facilmente eseguibile e quanto più possibile automatizzato.

Il laboratorio ha poi grande efficienza ed efficacia diagnostica quale supporto alle ipotesi cliniche. In molti casi il clinico sospetta una determinata patologia in base alle conoscenze sulla frequenza della malattia stessa nella popolazione a lui più vicina, oppure per la presenza di sintomi che lo indirizzino verso una determinata ipotesi diagnostica. Il laboratorio in questo caso conferma o smentisce le ipotesi diagnostiche del clinico. Così, ad esempio, un sospetto clinico di gotta ha bisogno della conferma di laboratorio, che si otterrà o dall'aumento dell'acido urico nel sangue o dal rinvenimento di cristalli di acido urico nel liquido sinoviale prelevato.

Il laboratorio è ancora fondamentale nel seguire la terapia di numerose situazioni cliniche, quali, ad esempio, la terapia anticoagulante orale che viene somministrata nei casi di pregressi episodi trombo-embolici o dopo interventi eseguiti sul cuore o sui vasi sanguigni. In questi casi il laboratorio può dosare il farmaco nella sua concentrazione ematica (dosaggio di anti-convulsivanti o della digossina) oppure gli effetti della terapia (tempo di Quick e INR nel monitoraggio della terapia anticoagulante orale).

Altro importante compito della medicina di laboratorio è seguire l'andamento di numerose malattie e verificarne nel tempo il miglioramento o il peggioramento, evidente talora in anticipo per mezzo di segni biochimici rispetto ai sintomi clinici: tipico esempio sono i cosiddetti marcatori tumorali quando vengono utilizzati per monitorare la malattia e predirne recidive.

Progettazione di un Laboratorio

Per progettare un laboratorio occorre prendere in considerazione molti aspetti: il personale, sia in termini qualitativi sia quantitativi, gli spazi, la strumentazione, l'informatizzazione e l'organizzazione.

L'analisi di questi aspetti non può prescindere da un'attenta valutazione della popolazione che si rivolge al laboratorio: così il laboratorio di un ospedale di malattie infettive dovrà prevedere strumentazione particolarmente adatta a questo tipo di patologia, un laboratorio che si occupi di malattie ereditarie non potrà trascurare gli aspetti di biologia molecolare dello studio delle mutazioni del DNA. E così via.

La valutazione degli spazi deve tener conto delle norme e leggi nazionali e regionali che determinano abitualmente un numero di metri quadri minimo per il consenso all'apertura di un laboratorio. Il numero di metri quadri deve tener conto se si tratti di laboratorio di base o se abbia aree specialistiche, dovrà tenere conto degli spazi necessari per l'attesa dei pazienti ambulatoriali, per la sterilizzazione e il lavaggio, e per la segreteria.

Nella disposizione della segreteria ed in particolare dei videoterminali in essa presenti si dovrà tener conto delle norme relative alla sicurezza sul lavoro e in particolare del decreto legislativo 626/94 che prevede che la postazione e l'ambiente di lavoro garantiscano il benessere fisico e psichico di chi per ore (con i dovuti intervalli di attività) presta la sua opera interagendo con un videoterminale. Pertanto occorre occuparsi del microclima, dell'illuminazione, della disposizione dei videoterminali rispetto alle sorgenti di luce, della posizione di lavoro, delle sedie, e così via.

La scelta e la disposizione dei locali deve essere studiata con particolare cura poiché si tratta di investimenti a lunga e talora lunghissima scadenza. E' noto quanto ogni variazione rispetto ad una situazione esistente, nel campo dell'edilizia, provochi costi e difficoltà logistiche estremamente gravi e difficilmente compatibili con l'attività in corso.

E' bene quindi prevedere locali ampi, assai poco divisi fra loro se non da tramezzi, da pareti mobili attrezzate, eccetto che per quei locali che necessitano di una dotazione particolare che preveda la salvaguardia della sicurezza da rischi biologici o chimici. Locali ampi e non suddivisi garantiscono il migliore sfruttamento degli spazi e la maggiore flessibilità nell'impiego del

personale. Tutti i servizi tecnologici (elettricità, telefonia, collegamenti informatici, etc.) devono essere previsti in un controsoffitto, da cui possono scendere i terminali in qualunque posizione vengano disposti strumenti e PC.

E' bene che i locali addetti a studi, a refertazione, a ricevimento di pazienti o di visitatori siano disposti nella prima parte del laboratorio e che i settori analitici del laboratorio siano disposti soltanto nella parte successiva, suddivisa da una porta, su cui sia inserito un cartello di divieto di accesso ai non addetti ai lavori.

E' comunque noto che nella massima parte dei casi ci si trova di fronte a situazioni strutturali già esistenti e occorre quindi fare fronte con il massimo buon senso ad un'eventuale ristrutturazione. E' sempre auspicabile, ove possibile, l'abbattimento di qualche muro con creazione di open space.

La scelta della strumentazione dovrà discendere da un'attenta valutazione degli obiettivi che si vogliono perseguire:

- caratteristiche tecniche che vanno dal carry over alla riproducibilità dei dati alla linearità dei metodi e così via.
- rapidità di risposta per un ampio numero di analisi in un laboratorio ospedaliero,
- necessità di dare in tempi non particolarmente ristretti un ampio numero di risposte in un laboratorio ambulatoriale,
- tipologia di analisi richieste in considerazione della patologia afferente,
- attenzione ai volumi di sangue richiesti quando ci si trovi di fronte ad una popolazione pediatrica,
- dimensioni della strumentazione.

Le modalità amministrative di acquisto della strumentazione possono variare dall'acquisto, al noleggio, al sempre più frequente service onnicomprensivo di strumento, reattivi, manutenzione programmata e urgente, e pezzi di ricambio. E' bene, nel caso del service, prevedere tempi di contratto sufficientemente lunghi da garantire un adeguato ammortamento della strumentazione. Occorre riferirsi alle leggi nazionali e regionali ed alle norme della propria amministrazione per scegliere le corrette modalità di acquisto:

- gara informale,
- trattativa privata in esclusiva o su invito,
- licitazione privata,
- appalto concorso.

Per le acquisizioni è bene istituire un ottimo rapporto con il Provveditorato affinché il capitolato di acquisto venga scritto a quattro mani, dal laboratorista per la parte tecnica e organizzativa, dal

Provveditorato per la parte economica e amministrativa. E' inoltre opportuno ottenere un parere preventivo da parte dell'Ufficio tecnico per le opere di installazione, e dell'Ingegneria clinica per le caratteristiche strumentali.

Per la scelta dell'informatizzazione occorre procedere con largo anticipo ad un'attenta valutazione delle forze interne al laboratorio, delle necessità del laboratorio e degli obiettivi organizzativi. Anche la scelta di programmi di ditte specializzate nell'informatica di laboratorio richiede comunque una parametrizzazione e personalizzazione che richiede alcuni mesi.

Qui più che altrove è indispensabile un'assoluta e approfondita programmazione delle proprie attività e dei propri obiettivi, tenendo a mente che nulla è impossibile all'informatica, non esistono problemi che l'informatica non possa risolvere: costi e tempi necessari per affrontare le esigenze esposte devono essere l'unico limite. Per anni siamo stati abituati dagli informatici a risposte quali "non si può": deve essere chiaro che nulla è impossibile, ma tutto ha un costo. Le personalizzazioni sono invece di assoluta importanza nell'applicazione dell'informatica al laboratorio clinico.

Dell'informatizzazione, che deve essere forte e centralizzata, si parlerà più diffusamente nella parte riguardante l'organizzazione.

Per gli aspetti amministrativi riguardanti l'acquisizione di un programma informatico valgono gli stessi principi discussi nel capitolo "strumentazione". E' evidente che in questo caso non sono possibili i service, ma si tratterà di acquisto o di noleggio.

Il capitolato dovrà essere estremamente chiaro ed esplicito nell'evidenziare gli aspetti di hardware e di software richiesti, e dovrà essere presente una dettagliata relazione riguardante l'organizzazione prevista nel laboratorio grazie al sistema informatico. Soltanto un capitolato molto dettagliato consentirà di porsi di fronte alla ditta che vincerà la gara con richieste precise e che dovranno essere esaudite. I ripensamenti in corso d'opera sono d'abitudine costosi sia dal punto di vista economico sia dal punto di vista dei tempi di attuazione.

Specialmente se non si è esperti nel campo dell'hardware e di programmi commerciali, nella stesura del capitolato è bene affidarsi per questi specifici aspetti alle competenze di persone professionalmente preparate, di preferenza il responsabile del CED ospedaliero. Occorre tuttavia avere molto chiaro quali siano le esigenze particolari del laboratorio, che devono certamente contemperarsi con le esigenze amministrative ma che non possono da queste subire limitazioni nel senso di orari o di flessibilità dei programmi.

Personale

Numericamente il personale deve essere adeguato alla qualità e alla quantità del lavoro svolto. Esistono a tal fine parametri, quali quello del CAP (College of American Pathologist) che però pare assai complicato, o quello del programma di rilevazione dell'attività dei laboratori della regione Piemonte. Bisognerà tenere a mente che spazi e personale sono strettamente correlati, poichè le norme per l'accreditamento prevedono un determinato numero di metri quadri per ciascun dipendente. Le figure professionali previste e necessarie in un laboratorio sono: il medico, il biologo, il chimico, il laureato in chimica e tecnologie farmaceutiche, il tecnico sanitario di laboratorio medico, infermieri e personale ausiliario, personale amministrativo di segreteria.

E' bene esista una chiara individuazione delle competenze fra personale tecnico e di segreteria: il personale tecnico deve considerare che il suo lavoro comprenda:

- l'accettazione delle analisi interne
- l'esecuzione delle fasi preanalitiche ed analitiche, compresi controllo di qualità e manutenzione della strumentazione
- la preparazione dei risultati delle analisi,
- la stampa e la consegna delle analisi interne, sulla base di procedure e validazioni stabilite dai laureati.

La segreteria si fa invece carico di tutto quanto riguarda l'ambulatorio, essendovi numerosi aspetti burocratici ed amministrativi di inserimento delle analisi, di consegna dei referti, di pagamento del ticket, che sono di competenza del personale idoneamente addestrato.

I ruoli di ciascuna figura professionale dovranno essere dettagliati in modo molto chiaro. Le annose dispute, anche legali e giudiziarie, che hanno coinvolto negli scorsi anni laureati in medicina e laureati "dei ruoli speciali", e che oggi coinvolgono anche i tecnici laureati, derivano in buona parte da una mancanza di chiarezza nella definizione dei ruoli di ciascuno. Alcuni di questi ruoli possono essere comuni, come ad esempio la direzione di un settore del laboratorio, la responsabilità del controllo di qualità, e così via.

Il ruolo dei medici di laboratorio deve essere ben definito nella descrizione delle responsabilità. Ad essi, infatti, deve essere affidato l'incarico e la responsabilità clinica di portare al migliore possibile utilizzo il dato di labo-

ratorio. Così il medico di laboratorio deve essere coinvolto nella formazione di protocolli e profili diagnostici con i reparti, di percorsi diagnostici che portino a definire situazioni cliniche grazie all'esecuzione di successive analisi derivanti da precedenti analisi con risultati alterati, lo studio di casi clinici nella loro interezza, con lo scopo di giungere a ipotesi o conclusioni diagnostiche utili al clinico.

Ai tecnici non compete solamente (come un tempo) un ruolo di esecutori di procedure. Grazie alla sempre crescente automazione il compito dei tecnici diviene, infatti, sempre più un compito di collaborazione alla stesura delle procedure, di controllo delle apparecchiature, dei risultati, delle verifiche di qualità e anche di alcuni aspetti organizzativi. Questi compiti devono essere chiaramente concordati e condivisi, perché comportano responsabilità che vanno ben oltre la semplice manualità dell'esecuzione di una procedura. Ciò è ancor più vero oggi, in quanto alla professione di tecnico si accede con laurea professionalizzante triennale.

Ciascun ruolo professionale in sostanza deve assumersi proprie responsabilità con l'intento di contribuire al miglioramento della salute del malato. Principale compito del laboratorio è, infatti, quello di farsi carico delle necessità di salute evidenziabili mediante analisi bioumorali. Troppo facile è trincerarsi dietro dati strumentali, lasciandone la valutazione al clinico. Compito del laboratorista è conoscere la variabilità analitica dei test in esecuzione, la variabilità biologica, la variabilità preanalitica dovuta alle condizioni di prelievo.

Solo in questo modo, interpretando e commentando un gran numero di test di laboratorio di difficile interpretazione da parte del clinico, e solo interagendo con il clinico nel concordare protocolli, profili e percorsi diagnostici può il laboratorista espletare la sua funzione non delegabile di esperto interprete delle variazioni bioumorali, la cui determinazione contribuisce a meglio definire ipotesi diagnostiche non altrimenti verificabili.

La formazione del personale è uno degli aspetti principali delle preoccupazioni di chi dirige un laboratorio. La formazione deve riguardare i numerosi aspetti della medicina di laboratorio: quelli tecnici, analitici, innanzi tutto.

La formazione deve inoltre comprendere aspetti clinici, cioè relativi all'utilità delle indagini eseguite per diagnosi, terapia e follow-up dei pazienti. Sulla sicurezza dell'attività lavorativa deve essere data accurata ed ampia informazione, e formazione per ridurre i rischi e affrontare gli eventuali incidenti.

La missione e le intenzioni della direzione devono essere discusse e comunicate al personale. Soprattutto nel pubblico impiego, l'autoritarismo non porta buoni frutti. Occorre guadagnarsi autorevolezza, sul campo, con l'esempio più che con le parole. Dialogare, ascoltare ogni parere, discutere la propria visione della medicina di laboratorio. E' bene giungere a decisioni quanto più possibile condivise. Ma al bisogno occorre che il direttore decida per tutti, talora contro il parere di altri se è sicuro dei propri convincimenti.

Strumenti

La scelta della strumentazione di un laboratorio deve tenere conto di numerosi aspetti, che devono essere attentamente previsti al momento della stesura del capitolato. Il capitolato per una fornitura in un pubblico servizio deve essere stilato con la massima cura e la massima serietà. Nel capitolato devono essere dettagliatamente descritte le caratteristiche minime della strumentazione e dei reattivi: si tratta cioè di indicare quali siano gli standard minimi che si vogliono ottenere per quanto riguarda affidabilità, rapidità, linearità delle reazioni, numero di parametri eseguibili contemporaneamente sulla strumentazione, assorbimento energetico e consumo di acqua, scarichi tossici, emissioni di calore, pesi e misure.

Saranno inoltre indicate altre caratteristiche preferenziali, la cui mancanza non può portare quindi all'esclusione dello strumento dalla valutazione, ma che porteranno a determinare le differenze di punteggio tecnico che verranno attribuite dalla commissione che si occuperà della valutazione delle offerte.

Non si potrà a posteriori, in corso di gara, inserire nella valutazione caratteristiche tecniche che non siano già state previste nel capitolato. Ecco perché la stesura del capitolato deve essere estremamente precisa.

Quali siano le caratteristiche di minima o preferenziali da includere nel capitolato dipende dal tipo di laboratorio in cui ci si trova ad operare, dalla popolazione afferente, dalle patologie più comunemente riscontrate, dall'organizzazione del laboratorio, dal personale e dagli spazi a disposizione.

Avendo a mente l'aspetto organizzativo del laboratorio, si tenderà a scegliere per ciascun settore di base (ematologia, coagulazione, chimica) strumenti fra loro uguali all'interno dello stesso settore sia per la routine, sia per l'urgenza. Ciò favorisce semplicità di formazione del personale, intercambiabilità dei pezzi di ricambio, riduzione delle scorte di magazzino.

E' bene non scegliere un unico potente strumento in grado di svolgere da solo tutto il lavoro, in quanto l'eventuale guasto meccanico porterebbe a fermare l'intera capacità diagnostica di quel settore.

Da due a quattro strumenti garantiscono versatilità di impiego, back up, possibilità di scegliere lo strumento in quel momento meno carico di lavoro

per eseguirvi analisi urgenti. L'affidabilità dello strumento, le certificazioni ottenute dal produttore, l'assistenza tecnica di fiducia costituiranno ulteriori importanti criteri di valutazione.

Per altri settori del laboratorio, dove la rapidità estrema della risposta non sia un punto cruciale di scelta, diversi strumenti potranno integrarsi fra loro per soddisfare con la massima qualità un'ampia tipologia di analisi. Nelle indagini immunometriche ad esempio non esistono ancora strumenti che garantiscano la massima qualità su tutte le analisi eseguibili, ed occorre pertanto procedere ad un'integrazione di più strumenti. Tuttavia, la massima concentrazione di indagini su pochi strumenti favorisce gli stessi positivi risultati descritti per la chimica: versatilità, back-up, semplicità di formazione del personale.

L'elemento prezzo avrà un suo peso nella valutazione delle offerte di strumenti. Nello svolgimento di una gara in un ente pubblico, i rispettivi pesi della valutazione tecnica e della valutazione economica sono prestabiliti. L'onesta valutazione della strumentazione e dei reattivi offerti dalle ditte consentirà al responsabile del laboratorio di utilizzare un ampio ventaglio di punteggi tecnici che gli consenta di esprimere chiaramente le sue preferenze.

Deve costituire momento di alta tensione e senso di responsabilità la valutazione che si esprime in punteggi, che non devono essere interpretati come giudizio di qualità soltanto, ma soprattutto come interpretazione del responsabile di laboratorio di quale sia lo strumento che costituisca la miglior scelta per quel laboratorio, in quel periodo storico, con quella particolare organizzazione che, anche grazie alla scelta strumentale, il responsabile intende dare al laboratorio. Sono decisioni di grande responsabilità, che impegneranno il laboratorio per numerosi anni. Sono decisioni di grande responsabilità, ciascuna delle quali costituisce un tassello nella storia e nello sviluppo dei laboratori e delle ditte produttrici di strumenti e di reattivi.

Alla correttezza nella valutazione della strumentazione e dei reattivi da parte del responsabile del laboratorio, deve corrispondere analoga correttezza da parte delle ditte nella stesura delle offerte.

In particolare, nell'offerta economica, la cui busta verrà aperta solo successivamente alla valutazione tecnica, la correttezza impone che la quantità di reattivi offerta sia consona al numero di analisi previste per anno, comprese le calibrazioni, compreso il fatto che le analisi rare non possono essere eseguite una volta l'anno tutte insieme per risparmiare reattivi.

Cioè si richiede che almeno si tenga conto della scadenza dei reattivi, delle calibrazioni talora numerose per ogni test refertato, del fatto insomma che non può esservi esatta corrispondenza fra il numero di test annuo previsti e il numero di test previsti per confezione.

Quanto detto è particolarmente importante: come abbiamo visto, occorre tenere conto del fatto che la busta con l'offerta economica viene aperta successivamente alla determinazione delle valutazioni tecniche. Già nel capitolato, pertanto, bisogna prevedere la possibilità di ricalcolare offerte incongrue dal punto di vista quantitativo. Inoltre, il responsabile di laboratorio, nell'assegnazione del punteggio tecnico, può valutare anche la personalizzazione dell'offerta per quel laboratorio e per quel capitolato.

L'informatizzazione

Il sistema informatico deve rappresentare il pensiero che il responsabile del laboratorio ha dell'attività del laboratorio stesso.

Non posso cioè dirvi che cosa il sistema informatico deve fare per voi. E' ciascuno a dovere dire che cosa il sistema informatico deve fare per lui.

Esistono sistemi informatici creati in casa. Certamente questi rappresentano al meglio l'organizzazione desiderata. Essi hanno tuttavia un grosso inconveniente. Quando il programmatore, o i programmatori, se ne siano andati a lavorare dove sia più conveniente per loro, ci si troverà con un sistema quasi inutilizzabile.

I sistemi informatici del commercio sono più distribuiti nei laboratori, più standardizzati, e sono pertanto meno flessibili di quelli fatti in casa. Hanno il vantaggio di non dipendere dal singolo dipendente, e lo svantaggio di dipendere dal commercio.

Fra le due ipotesi, ho personalmente scelto il sistema informatico del commercio, ma non è certamente questa l'unica scelta valida.

Per utilizzare i programmi del commercio, occorre avere perfettamente cognizione di ciò che si vuole ottenere dal sistema informatico. Occorre cioè crearsi nella propria mente l'organizzazione del laboratorio, descriverla nel capitolato, e pretendere ciò che si è descritto.

Dipendere da ciò che le ditte di informatica offrono, senza pretendere personalizzazioni intelligenti, significa delegare la direzione del laboratorio ad altri.

Disegnare l'organizzazione del proprio laboratorio ed esigere che il sistema informatico lo rappresenti significa avere in mano il laboratorio.

Il sistema informatico di un laboratorio deve essere acquistato in modo indipendente dalla strumentazione. La strumentazione passa, evolve con il tempo. Il sistema informatico gestionale del laboratorio deve rappresentare l'evoluzione non già dei sistemi analitici, ma delle esigenze organizzative del laboratorio.

Un aspetto dell'informatica ha grande importanza decisionale. Ogni strumento viene oggi venduto con ottimi sistemi gestionali settoriali. Ad esempio, tutti gli strumenti di ematologia vengono d'abitudine offerti con un sistema gestionale ematologico in grado di paragonare ogni emocromo ai precedenti dello stesso paziente, con allarmi sui parametri patologici o che si discostano dalla storia clinica del paziente.

Questi sistemi gestionali sono ottimi, a patto che vengano gestiti da personale esperto del settore. Vanno quindi bene là dove si vogliono costituire isole di lavoro specializzate, ma difficilmente intercambiabili fra loro. L'inconveniente di questi sistemi si ha quando si voglia costituire un laboratorio flessibile, con facile spostamento del personale da un settore all'altro, come avviene quando numerosi tecnici devono sostituirsi fra loro in turni di urgenza.

In realtà, occorre imporre alla ditta che propone il sistema gestionale dell'intero laboratorio di farsi carico di tutte le peculiarità dei sistemi gestionali intermedi. In sostanza, l'interfaccia con l'operatore deve essere sempre la stessa, ed il sistema gestionale del laboratorio deve svolgere le funzioni dei sistemi gestionali di settore.

Ciò non è per nulla frequente, e quindi un giusto equilibrio fra la notevole quantità di informazioni del sistema di settore e la uniformità del sistema dell'intero laboratorio è la migliore soluzione.

Se lavorate in un laboratorio settoriale, di ematologia o di immunometria, scegliete un sistema gestionale di settore, approfondito e particolare, poiché questo costituisce l'intero sistema gestionale.

Se lavorate in un laboratorio generale, pretendete di fare svolgere al sistema gestionale dell'intero laboratorio il massimo possibile numero di funzioni svolte dai sistemi di settore. I vostri tecnici dovranno apprendere un unico linguaggio in qualunque settore lavorino, ma dovrete prevedere una memoria centrale di notevoli capacità.

Identificazione del paziente, del campione, della richiesta

Eeguire correttamente un'analisi al paziente sbagliato è avere eseguito un'analisi sbagliata, anche se non abbiamo personalmente commesso l'errore, perché questo è avvenuto al momento del prelievo, lontano da noi. Il laboratorio è responsabile anche delle modalità di inserimento su sistema informatico e dell'esecuzione dei prelievi.

L'identificazione del paziente è il momento fondamentale dell'analisi. Al paziente non deve essere chiesto: "Lei si chiama Giovanni Pascoli?", perché probabilmente risponde positivamente anche Ugo Foscolo, e talora Giovanni Mazzini, sordastro.

Al paziente deve essere chiesto come si chiama e quale sia la sua data di nascita. I dati devono essere paragonati alla richiesta, e solo in quel momento il prelievo può essere eseguito.

Talora il paziente si lamenta di "tutte queste domande", rivoltegli dalla segreteria e dalla sala prelievi, oppure ogni volta dall'infermiere di reparto. Spieghiamogli con tranquillità che quello del prelievo è il momento in cui l'errore è in agguato, e che richiederli il nome è garanzia per lui.

Meglio, chiediamo al paziente di collaborare a verificare che le sue provette siano correttamente etichettate: se il paziente è partecipe di questo momento, l'errore si riduce. Ricordiamo che il prelievo è il momento in cui avviene la massima parte degli errori di identificazione. Lo scambio di provetta in laboratorio fa parte della storia del laboratorio: può sempre avvenire, ma è rarissimo.

Se il paziente non è cosciente, è allora compito del prelevatore accertarsi che l'identificazione sia corretta, anche quando siamo costretti ad utilizzare una sigla perché l'identità è sconosciuta: neonato abbandonato, paziente giunto in coma per incidente o altro.

Il materiale per il prelievo deve essere etichettato al momento del prelievo, meglio immediatamente prima, avendo sotto mano tutto l'occorrente e non altro.

Se le provette vengono etichettate in precedenza, è facile utilizzare provette sbagliate, per la erronea certezza che ci proviene dall'aver tutto pronto.

Sulla richiesta deve essere apposta un'etichetta uguale a quelle utilizzate per le provette: ciò darà a posteriori la certezza che le provette analizzate con quel nome corrispondevano a quella richiesta. E' anche questo un momento fondamentale dell'identificazione del campione. In caso contrario, si perde la certezza della congruenza fra paziente, richiesta, provetta.

Di questa certezza abbiamo bisogno quando, all'interno del laboratorio, ogni provetta perderebbe la sua individualità e riconoscibilità in mezzo alle centinaia o migliaia di altre provette pervenute.

Tutto ciò ha valore per ogni tipo di materiale: la provetta per l'emocromo o per la glicemia, il pezzo biotico per l'esame istologico, la sacca di sangue per la trasfusione. In quest'ultimo caso, anzi, sono due le linee di identificazione a doversi congiungere senza errore: quella del donatore e quella del paziente trasfuso.

La fase preanalitica

La fase preanalitica è una delle più importanti tappe del lavoro di laboratorio. Da essa dipende la buona organizzazione dell'attività.

Anche l'acquisizione della fase preanalitica deve essere disgiunta dalla strumentazione. Gli strumenti evolvono seguendo le più recenti metodologie analitiche. La preanalitica automatizzata evolve secondo sue strade indipendenti.

Esistono numerosi apparecchi in grado di svolgere la fase preanalitica. Essi distribuiscono le provette in diversi rack in funzione della loro destinazione, e alcuni aliquotano il siero, cioè lo suddividono in provette figlie etichettate.

Il grande problema degli strumenti preanalitici è che necessitano di tutte le informazioni di cui necessita il sistema informatico che gestisce il laboratorio. Occorre quindi evitare che questi sistemi siano un doppione del sistema gestionale del laboratorio stesso, e soprattutto evitare che siano questi strumenti ad imporre la loro organizzazione al laboratorio.

Il direttore del laboratorio deve esigere che tali strumenti lavorino secondo la propria idea organizzativa, al fine di non dipendere da una organizzazione preconstituita dalla ditta venditrice.

Se si intende lavorare con l'ottica del flusso continuo, dal prelievo alla refertazione, istituire un'automazione preanalitica può sembrare una tappa impropria: le provette devono infatti essere identificate e depositate in appositi settori dello strumento (un settore per ogni lavorazione del laboratorio).

Tutto ciò costituisce in realtà un rallentamento di 5 - 10 minuti nel flusso di ciascuna provetta. Ciò consente d'altra parte che il 100% delle provette giunga al settore giusto. E' noto a tutti i laboratoristi il tempo sprecato alla ricerca di provette incorrettamente smistate: ciò non avviene utilizzando una preanalitica intelligentemente guidata.

La fase preanalitica può anche essere eseguita manualmente, leggendo il codice a barre di ogni provetta e smistandola al giusto settore. Certamente si impiega personale, e l'errore di smistamento è sempre possibile, ma il tempo

impiegato è uguale a quello richiesto dalla preanalitica automatizzata, anche su un elevato numero di provette.

La migliore automazione preanalitica è quella che porta le provette a fianco del tecnico che dovrà analizzarle. Descriviamo il flusso di tale automazione:

- la provetta viene centrifugata appena arriva, senza attendere di costituire ampi batch (quattro o cinque centrifughe consentono di avviare alla centrifugazione anche la provetta urgente senza attesa)
- in alternativa la centrifuga può essere inserita nel sistema preanalitico automatizzato: ciò ha costi elevati, sono necessarie almeno due centrifughe, si ha un piccolo risparmio di personale ma un allungamento dei tempi
- il sistema preanalitico legge il codice a barre e identifica in quale settore la provetta sia attesa in base alla prenotazione
- un insieme di rotaie e scambi trasporta la provetta a depositari disposti in ogni settore del laboratorio.

Non è semplice costruire un sistema di questo tipo. Ne esistono alcuni in commercio, e costano alcune centinaia di migliaia di euro. Occorre perciò una attenta valutazione economica ed organizzativa.

Per concludere, se si ha la possibilità e la convenienza di acquistare un sistema automatico di gestione della fase preanalitica, è bene acquistarlo separatamente dalla strumentazione, come detto per il sistema informatico. Sistema informatico e preanalitica devono essere la base dell'organizzazione del laboratorio: agli strumenti analitici compete solo la fase analitica.

I rapporti con le ditte fornitrici

Il responsabile di un laboratorio dirige una piccola azienda con un budget variabile da pochi milioni ad alcune decine di milioni di euro, con un numero di dipendenti variabile da dieci a centinaia. Il direttore generale o l'amministratore delegato di una piccola industria fa gli interessi dell'industria stessa e così deve fare il direttore di un laboratorio, sia per quanto riguarda il migliore utilizzo del personale, sia per quanto riguarda la strumentazione e le forniture di materiali diagnostici.

Quando si tratta di struttura pubblica devono ovviamente essere seguite le leggi e le norme riguardanti sia le assunzioni sia le acquisizioni da parte di enti pubblici. Trattando pertanto di danaro pubblico il direttore di un laboratorio deve garantire la massima trasparenza nelle scelte. Trasparenti e privi di interessi personali devono anche essere i rapporti con le ditte fornitrici.

La valutazione degli strumenti, dei reattivi e dei materiali diagnostici deve prescindere da qualunque altra considerazione, che non sia una valutazione della qualità del prodotto e della adattabilità del prodotto offerto rispetto all'organizzazione che si è data al laboratorio.

Ovviamente nelle licitazioni private la componente economica ha un peso che deve essere discusso e concordato con l'amministrazione in relazione al peso dato al giudizio tecnico.

Il laboratorista ha la massima libertà nell'indicare punteggi tecnici di valutazione dei prodotti offerti, purché tale valutazione sia basata su dati obiettivi.

La concorrenza fra fornitori è certamente un fatto che porta ad ottenere il migliore prodotto al minimo costo. Tuttavia dobbiamo sentire la responsabilità di scelte che possono avere pesanti ripercussioni su occupazione e fatturato delle ditte fornitrici di prodotti di laboratorio.

Abbiamo visto negli anni, proprio a seguito del diffondersi delle gare e della maggiore concorrenza fra ditte, fondersi società fra loro in gruppi di sempre maggiori dimensioni, nei quali viene a verificarsi quel fenomeno della ottimizzazione delle risorse umane, che molto sovente vuole dire lasciare a casa dipendenti. E' una responsabilità che il direttore di laboratorio deve avere sempre a mente, e che gli deve imporre assoluta onestà.

La “sudditanza psicologica” che in passato si è certamente verificata deve essere spazzata via per lasciare il campo ad un aperto confronto fra ditte e ad un’assoluta trasparenza di scelte da parte del direttore del laboratorio.

Sovente in passato, per fare fronte a carenze istituzionali della pubblica amministrazione, le ditte insieme alla fornitura hanno offerto anche altri prodotti che nulla hanno a che vedere con la fornitura stessa, quali mobili, tavoli, sedie a norma di legge, aggiornamento professionale. Non esiste, credo, azienda privata in cui la direzione accetti che i suoi dipendenti godano di aggiornamento professionale grazie ai fornitori.

E’ il laboratorista pertanto a dover contrattare con la propria direzione un fondo destinato all’aggiornamento professionale dei dipendenti proprio in virtù del fatto che in tal modo potranno essere ottenute clausole di contratto di fornitura assai migliori, perché svincolate da ogni richiesta non prevista in capitolato.

D’altra parte, ad una assoluta correttezza del responsabile del laboratorio, deve corrispondere correttezza da parte delle ditte nella redazione delle offerte:

- chiara indicazione delle referenze, senza inserirvi laboratori in cui la strumentazione non è più utilizzata,
- giusta segnalazione della produttività della strumentazione, non ricorrendo ad artifici per dimostrare un numero di esami/ora maggiore del reale,
- offerta economica che tenga conto di scadenze dei reattivi, necessità di calibrazioni e così via.

Organizzazione di un Laboratorio

Voglio proporvi qui un esempio reale di quanto vivono quotidianamente i pazienti afferenti a day hospital, oncologici o di altra natura. Conoscendo queste realtà, ed immedesimandoci nelle esigenze del malato, è nostro dovere organizzare l'attività del laboratorio in funzione del miglioramento di tali situazioni.

Si legga dunque questa noiosissima cronistoria immaginando di vivere ciò che quotidianamente vivono i pazienti che si affidano alle nostre cure in ospedale.

La realtà più comune

Il prelievo di sangue viene effettuato alle otto del mattino. Da quel momento, a seguito di un accordo preso tempo prima fra laboratorio e oncologia, si valutano i tempi necessari per ogni fase che deve portare il paziente a casa dopo aver effettuato il ciclo di chemioterapia.

Pareva infatti che le sei ore necessarie per ogni giornata di ciclo fossero eccessive. Si voleva valutare dove fossero risparmiabili tempi morti.

- Ore 8.00. Prelievo.
- Ore 8.15. La provetta e il foglio di richiesta furono presi in carica da personale ausiliario.
- Ore 8.20. Giungono in accettazione del laboratorio circa 150 prelievi dai reparti
- Ore 8.25. Giungono le provette del day hospital, trattate con priorità in laboratorio.
- Ore 8.55. La provetta passa davanti al lettore di codici a barre dello strumento e dopo 60 secondi il risultato dell'emocromo è pronto. Lo strumento segnala allarmi analitici sulla popolazione leucocitaria: 1200 globuli bianchi, possibili elementi immaturi mieloidi, spostamento a sinistra della formula di Arneth.
- Ore 9.05. Il medico di laboratorio osserva il foglio strumentale e richiede ai tecnici l'esecuzione di uno striscio.
- Ore 9.25. Esaminato lo striscio, il medico inserisce sul sistema informatico un commento e valida la risposta.
- Ore 9.25. Il personale ausiliario del day hospital passa in laboratorio per ritirare risposte pronte: non c'è quella del nostro caso.
- Ore 9.30. L'esito viene stampato e reso disponibile per la consegna. Il laborato -

rio, considerato concluso il suo compito ha impiegato 65 minuti per la risposta dal momento del ricevimento del campione.

- Ore 9.45. Il personale ausiliario del day hospital ripassa in laboratorio per ritirare risposte pronte e trova quella di nostro interesse.
- Ore 10.10. Il personale ausiliario, dopo essere passato in radiologia ed in anatomia patologica a ritirare altri referti, rientra in reparto.
- Ore 10.20. L'oncologo, visti tutti i risultati delle analisi eseguite quella mattina, compila la richiesta di chemioterapico da preparare in farmacia.

Analoghi tempi morti si verificano nei successivi passaggi in farmacia per la preparazione dell'antiblastico e per la consegna in day hospital, dove finalmente, abbondantemente passata l'una o le due, il paziente può fare ritorno a casa.

Il tempo totale per l'esecuzione dell'emocromo e suo controllo microscopico e per la preparazione del farmaco è sicuramente inferiore a un'ora. I tempi intermedi, volutamente descritti con eccessiva pedanteria, sono tutti tempi morti, recuperabili, tempi dovuti alla mancanza di un flusso continuo dal momento del prelievo fino all'infusione del farmaco.

Tre ore almeno di tempi morti, in una giornata svoltasi senza particolari interruzioni di lavoro sono certamente eccessive, per chi ogni settimana deve tornare per un ciclo di chemioterapia.

Organizzazione significa trasporto di provette più continuo, reale priorità di esecuzione delle analisi, trasmissione informatizzata di risultati. Tutto ciò può essere ottenuto senza nessun incremento di costi, o con investimenti che rientrano a seguito del miglioramento dell'efficienza. Tutto ciò, in quanto possibile, è umanamente e professionalmente dovuto.

Si tratta semplicemente di guardare il laboratorio con gli occhi del clinico e del paziente, e trarne le dovute conseguenze organizzative.

Come cambiare

L'organizzazione di un laboratorio deve essere meditata, programmata, e messa in atto con lo scopo di raggiungere gli obiettivi già indicati. Si tratta in sostanza di rispondere ai quesiti del clinico e del malato con analisi di laboratorio utili per ciascun caso clinico, facilmente leggibili ed interpretabili, eseguite rispettando criteri di qualità, consegnate in tempo utile per una precoce diagnosi, consegnate al reparto giusto, alla persona giusta ed eventualmente integrate da altri test ritenuti necessari per completare l'iter diagnostico.

Uno dei problemi organizzativi sempre affrontato dai laboratori è quello dell'orario di accesso al laboratorio stesso, l'orario quindi di arrivo dei materiali biologici prelevati ai pazienti ricoverati, e il numero e la tipologia di analisi urgenti richieste.

I due aspetti sono strettamente connessi fra loro: numero e tipologia di analisi urgenti da un lato, orari di accettazione dall'altro. Sovente questo problema è stato risolto dal laboratorio imponendo un orario limite, quale le dieci o le undici del mattino, oltre il quale vengono accettate solamente le analisi urgenti.

La definizione della tipologia di analisi urgenti è talora determinata in sede regionale, in altri casi ogni laboratorio decide per proprio conto in base alla tipologia di esami necessari nell'ospedale, in base alla propria strumentazione e ad altri criteri organizzativi. Alcuni laboratori richiedono una tariffa maggiorata per le analisi urgenti.

Descriviamo ora un tipo di laboratorio in cui il problema delle analisi urgenti è stato superato in tutt'altro modo. L'attuale informatizzazione e le moderne strumentazioni consentono oggi di avere tempi di risposta estremamente brevi, con analisi di ottima qualità per un ampio numero di test, di ematologia, di coagulazione, di chimica clinica allargata alle proteine specifiche qualora tali determinazioni siano state consolidate sullo stesso strumento.

La scelta fra nefelometria e consolidamento delle analisi di proteinologia in chimica clinica deve tenere conto di alcuni aspetti: non tutte le analisi immunologiche sono trasferibili in turbidimetria e quindi su strumentazione di chimica clinica; i tempi di risposta della chimica clinica, aggiungendo i dosaggi proteici, vengono allungati; per contro si ha un possibile risparmio di personale.

Farsi carico dei problemi

Il laboratorio deve farsi carico in proprio dei problemi organizzativi volti ad affrontare e risolvere positivamente le esigenze dei reparti. Il fatto quindi che i reparti inviino al laboratorio un elevato numero di esami urgenti è un problema che il laboratorio deve risolvere, eventualmente modificando la propria organizzazione. Non è un problema dei reparti.

Il laboratorio deve eseguire le analisi routinarie e quelle urgenti con gli stessi tecnici, sulla stessa strumentazione, con analoghi tempi di risposta.

Sappiamo bene che i tempi di risposta della moderna strumentazione sono oramai, dal punto di vista analitico, di pochissimi minuti.

Le tre, quattro o sei ore necessarie ad alcuni laboratori per refertare le analisi di routine dipendono esclusivamente dal fatto che le analisi di routine non vengono eseguite immediatamente e che i relativi risultati vengono poi stampati in blocco a distanza di tempo dal momento dell'esecuzione.

Ogni batch, cioè ogni fase di lavorazione raggruppata, fa sì che si allungino a dismisura i tempi di risposta. Nel laboratorio ospedaliero, ogni campione o ogni gruppo di campioni, nel caso essi arrivino contemporaneamente, può e deve essere immediatamente avviato alla fase di accettazione, alla fase analitica, alla fase di stampa e consegna del referto.

Il migliore batch è costituito dalla singola provetta: cioè non si devono creare artificiosamente batch là dove ciò non sia strettamente necessario: centrifugazione ad esempio.

Tutto ciò deve avvenire nell'arco delle ventiquattro ore senza alcuna interruzione. Sarà quindi la fase analitica e non quella di accettazione a determinare il momento della consegna del risultato.

Alle otto del mattino, come alle tre di notte potrà essere accettata un'analisi che viene eseguita in batch una, due o cinque volte la settimana: in tal caso l'analisi viene accettata, la provetta viene centrifugata, se necessario, e conservata fino al momento dell'esecuzione dell'analisi.

In tal modo inoltre, ampliando molto la gamma delle analisi eseguibili ventiquattro ore su ventiquattro e in tempi rapidi potranno essere eseguite e consegnate analisi di routine e di urgenza ventiquattro ore al giorno con tempi di risposta che possono essere inferiori a un'ora.

La consegna in tempi rapidi di un ampio gruppo di analisi fa sì che il numero delle vere emergenze venga ridotto ai minimi termini, e che il laboratorio non debba più preoccuparsi, in sostanza, se un'analisi richiesta sia urgente o meno, in quanto i tempi di risposta sono comunque di rapidità tale da far fronte a qualunque esigenza clinica.

Le urgenze

Le analisi eseguibili ventiquattro ore su ventiquattro con rapidissimi

tempi di consegna sono, per citarne alcune: emocromo, PT, aPTT, fibrinogeno, antitrombina III, d-dimero, glicemia, creatinina, colesterolo, trigliceridi, transaminasi, CK, CK-MB, mioglobina, troponina, acido urico, LDH, gamma-GT, fosfatasi alcalina, colinesterasi eventualmente con numero di dibucaina, amilasi, lipasi, proteine totali, albumina, sodio, potassio, cloro, calcio, magnesio, ferro, gasanalisi, proteine specifiche, digossina, teofillina, screening delle droghe d'abuso, test di gravidanza, e altre ancora.

Un gruppo di analisi sta divenendo sempre più frequentemente richiesto in urgenza. Si tratta di indagini sierologiche, con due principali scopi:

- escludere la positività per HIV, cytomegalovirus, epatite di pazienti in morte cerebrale dai quali sia possibile espiantare organi;
- dipendenti della sanità che siano andati incontro a contatto con materiale biologico potenzialmente infetto, per valutare se la "fonte" (purchè consenziente) sia sierologicamente positiva: ciò consente di effettuare la PEP (profilassi post-esposizione) solamente nei casi che lo meritino.

Come si vede la possibilità di eseguire in urgenza questo ampio numero di analisi va quasi sempre ben oltre le esigenze cliniche d'urgenza. Si ottiene con ciò anche una riduzione del numero di campioni che pervengono al laboratorio, e che verrebbero altrimenti suddivisi in due diversi invii, da un lato le analisi urgenti, dall'altro le analisi routinarie.

Perché ad esempio impedire che la domenica mattina possa essere eseguito anche un dosaggio di colesterolo e di trigliceridi, che richiederebbe altrimenti per il lunedì mattina un secondo prelievo per il paziente? Il lunedì mattina, con rapidi tempi di risposta, potrà essere eseguito un secondo prelievo nel caso dalle prime analisi eseguite la domenica risultino dati alterati che richiedano ulteriori approfondimenti o conferme.

Grande vantaggio, per il clinico, di una scelta di questo genere è inoltre il fatto che le analisi di routine e urgenti eseguite sulla stessa strumentazione avranno valori fra loro paragonabili grazie al fatto che i metodi analitici sono gli stessi nella mattina del giorno feriale, come nel giorno festivo, come nella notte.

Semplificare e standardizzare

La semplificazione e la standardizzazione del ricevimento dei campioni fa sì che il tecnico di laboratorio, che d'abitudine lavora in un settore non di urgenza, può utilizzare alla domenica mattina, quando è di turno, o nella

notte, la usuale metodologia di inserimento dei campioni. Ne consegue flessibilità nell'impiego del personale, che non deve cambiare l'approccio di accettazione quando viene al settore di urgenza (in realtà urgenza e routine di chimica, di ematologia e di coagulazione) per esigenze estemporanee.

Uno dei più importanti aspetti organizzativi da prendere in considerazione nella gestione del laboratorio è un potente e centralizzato sistema informativo, che sia in ogni momento a conoscenza dello stato di avanzamento dei lavori di ogni singolo campione.

In particolare sta divenendo sempre più chiara l'enorme importanza della fase preanalitica all'interno del laboratorio. Il corretto smistamento, fin dal momento del loro arrivo, di tutti i materiali biologici che giungono in laboratorio è di fondamentale importanza per un corretto svolgimento dei flussi di lavoro in laboratorio.

Provette che arrivano in doppio ad un settore analitico o che non vi arrivano affatto, perché erroneamente indirizzate, costituiscono una delle maggiori perdite di tempo e di risorse all'interno del laboratorio.

D'altra parte occorre lavorare nell'ottica che il laboratorio si faccia carico dei problemi organizzativi propri, e non ribalti queste sue esigenze sui reparti, sui prelevatori, sui punti prelievo.

Perciò il laboratorio dovrà dare poche e chiare informazioni su quali e quante siano le provette necessarie per eseguire un determinato gruppo di analisi, senza pretendere che sia il prelevatore a dover riconoscere in quali e quanti settori analitici è suddiviso il laboratorio oppure quale strumento esegua una determinata analisi.

Le etichette devono essere pertanto stampate al momento della richiesta eseguita dal reparto, in tipo e numero giusto per quella prenotazione. In alternativa, dovranno esistere etichette indistinte per tutte le analisi di un determinato prelievo e dovrà il laboratorio farsi carico per mezzo del suo sistema informatico di riconoscere e suddividere le provette a seconda del loro settore di destinazione.

Ciò potrà avvenire esclusivamente grazie al sistema informatico che riconosca non ciò che sta scritto sull'etichetta che identifica il prelievo, ma che conosca la prenotazione delle analisi. Ad un'etichetta pertanto corrisponde l'identificativo di un singolo episodio di prelievo per un determinato paziente e tutte le etichette relative a quel prelievo potranno essere identiche fra loro.

Il cambiamento di un sistema analitico o di uno strumento non può obbligare il prelevatore a modificare le sue abitudini di prelievo lasciandolo nell'incertezza e nell'alta probabilità di errore. Tutta l'attenzione del prelevatore dovrà essere dedicata alla corretta identificazione del paziente e del campione e ad un'ottima esecuzione del prelievo: è nota la straordinaria importanza di questo momento in cui, più che in altri, occorre guardarsi dall'errore e dallo scambio di identificazione.

Proprio questo, il cosiddetto scambio di provetta, è uno dei punti critici più noti al laboratorista preoccupato che la correttezza dei dati analitici non venga resa inutile da uno scambio di campioni con tutti i gravissimi risvolti diagnostici che ciò comporta.

Con il riconoscimento positivo dei campioni, cioè con la lettura in automatico dei codici a barre che costituiscono l'etichetta dei prelievi, è ormai noto che circa l'80% degli errori di identificazione avvengono al momento del prelievo.

Ecco perché occorre rendere il prelievo il più semplice e privo di problemi possibile affinché l'attenzione sia concentrata sull'identificazione del paziente e del suo campione, oltre che, ovviamente, sull'esecuzione del miglior possibile prelievo per garantire di non nuocere al malato e di ottenere il migliore possibile materiale biologico.

Il flusso del lavoro in laboratorio deve essere dunque un flusso di lavoro continuo, in cui siano ridotti al minimo i batch, cioè i raggruppamenti di azioni. Così, man mano che i prelievi giungono in laboratorio, essi devono essere avviati rapidamente all'accettazione e all'analisi, la validazione non deve conoscere momenti di pausa, la stampa dei risultati deve avvenire in continuo.

La centrifugazione

Una fase del ciclo analitico del laboratorio è obbligatoriamente eseguita in batch: la centrifugazione. La tecnologia sta avanzando nel tentativo di superare questo collo di bottiglia per ogni laboratorio:

- esistono piccoli strumenti che portano al letto del malato la centrifugazione assiale di ogni provetta appena prelevata,
- altri strumenti consentono la sostituzione della centrifugazione con alternarsi di pressioni che separano la parte corpuscolata da quella liquida,

- si può prevedere che nel prossimo futuro alcuni strumenti possano analizzare il sangue intero anziché siero o plasma, come già avviene su piccoli apparecchi adatti ad eseguire analisi al letto del paziente.

Alcune di queste applicazioni sono già esistenti, talora automatizzate su strumenti analitici, ma non hanno ancora una validazione che ne consenta un ampio utilizzo.

La stampa dei referti

Un ulteriore momento di rallentamento nel flusso del lavoro di laboratorio è la fase di consegna delle analisi. Anche la stampa dei referti deve essere a flusso continuo, ma se i referti giacciono poi in caselle all'interno del laboratorio, anziché essere immediatamente portati al letto del malato, l'utilità del flusso continuo viene vanificata.

Così come il laboratorio deve farsi carico di numerosi altri problemi, anche soddisfare l'esigenza di rapida consegna è compito del laboratorio, in collaborazione con il sistema informativo ospedaliero.

In buona sostanza il personale di reparto non può sapere quando un referto di un'analisi è pronto, e pertanto occorre trovare il modo affinché il referto venga immediatamente consegnato in reparto non appena pronto.

La tecnologia ci aiuta in ciò: il sistema informatico deve stampare a distanza, in reparto, i referti delle analisi relativi a pazienti ambulatoriali.

Ovviamente ciò deve avvenire dopo validazione da parte del laboratorio dei dati stessi e questo deve essere ottenuto ponendo delle griglie di validazione automatica sulla maggior parte delle analisi, affinché il laboratorista debba singolarmente validare soltanto quei test che necessitano di una reale valutazione e validazione tecnica, analitica, clinica.

E' chiaro che la griglia di validazione automatica deve prevedere, con la massima possibile certezza, elevatissima sensibilità per fermare tutti i dati che necessitano di validazione, ed elevatissima specificità per garantire che vengano fermati solo i casi che realmente necessitano di validazione.

Rimane ancora il problema della firma di tali referti: la firma elettronica costituirà la soluzione, ma al momento non esiste ancora un ente certificatore della firma elettronica per indagini sanitarie. Per referti relativi a pazienti

ricoverati dell'ospedale ritengo tuttavia che, con l'avallo della Direzione Sanitaria, sia accettabile la trasmissione di referti non firmati perché validati per via elettronica.

Mi chiedo inoltre se la firma apposta a mano su indagini ambulatoriali sia dovuta per legge, o se si tratti di uno dei numerosi appesantimenti burocratici cui siamo così sovente legati in Italia.

Certamente è indispensabile garantire al paziente ambulatoriale la certezza che le sue analisi siano state clinicamente valutate. Ma la valutazione clinica effettuata su criteri stabiliti a priori è considerata valida per i ricoverati. Ritengo che essa possa essere considerata valida anche per gli ambulatoriali, avviando una forte sburocratizzazione.

La validazione automatica

Un cenno più approfondito meritano le griglie di validazione, che consentono rapidi tempi di consegna dei risultati, ma al tempo stesso devono garantire la corretta esecuzione ed interpretazione delle analisi.

Le griglie di validazione hanno lo scopo di lasciare passare fra le proprie maglie le analisi che non meritino ulteriori commenti o indagini, e di fermare automaticamente per verifica quelle che l'occhio esperto fermerebbe.

E' noto che la firma apposta in calce alle analisi ha il significato di garantire la loro validazione. Ma sappiamo che, dopo avere validato decine o centinaia di analisi, l'attenzione diminuisce. L'errore, inoltre, è sempre possibile nella fretta e nella grande quantità di lavoro da svolgere.

La grande sfida è stabilire a priori quali siano i limiti oltre i quali l'analisi debba essere fermata, e stabilire inoltre quali siano le azioni che ne conseguono, eseguibili anche dai tecnici, sulla base di procedure scritte, almeno per le analisi urgenti.

Scopo di ciò è garantire la stessa sorveglianza e la stessa validazione per le analisi di routine e per quelle urgenti. Queste ultime, altrimenti, sono sottoposte a verifiche assai meno attente e certe.

In sostanza, anziché firmare ogni singola analisi, viene firmata la procedura per la loro validazione.

Con griglie di validazione studiate a tavolino e verificate per mesi, si ottengono i seguenti risultati:

- oltre il 95% delle analisi viene avviato rapidamente alla stampa, ottenendo tempi di risposta di grande efficacia clinica
- per le indagini sierologiche o immunometriche, possono essere automaticamente richieste nuove analisi di approfondimento (reflex test): ad esempio FT3 se il TSH è soppresso, avidità delle IgG anti-toxoplasma in caso di IgM positive, e così via
- le rimanenti analisi ricevono tutta l'attenzione necessaria perché non devono farsi strada fra tutte le altre che non necessitano di ulteriore verifica

Il circolo virtuoso a flusso continuo

Facendo un passo a ritroso, organizzare un laboratorio significa prevedere e predisporre un corretto e rapido invio delle provette. La posta pneumatica, costituita da tubi in cui flussi d'aria sospingono bossoli contenenti provette e richieste (se queste non sono effettuate direttamente in reparto), consente di inviare al laboratorio i campioni nel minore tempo possibile.

Se l'amministrazione dell'Ospedale ha acconsentito ad investire una cifra per la posta pneumatica, è bene che questa venga utilizzata anche dalla Farmacia per l'invio di singole confezioni urgenti di farmaci e dalla Radiologia per l'invio dei referti (qualora non sia presente la trasmissione in rete di immagini digitalizzate).

Accuratamente studiata, la posta pneumatica non emolizza il sangue contenuto nelle provette, e consente enormi risparmi di tempo e migliore utilizzo del personale.

Il laboratorio svolge il suo lavoro a flusso continuo, con tempi di risposta estremamente rapidi, utilizza griglie di validazione, stampa i referti senza interruzioni. Si unisca a ciò una rete informatica che consenta la stampa dei referti direttamente in reparto.

Si è creato in tal modo un circolo che porta il referto al clinico in tempo utile per le esigenze del malato. Se tutto ciò avviene, in laboratorio ci si rende conto che si riducono le telefonate ("E' pronto l'emocromo? Perché non è ancora arrivata la creatinina?"). E le telefonate, è noto, sono fonte di spreco di tempo e di aumentata conflittualità fra laboratorio e reparto.

In conclusione, prevedere e anticipare le esigenze del medico e del malato risolve problemi clinici ed organizzativi. Il medico di reparto deve avere a disposizione le analisi di laboratorio nel momento in cui sente la necessità di avere conferma del suo sospetto diagnostico. Con una preparazione attenta a queste esigenze, ciò è possibile: perché non farlo?

I compiti del Laboratorio

Standardizzare, uniformare e semplificare le procedure ha lo scopo di servire meglio il singolo, consentendo al personale del laboratorio di affrontare con dimestichezza ogni situazione.

Molto sovente il clinico si lamenta del laboratorio, dei suoi tempi di risposta, della difficoltà di rapporti con il personale del laboratorio.

Molto sovente il laboratorio si lamenta dei reparti clinici, dei suoi errori di invio di richieste e provette, della difficoltà di rapporti con il personale di reparto.

Il laboratorio deve farsi carico di tutti gli aspetti organizzativi suoi propri, senza scaricarli sui reparti.

In sostanza, occorre anticipare e soddisfare tutte le esigenze cliniche. Solo allora si potrà dire la propria opinione sugli aspetti diagnostici. E' scorretto esprimere una opinione quando si è criticabili per altri aspetti.

Nessun laboratorio ha diritto di discutere le analisi chieste per il singolo caso: il medico di pronto soccorso ha in mano la salute e la vita del paziente. Non è diritto del laboratorio rendergli difficile il compito discutendo la reale esigenza di eseguire questa o quella analisi.

E' dovere del laboratorio programmare protocolli concordandoli con i medici di pronto soccorso e di reparto: l'adesione dei clinici è d'abitudine piena, e garantisce in ogni occasione che analisi precedentemente concordate vengano eseguite nei tempi utili al clinico.

Non è compito del laboratorio preoccuparsi, per ogni indagine richiesta, se vi siano conseguenze medico-legali. Prima vengono la Medicina ed il Malato, poi viene la medicina legale e le eventuali preoccupazioni che ne derivano.

Compito del laboratorio è burocratizzare l'accesso alle analisi, la loro refertazione, la loro interpretazione. Se la firma di un referto richiede tempi critici per il paziente, le soluzioni sono due: o si sta presenti a firmare ogni analisi giorno e notte, o si garantisce che le analisi abbiano una validazione anche senza la firma apposta con penna e calamaio.

In tempi di intranet e di internet, bisogna lavorare seduti, non correre dietro alla carta.

Compito del laboratorio è economizzare sulla massa di esami svolti, al fine di garantire al singolo paziente che ogni più costoso esame possa essere eseguito senza preoccupazione per garantirgli la migliore diagnosi e la migliore terapia. Un singolo esame di laboratorio può costare 500 euro, un risparmio di 2 euro su 250 mila pazienti porta ad un risparmio di 500 mila euro, e consente mille analisi speciali: questo significa economia di scala.

Non bisogna dunque mai risparmiare sul singolo caso, ma dedicargli tutte le attenzioni e le cure necessarie.

Ancora un dovere ha il laboratorista: paragonarsi, visitando altri laboratori. Il paragone non è mai una diminutio, è un miglioramento delle proprie conoscenze. Anche visitare un laboratorio piccolo, non noto, periferico, costituisce un arricchimento delle proprie capacità professionali. Non ho mai trovato un posto dove non vi fosse qualche cosa da imparare.

Controllo di qualità

Il controllo di qualità analitico ha lo scopo di garantire la accuratezza e la precisione dei dati del laboratorio. Per accuratezza si intende la capacità di fornire un risultato quanto più possibile vicino al valore reale. Viene misurato come inaccuratezza.

Precisione è la capacità di dare risultati che si ripetono costanti nel tempo, ed è quindi sinonimo di ripetibilità. Viene misurato come imprecisione.

Le misure di accuratezza e di precisione vengono eseguite con calcoli statistici e fra i termini più utilizzati in questo campo ricordiamo: deviazione standard (ds) e coefficiente di variazione (CV). A seconda del tipo di indagine, sono ammesse variazioni fino a due o tre deviazioni standard e fino al 2 – 5% se espresse in CV.

Questi indici, forse troppo poco divulgati dal laboratorio, consentono di comprendere l'attendibilità delle analisi di laboratorio. Infatti, tanto maggiori sono le variazioni di un'analisi di laboratorio, tanto minore è il significato diagnostico di uno scostamento di un risultato rispetto ad un precedente valore.

Bisogna tenere conto infatti che la variabilità biologica è piuttosto ampia per alcuni parametri, e il laboratorio deve tendere ad avere una variabilità analitica per ciascun parametro che consenta di riconoscere come certamente significative variazioni di risultati.

Per alcune analisi il coefficiente di variazione della precisione, cioè della ripetibilità, è inferiore all'1%: questo è il caso del volume globulare medio, dell'emoglobina. Coefficienti di variazione inferiori al 2% sono frequenti per analisi chimiche, quali glicemia, colesterolo e così via. Variazioni che superano il 5 e talora il 10% sono tipiche invece delle analisi immunologiche e immunometriche.

Si tenga inoltre presente l'importanza di valutare questi coefficienti di variazione non all'interno della stessa giornata, quando raramente vengono ripetute analisi sullo stesso paziente, ma fra diverse sedute analitiche, cioè fra diverse giornate ed ancor più fra diversi laboratori.

E' pertanto invalsa la necessità, sovente riconosciuta come obbligo da

parte di alcune regioni, di eseguire le VEQ (Verifiche esterne di qualità) che consentono di paragonare i risultati dei laboratori di una stessa regione fra loro.

Un importante problema è quello di stabilire quale sia il valore reale di una sostanza da determinare in un campione biologico. Poiché sovente l'utilizzo del metodo assoluto non è possibile quotidianamente in laboratorio, si ricorre per lo più ad accettare quale valore reale il valore di consenso, cioè il valore medio ottenuto da un insieme di laboratori che utilizzano lo stesso metodo, dopo aver escluso i valori aberranti, cioè quelli chiaramente determinati da errore o da eccessiva variabilità.

E' opportuno che le conoscenze del laboratorista vadano ben oltre i limiti del controllo di qualità interno o della VEQ. La qualità analitica raggiunta dalla massima parte dei laboratori è d'abitudine più che sufficiente per garantire la possibilità di un corretto utilizzo clinico dei risultati di laboratorio.

E' invece fondamentale conoscere la variabilità biologica di ciascun parametro, nonché la sua variabilità preanalitica, cioè in qual modo le condizioni di vita, le terapie, la dieta, le modalità di prelievo possano influire sul risultato di un'analisi.

Per portare un unico esempio, forse estremo, ma certamente significativo, la determinazione del ferro può variare da 20 a 200 microgrammi per decilitro nelle due seguenti estreme situazioni:

- processo infiammatorio, con mancato rilascio di ferro nel sangue da parte dei macrofagi, in individuo con normali depositi di ferro,
- somministrazione esogena di ferro, quale terapia prescritta dal medico o talora quale autosomministrazione in prodotti farmaceutici da banco.

E' evidente che la somministrazione esogena di ferro fa incrementare il ferro ematico, ma deve essere chiaro al laboratorista che la mancata segnalazione di assunzione di ferro è fenomeno molto frequente, e che è forse più importante concentrare la propria attenzione sulla corretta informazione al medico e al paziente di questo fenomeno, piuttosto che preoccuparsi di ridurre da 3 a 2% il coefficiente di variazione analitico della determinazione del ferro.

In conclusione. Accuratezza è la capacità di esprimere un risultato il più possibile vicino al suo valore reale. Viene calcolato ed espresso come inaccuratezza, in deviazioni standard o come coefficiente di variazione.

Precisione è la capacità di esprimere un valore il più possibile ripetibile. Viene calcolato ed espresso come imprecisione in deviazioni standard o come coefficiente di variazione.

Ciascuno, accostandosi al laboratorio, deve imparare a conoscere questi valori, sapersi paragonare ad altri laboratori per verificare che i valori referatati siano paragonabili fra loro, rendersi conto dell'accuratezza e della precisione del proprio laboratorio e lavorare al loro miglioramento.

Fin tanto che ciò sia clinicamente utile.

Ciò significa che oggi un laboratorio adeguatamente automatizzato e con un controllo di qualità adeguatamente seguito ha risultati analitici perfettamente consoni alle esigenze cliniche. Un coefficiente di variazione del 2% per la glicemia e dello 0.7% per l'emoglobina consentono al clinico di verificare variazioni significative di tali valori.

Lavorare sul coefficiente di variazione dell'emoglobina per migliorarlo (se esso è dell'ordine di grandezza dell'1%) significa perdersi in inutili dettagli analitici.

Per assurdo, un miglioramento del coefficiente di variazione dell'emoglobina che costringa ad allungare i tempi di risposta ha scarsissima rilevanza clinica: si rischia di consegnare una perfetta emoglobina ad un paziente che di emoglobina ne ha persa a sufficienza da andare incontro a shock ipovolemico.

In sostanza, ogni attenzione al dato analitico deve sottostare alla reale esigenza clinica.

Un aspetto operativo è assai importante. Il controllo di qualità non serve a molto se non è immediatamente verificato. Guardare a fine giornata i coefficienti di variazione non è azione utile a fermare analisi di una serie fuori controllo. Occorre, prima della stampa dei referti, verificare che il controllo di qualità sia regolare.

Ciò deve essere previsto grazie al sistema informatico, anche se per il momento sappiamo essere molto difficile ottenere un collegamento fra questo ed un sistema esperto di validazione della serie analitica basato sul controllo di qualità.

Certificazione e accreditamento

Lavorare per la certificazione è una scelta, ad eccezione delle Regioni in cui l'accreditamento viene dato solamente alle strutture sanitarie certificate. Ad esempio la Lombardia ha stabilito che le strutture sanitarie certificate sono automaticamente accreditate.

Lavorare secondo le norme dell'accreditamento è un dovere, una necessità. Accreditarne significa infatti, da parte di chi deve garantire l'assistenza sanitaria ai cittadini (cioè le Regioni), riconoscere quali strutture siano in grado di fornire ai cittadini i servizi sanitari necessari.

Ottenere la certificazione, in sé, non rende più bravi né migliori fornitori di servizi. E' un mezzo, utile a chi già è abituato a lavorare badando alla qualità della propria attività. E' un mezzo necessario per alcune finalità:

- convincere tutto il personale a lavorare secondo procedure, non cioè secondo l'inclinazione del momento;
- convincere ciascun dirigente a prendersi le proprie responsabilità, stabilendo quali siano le corrette procedure da seguire per ogni attività;
- avere la coscienza che gli errori (solo chi non fa nulla non sbaglia) servono ad evitare che si ripetano: non interessa, d'abitudine, sapere chi ha sbagliato: serve capire perché si è fatto un errore.

Il responsabile del laboratorio deve considerare come proprio qualunque errore: procedure non ben scritte, personale inserito in attività lavorativa non consona alle sue capacità o caratteristiche, abitudini da modificare, lavorazioni ripetitive che inducono alla disattenzione.

Non è utile dare la colpa agli altri. E' molto più redditizio esigere la segnalazione dell'errore e discutere con il personale come evitare che l'errore si ripeta. Forse ciò richiede un momento di tempo in più.

Il personale, che sente come motivazione del capo il miglioramento e non la recriminazione, è motivato al miglioramento, e lavora certamente meglio rispetto al personale che ha da lamentarsi di un atteggiamento vessatorio, e scarica mentalmente sul capo il suo scontento, la sua sensazione di ingiustizia patita, la "colpa" degli errori.

Una forma di certificazione, quella scelta dalle strutture sanitarie della Regione Piemonte, e quella scelta per l'accreditamento dalla Regione

Lombardia, segue le norme ISO. D'abitudine i laboratori si certificano secondo le norme ISO 9002. Tutta l'attività viene tenuta sotto controllo, ma sarà necessario applicare la norma ISO 15189 per vedere certificata anche la professionalità.

La certificazione porta con sé un notevole giro d'affari. Consulenze, certificatori, enti certificanti: si tratta di lavori con adeguate retribuzioni, ma servono a garantire e rendere trasparenti modalità di lavoro che altrimenti rischiano di essere autereferenziate. Ciò significa che un tempo eravamo abituati a dire: io lavoro bene perché so che lavoro bene, e tanto basti. Oggi devo dimostrarlo, e ciò ha un costo.

Occorre sfatare qualche preconcetto. Gli enti certificatori sono composti da esseri umani, da professionisti della qualità, perfettamente esperti in qualità, appunto, che conoscono assai bene le regole della certificazione e le procedure. Non necessariamente essi sono altrettanto esperti nella diagnostica di laboratorio.

Ciò che comunque rende indispensabile, nella società moderna, partecipare ai programmi di certificazione e di miglioramento della qualità è l'esigenza di rendere conto di ciò che si fa. Un tempo il bravo pilota vinceva le gare ed il bravo chirurgo veniva riconosciuto come tale sulla base della sua fama costruita sui risultati.

Oggi ciò non è più sufficiente. Occorre dimostrare che le metodologie di diagnosi e cura adottate sono quelle corrette e riconosciute dal mondo scientifico mondiale. La evidence based medicine (E.B.M.) esige che noi siamo informati e aggiornati, perché l'esperienza individuale non garantisce più il malato e la sua salute a fronte delle enormi conoscenze acquisite nel mondo su casistiche assai più ampie di quelle personali.

I crediti professionali che occorre guadagnarsi partecipando a momenti di formazione e di aggiornamento divengono la dimostrazione che non abbiamo applicato, immutabili per anni, le nozioni apprese sui banchi di scuola. La società oggi ci richiede di dimostrare la nostra continua formazione e aggiornamento. E ritengo che abbia diritto di pretenderlo, così come noi esigiamo che un servizio, pubblico o privato, da noi acquistato valga ciò che abbiamo investito per ottenerlo.

In appendice vengono riportati stralci del manuale della qualità del Laboratorio dell'Ospedale Santa Croce e Carle di Cuneo. Non si pretende che esso sia perfetto, ma può servire come spunto per avvicinarsi all'argomento.

I metodi analitici

Mi si consenta una semplificazione. La diagnostica di laboratorio si basa su un insieme di poche attività analitiche, variamente miscelate fra loro, che portano a risultati clinici stupefacenti.

Le reazioni chimiche hanno fatto la storia della medicina, e sono oggi solamente utilizzate per molecole poco omogenee (le proteine totali, ad esempio). Queste reazioni sono sempre più di frequente sostituite da analisi con riconoscimento specifico della molecola da dosare: reazioni enzima – substrato, reazioni antigene – anticorpo, separazione elettroforetica o cromatografica.

Le cinetiche enzimatiche consentono di misurare substrati (glucosio, colesterolo, e così via) ed attività enzimatiche (enzimi epatici, cardiaci, e così via).

I metodi di separazione delle molecole (elettroforesi, cromatografia, e derivati) valutano le proteine, gli acidi nucleici, gli enzimi.

I legami fra molecole complementari (reazioni antigene-anticorpo, legami fra un acido nucleico e il suo probe complementare) consentono di verificare la presenza di microrganismi patogeni, di anticorpi contro di essi, di dosare ormoni e vitamine, di diagnosticare fenomeni allergici, di classificare leucemie, di evidenziare mutazioni.

La formazione del coagulo può essere verificata con uno stuzzicadenti immerso nel plasma o con sofisticati strumenti automatici, e consente di diagnosticare la causa di tromboembolismi e di coagulopatie.

Il conteggio delle particelle consente di valutare la crasi ematica.

Le analisi batteriologiche si basano sull'osservazione microscopica con o senza colorazione, e sulla semina su terreni di coltura.

Ma è talora dalla mescolanza dei metodi appena accennati che si ottengono risultati diagnostici di eccellenza. Un isolato da coltura batterica, estratto il DNA, può essere sottoposto a frazionamento per mezzo di un enzima, quindi ad elettroforesi. Il successivo legame con una sonda complementare può essere evidenziato con una reazione enzimatica. Da ciò può derivare la diagnosi di una epidemia di salmonellosi, avendo la certezza che si tratta dello stesso ceppo.

Certamente nella breve descrizione che segue verranno dimenticati alcuni metodi di laboratorio. E' tuttavia il concetto la parte importante, il convincimento che la conoscenza dei metodi di base consente di osservare il laboratorio con professionalità, al fine di trarne quanto di clinicamente utile esso è in grado di offrire.

Reazioni chimiche

Liebermann-Bouchard: i vecchi laboratoristi ricordano il bagno-maria, e l'acido cloridrico che bucò tanti camici e tanti pantaloni per dosare il colesterolo. Oggi le reazioni chimiche sono sempre meno usate in laboratorio, sostituite dalle reazioni enzimatiche, che garantiscono maggiore specificità di reazione. Un tempo venivano dosate le sostanze riducenti, fra le quali la principale è il glucosio. Oggi la glucosio-ossidasi consente di dosare il glucosio in modo estremamente specifico.

Reazioni chimiche vengono tuttora utilizzate in alcuni casi, come per evidenziare gli aminoacidi con ninidrina dopo averli separati con metodo cromatografico.

Spettrofotometria

Fotometria è la lettura dell'assorbimento della luce ad una determinata lunghezza d'onda da parte di un prodotto colorato in modo quantitativo (spettrofotometria se leggiamo a più lunghezze d'onda). Troveremo oltre la descrizione di reazioni enzimatiche che danno luogo alla produzione di un prodotto colorato (o che comunque assorbe luce ad una determinata lunghezza d'onda, compreso l'invisibile ultravioletto).

Il fotometro e lo spettrofotometro sono costituiti da una sorgente di luce, un cammino ottico che attraversa la provetta in cui avviene la reazione, un fotorilevatore che trasforma in impulso elettrico la quantità di luce rilevata. Il tutto è misurabile ad una o a più lunghezze d'onda.

La quantità di luce assorbita è proporzionale alla quantità di prodotto formato nel corso della reazione, con una formula che tiene conto della lunghezza del cammino ottico (cioè di quanto è spessa la provetta), della quantità di siero e di reattivo, e della costante di assorbimento molare della luce della sostanza misurata ad una determinata lunghezza d'onda.

Cinetiche enzimatiche

Un enzima non crea nulla e nulla distrugge: accelera, catalizza reazioni chimiche, e lo fa bene d'abitudine intorno ai 37°C, a pH 7,3, in un certo ambiente acquoso salino e proteico corrispondente ai liquidi biologici dell'organismo umano.

Degli enzimi interessa normalmente sapere se ve ne sono più del normale nel sangue perché qui riversati da tessuti danneggiati o in rapida rigenerazione: il fegato o il miocardio riversano nel sangue enzimi se vi è epatite o infarto, e se a seguito di ciò il tessuto sta rapidamente rigenerando. In altri casi l'attività enzimatica viene determinata per diagnosticare malattie genetiche caratterizzate dall'assenza o mutazione di enzimi (galattosemia, malattia delle urine a sciroppo d'acero, glicogenosi, etc.).

Per determinare una attività enzimatica nel sangue occorre prevedere alcuni aspetti:

- che l'enzima sia messo in grado di funzionare al meglio
- che il suo funzionamento sia misurabile in qualche modo.

Occorre dunque, per misurare un'attività enzimatica, mettere nella miscela di reazione il substrato, quello che l'enzima meglio trasforma (fosfatasi alcalina: parantirofenolo; lattico deidrogenasi: acido lattico, e così via). Il substrato deve essere abbondante, affinché esso non limiti l'attività dell'enzima presente: se manca substrato, poco ne verrà modificato, e la reazione potrebbe falsamente dirci che c'è poco enzima.

Trasformando un substrato, sovente un enzima (una deidrogenasi) utilizza un coenzima (NAD), che viene trasformato in NADH. NAD e NADH hanno diverso assorbimento della luce (sono più o meno "colorati") nell'ultravioletto. La lattico-deidrogenasi trasforma l'acido lattico in piruvico con contemporanea trasformazione NAD-NADH.

Fotometri con lampade e rilevatori a 340 nm vedono il "colore" che l'occhio umano non vede, e ne rilevano le variazioni. Se in un minuto si trasforma "x" quantità di coenzima diremo che di enzima ve ne è "x", se ne viene trasformato "2x" sappiamo che vi è attività enzimatica pari a "2x".

Alle volte più semplicemente il substrato trasformato dall'enzima, o la molecola che si forma a seguito della reazione enzimatica, sono colorati: il parantirofenolo, prodotto dalla fosfatasi alcalina quando questa scinde il parantirofenilfosfato, è colorato in giallo e assorbe la luce a 405 nm.

Misurando nell'unità di tempo quanto colore si forma abbiamo una misura dell'attività della fosfatasi alcalina.

Qualche volta le cose sono un po' più complesse: il substrato non è colorato, il prodotto della reazione nemmeno, e l'enzima non utilizza un coenzima "colorato". In questi casi si utilizzano reazioni enzimatiche accoppiate, cioè si aggiungono alla miscela di reazione altri enzimi che trasformano il prodotto della prima reazione, finché si ottenga una trasformazione leggibile ad una qualche lunghezza d'onda.

Le cinetiche enzimatiche sono inoltre utilizzate in laboratorio per misurare i substrati. Substrati sono tutti i metabolici, dal glucosio al colesterolo, dall'acido urico all'acido lattico.

Il procedimento è sostanzialmente identico a quello descritto. In questo caso, tuttavia, dobbiamo aggiungere alla miscela di reazione tanto enzima da essere certi di potere trasformare (e misurare) tutto il substrato presente.

Prima abbiamo citato la lattico-deidrogenasi e l'acido lattico. Utilizzando la stessa reazione per misurare la quantità di acido lattico presente nel sangue, aggiungiamo lattico-deidrogenasi alla miscela di reazione e diamo tempo all'enzima di trasformare in acido piruvico tutto l'acido lattico presente. La contemporanea modifica NAD-NADH viene letta a 340 nm per darci la misura dell'acido lattico presente.

Talora interessa conoscere se l'enzima è presente, anche se mutato e inattivo per errore genetico: con metodo immunologico può essere verificata e misurata la quantità di enzima - proteina presente in un tessuto: un anticorpo contro l'enzima - proteina ne evidenzia la presenza.

Scopriremo fra poco che nelle reazioni immunometriche il legame di una molecola con un enzima consente di misurare (grazie ad una cinetica enzimatica) concentrazioni di quella molecola anche molto piccole: è questo il caso di ormoni, vitamine, e così via.

Elettroforesi

L'elettroforesi è il più comunemente usato metodo di separazione delle molecole: si può trattare di proteine (e fra queste le emoglobine e gli enzimi e le loro isoforme), di acidi nucleici, di aminoacidi, di zuccheri, e così via.

Altri metodi di separazione verranno descritti poco oltre, e sono la isoelettrofocalizzazione e la cromatografia.

L'elettroforesi può essere effettuata in ambiente liquido (furono i primi esperimenti di Tiselius, oggi non più utilizzati a causa della impossibilità di mantenere isolate le molecole a separazione avvenuta) o su vari mezzi solidi o semisolidi, quali il gel di poliacrilamide, l'agarosio, l'acetato di cellulosa.

Imbevendo il mezzo di supporto in un tampone a pH predefinito, si semina sul mezzo stesso una quantità del materiale in esame (il siero per le proteine, l'emolisato per le emoglobine, etc.). Si applica per un tempo stabilito una corrente elettrica al voltaggio migliore per le molecole da separare.

Le molecole si separano fra loro, migrando verso il loro punto isoelettrico, a velocità diversa l'una dall'altra in base ad alcune caratteristiche: la distanza dal loro punto isoelettrico e quindi il pH del tampone, le dimensioni delle maglie del mezzo di supporto che costituiscono una sorta di setaccio, la concentrazione ionica del tampone, il voltaggio della corrente ed il tempo durante cui essa viene applicata.

Dopo la loro separazione, le molecole vengono colorate con un colorante specifico (rosso Ponceau per le emoglobine e per le proteine, oppure Sudan nero ancora per le proteine, e così via).

L'ispezione visiva di un occhio esperto, o la lettura densitometrica del tracciato elettroforetico completano l'analisi.

La lettura densitometrica consiste nel fare passare le diverse bande di fronte ad una sorgente luminosa, e registrando quanta luce ogni banda assorbe e non trasmette quindi ad un foto-rilevatore. Il risultato viene espresso in percentuale per ciascuna banda.

Con questo metodo si evidenziano alterazioni quali – quantitative:

- delle proteine: riduzione o assenza delle alfa-1-globuline in caso di deficit dell'alfa-1-antitripsina, incremento delle alfa-2-globuline in corso di infiammazione acuta, componenti monoclonali
- delle emoglobine: aumento della HbA2 nell'eterozigosi di beta-talassemia, presenza di banda HbS nell'anemia falciforme
- presenza di tratti di DNA di lunghezza anomala in caso di mutazioni su base genetica o oncologica.

Isoelettrofocalizzazione

L'isoelettrofocalizzazione è una elettroforesi effettuata su un mezzo di supporto preparato, nel senso che in esso si è creato un gradiente di pH da un capo all'altro grazie alla pre-migrazione di anfoline a diversi pH.

In questo caso non importa la rapidità di migrazione delle molecole nel mezzo di supporto quando sottoposte ad un campo elettrico, ma il raggiungimento da parte di ogni molecola del pH corrispondente al suo punto isoelettroforico.

Si creano così numerosissime bande la cui interpretazione richiede una precisa conoscenza di ciò che si deve ricercare.

L'isoelettrofocalizzazione viene d'abitudine impiegata per individuare varianti genetiche di proteine, enzimi, emoglobina, e così via, oppure per ricercare la presenza di bande oligoclonali nel liquor per la diagnosi di sclerosi multipla.

Cromatografia

La più semplice forma di cromatografia è la seguente: si immerga un foglio di carta asciugante in un bocchetto di inchiostro, e si vedrà sulla superficie della carta la separazione delle diverse componenti colorate che costituiscono l'inchiostro.

Come nell'elettroforesi, abbiamo un mezzo di supporto, un materiale in esame, una pressione esercitata da gas (gascromatografia) o da liquidi (cromatografia liquida) che spingono le molecole lungo il percorso di un tubo capillare.

Altre e più evolute forme di cromatografia sono:

- la cromatografia a scambio ionico, in cui il mezzo, attraverso cui migrano le molecole, le trattiene o le lascia fluire a diversa velocità a seconda degli scambi di ioni fra il mezzo stesso e le molecole in esame
- la gascromatografia, con cui steroidi o acido organici vengono sospinti a diversa velocità in una colonna in fase gassosa
- la HPLC (cromatografia liquida ad alta pressione), utilizzata oggi per numerose analisi di aminoacidi, farmaci, droghe, emoglobine.

Il principio comune dei metodi cromatografici è la diversa velocità con

cui le molecole giungono all'estremo della corsa. Sarà la velocità di uscita (o di ritenzione) a fare riconoscere le molecole le une dalle altre, rilevandone la presenza con sistemi fotometrici, elettrochimici, o mediante colorazione e visualizzazione o densitometria, o infine mediante spettrometria di massa.

Metodi immunologici

I metodi immunologici consistono nell'utilizzo in vitro delle reazioni antigene-anticorpo (Ag-Ab). Questi metodi possono essere utilizzati sia per evidenziare la presenza di antigeni, sia per evidenziare la presenza di anticorpi. L'avvento della tecnologia degli anticorpi monoclonali, cioè di anticorpi monospecifici prodotti in laboratorio da parte di cellule perenni (perché mielomatose) prelevate da animali immunizzati, ha consentito enormi sviluppi nelle applicazioni immunologiche della diagnostica di laboratorio rispetto alla precedente disponibilità di sieri immuni, prodotti da animali vivi immunizzati, in cui la concentrazione, la sensibilità, la specificità degli anticorpi subivano notevoli variazioni da lotto a lotto. Fra i metodi immunologici ricordiamo:

- **Immunofluorescenza diretta:** la ricerca di un antigene in un materiale biologico può essere effettuata aggiungendo in vitro un anticorpo legato ad una molecola di fluorosceina: le applicazioni sono, fra le altre, la ricerca microscopica della clamidia su secreto uretrale o cervicale, la ricerca di antigeni di superficie per riconoscere sottopopolazioni leucocitarie o linfocitarie, l'evidenziazione di depositi glomerulari di immunoglobuline o di frazioni del complemento per la diagnosi istologica di glomerulonefrite, e così via.
- **Immunofluorescenza indiretta:** la presenza nel siero in esame di anticorpi contro microrganismi può essere messa in evidenza utilizzando microrganismi posti su vetrino, cimentati con il siero in esame cui in seguito si applica un anticorpo antiimmunoglobuline umane legato a fluoresceina. La presenza della catena: *microrganismo con i suoi antigeni - anticorpo in esame - anticorpo antiimmunoglobulina umana fluorescente* è messa in evidenza dalla evidenziazione microscopica della fluorescenza stessa adesa al microrganismo.
- **L'agglutinazione** consiste nella formazione di complessi macroscopicamente o microscopicamente visibili fra antigeni e anticorpo legati fra loro; viene utilizzata per la ricerca di anticorpi, per l'esecuzione di gruppi sanguigni, del test di Coombs e così via. L'agglutinazione può essere resa possibile o più evidente dall'assorbimento di antigeni o di anticorpi sulla superficie di emazie (emoagglutinazione) o di microsfeere di lattice.

- **Precipitazione:** si è già accennato a questa metodica nel caso dell'immunolettroforesi e dell'immunofissazione. Si tratta della formazione di complessi antigene-anticorpo che precipitano in mezzi semisolidi rendendosi visibili come zone in cui il mezzo stesso diviene opaco e può essere eventualmente colorato. Uno dei mezzi più utilizzati in questo campo fu l'immunodiffusione radiale semplice di Mancini, Heremans e Carbonara, che per anni ha costituito la base per il dosaggio di numerose proteine specifiche (a partire dalle tre classi immunoglobuliniche) nei laboratori mondiali. L'alone di precipitazione intorno al pozzetto di semina del campione in esame in un mezzo contenente anticorpi specifici è proporzionale alla concentrazione della proteina contro la quale gli anticorpi sono rivolti.
- **Turbidimetria e nefelometria** hanno sostituito quasi completamente l'immunodiffusione radiale semplice consentendo di automatizzare e meglio standardizzare i risultati delle reazioni antigene-anticorpo, che avvengono in questo caso in fase liquida su apposita strumentazione, e vengono riconosciute con rilevazione fotometrica dell'aumento delle torbidità (turbidimetria) o dall'aumento della diffrazione della luce causato dalle dimensioni delle molecole antigene-anticorpo (nefelometria).

Immunometria

Si intendono con questo termine reazioni di laboratorio, basate sull'interazione antigene – anticorpo, inizialmente nate con la sostituzione in una molecola di un atomo con il suo isotopo radioattivo. La molecola era d'abitudine costituita da un anticorpo, ma poteva essere costituita anche da un antigene, o (nelle prime applicazioni) da una proteina legante.

La misurazione delle molecole in esame deriva dalla competizione, in vitro e per lo stesso anticorpo, fra un antigene marcato a concentrazione nota e l'identico antigene, costituito dalla molecola in esame.

In sostanza, detto Ag la molecola da dosare, aggiunto Ag* (marchato) e Ab, se vi è molto Ag nel campione in esame, poco Ag* potrà legarsi ad Ab. Occorre a questo punto separare i complessi Ag-Ab (marchati e no) dalle molecole rimaste libere.

La separazione fra i complessi immuni formati dalla reazione antigene-anticorpo da un lato e gli antigeni e gli anticorpi liberi, cioè non legati, dall'altra, seguita dalla misura della radioattività in una di queste frazioni, paragonata ad una curva di taratura, consente di valutare concentrazioni estre-

mamente piccole di molecole, quali ormoni, vitamine, marcatori tumorali, e così via.

La caratteristica di questo tipo di reazione è la capacità di mettere in evidenza e di valutare concentrazioni dell'ordine dei nanogrammi per millilitro. Questo tipo di indagine si chiama radioimmunologica (RIA, o radioimmunoassay). La rilevazione della reazione avviene per mezzo di strumenti gamma o beta rilevatori, che sono contatori di emissioni gamma (in fase solida, con cristalli) o beta (liquido - liquido).

L'evoluzione di questa tecnologia ha portato a legare ora ad antigeni, ora ad anticorpi molecole fluorescenti, o enzimi. In questo caso non la radioattività, ma la misura della fluorescenza (fluorimetria) o la valutazione colorimetrica della trasformazione di un substrato da parte dell'enzima consentono di valutare quantitativamente ormoni, marcatori tumorali, vitamine, e così via analogamente al RIA. Il nome di questa tecnologia è enzyme immuno assay (EIA), con tutte le sue numerose varianti metodologiche.

Osmometria

L'osmometria è un tipo di analisi che verifica la concentrazione osmotica di un liquido biologico. Fra i vari metodi di rilevazione, il più semplice è costituito dal punto di congelamento, che varia con la concentrazione dei soluti. Per fare un banale esempio, l'acqua salata o zuccherata ha un punto di congelamento diverso dall'acqua distillata (0°C), tanto che ghiaccia a temperatura assai inferiore allo zero. La rilevazione della temperatura di congelamento consente di risalire alla concentrazione osmolare.

Spettrometria di massa

Una fonte di energia frammenta e ionizza le molecole, rendendole quindi riconoscibili fra loro. D'abitudine la spettrometria di massa è il secondo rilevatore di un precedente metodo di separazione delle molecole, quale la cromatografia. Viene utilizzato per ricerca di farmaci e sostanza dopanti, o per evidenziare particolari molecole quali quelle che si accumulano in alcuni errori congeniti del metabolismo (acidi organici).

Coagulazione

I test coagulativi, volti a mettere in evidenza deficit o eccessi della casca-

ta coagulativa vengono eseguiti su sangue o su plasma reso incoagulabile. L'aggiunta di vari fattori favorenti la coagulazione e la misurazione del tempo dell'avvenuta formazione del coagulo danno luogo a risultati che valutano la normalità o meno dei fenomeni coagulativi.

In realtà questo è uno studio parziale di tutti i fenomeni coagulativi, in quanto non viene analizzata la fase vasale né la fase piastrinica. Le piastrine possono essere analizzate nel loro numero totale insieme all'emocromo, e nelle loro funzione con alcuni test specifici.

L'insieme delle fasi vasale, piastrinica e coagulativa può essere studiata mediante il tempo di sanguinamento in vivo, test estremamente semplice e forse oggi sottovalutato e sottoutilizzato. Si tratta sostanzialmente, con varia metodica, di provocare una piccola ferita cutanea standardizzata e valutare il tempo entro il quale avviene il blocco dell'emorragia. Questo semplice test può mettere in evidenza numerosi difetti coagulativi.

I test di coagulazione eseguiti su plasma e talora su sangue intero (tempo di protrombina, tempo di tromboplastina parziale attivata, fibrinogeno, dosaggio dell'antitrombina III) vengono eseguiti, come si diceva, favorendo la formazione del coagulo in condizioni standardizzate a seguito dell'aggiunta di idonei reattivi. L'avvenuta formazione del coagulo viene verificata con metodo ottico o con altri mezzi che valutano l'avvenuta formazione del coagulo per mezzo dello studio o dell'aumentata torpidità, o viscosità, o della diminuita mobilità del plasma in un tubo capillare.

Le analisi coagulative consentono di valutare:

- la normalità della funzione coagulativa in caso di intervento chirurgico
- la normalità della funzione epatica, poiché molti fattori della coagulazione vengono prodotti dal fegato
- la presenza di deficit coagulativi congeniti o acquisiti
- la grave coagulazione vascolare disseminata (CID o DIC)
- l'efficacia della terapia anticoagulante orale o eparinica, utilizzata per evitare fenomeni trombotici.

Contaglobuli

I contaglobuli sono strumenti che hanno essenzialmente due funzioni: la valutazione della quantità di emoglobina presente nei globuli rossi e il conteggio delle cellule del sangue. La valutazione dell'emoglobina viene effettuata trasformando questa con una reazione chimica in ciannetaemoglobina

e misurandone l'assorbimento con metodo colorimetrico a 540 nanometri. Il metodo di conteggio delle cellule del sangue segue sostanzialmente uno dei due seguenti principi:

- Misurazione foto-ottica: le cellule del sangue, opportunamente diluite, vengono fatte passare davanti ad un fascio di luce, il quale viene interrotto dal passaggio di ogni cellula. La valutazione del volume e altre caratteristiche vengono effettuate in base alla diffrazione della luce.
- Metodo impedenziometrico: le cellule del sangue, anche qui opportunamente diluite, vengono fatte passare dall'esterno all'interno di un tubo attraverso un foro di dimensioni appropriate; l'applicazione di una corrente elettrica fra l'interno e l'esterno del tubo fa sì che ad ogni passaggio di cellula si abbia una variazione della differenza di potenziale, proporzionale al volume cellulare.

Queste metodologie analitiche consentono di valutare su diversi canali il numero dei globuli bianchi, il numero dei globuli rossi, il numero delle piastrine, i loro volumi, la dispersione dei volumi intorno alla media, e cioè l'anisocitosi, e consentono inoltre di fare una prima differenziazione dei vari tipi di leucociti presenti nel sangue.

La formula leucocitaria strumentale viene ottenuta dai vari strumenti con diversi tipi di valutazioni ottiche, impedenziometriche, enzimatiche, basate sulla rifrazione di luce monocromatica, prima o dopo avere spogliato il nucleo del citoplasma. Si tratta comunque di tecnologie estremamente sofisticate, che hanno dato luogo a nuove conoscenze e a miglioramenti diagnostici di rilievo.

La citometria a flusso, cioè l'analisi delle cellule mentre passano davanti a un sistema di rilevazione, ha conosciuto ulteriori sviluppi diagnostici con l'applicazione della tecnologia degli anticorpi monoclonali, legati a fluoresceina, rivolti contro antigeni di superficie dei leucociti.

Linfociti T e B nei vari stadi di maturazione, granulociti, cellule normali e tumorali esprimono sulla loro superficie antigeni specifici del loro stadio maturativo. E' così possibile analizzare le sottopopolazioni linfocitarie e le varie popolazioni di cellule anche fortemente immature, per differenziare fra loro le varie forme di leucemia, o per diagnosticare deficit immunitari.

Questa tecnologia, unita ad un meccanismo che consenta di raccogliere le cellule a seconda della loro positività ad uno o più degli antigeni di superficie, ha dato luogo al sorter, che recupera le cellule dopo l'analisi e le rende disponibili per ulteriori indagini.

VES

La velocità di eritrosedimentazione, cioè la rapidità con cui le emazie sedimentano, è un indice del tutto aspecifico di infiammazione. Varie proteine (gamma-globuline, fibrinogeno, alfa2-macroglobuline) formano ponti fra le emazie, che in tal modo si legano fra loro formando *rouleaux* e sedimentando quindi più rapidamente.

E' l'analisi più semplice e meno costosa di un laboratorio.

Il metodo (oggi automatizzabile) può essere eseguito lasciando sedimentare le emazie in una pipetta stretta e lunga appositamente calibrata, e leggendo dopo un'ora la distanza in millimetri fra la superficie superiore della colonna di sangue ed il menisco superiore delle emazie in via di sedimentazione.

Analisi batteriologiche

La batteriologia usa a scopo diagnostico numerose metodologie analitiche. La ricerca diretta del microrganismo o di suoi antigeni può avvenire per mezzo di:

- Coltivazione, su appositi terreni nutritizi, dei microrganismi.
- Colorazione (quali blu di metilene, Gram, Ziehl-Nielsen) per evidenziare microscopicamente le cellule, i parassiti, i batteri presenti direttamente nel materiale biologico o dopo crescita dei batteri su piastra, come vedremo fra poco.
- Ricerca di antigeni con metodi immunologici analoghi a quelli descritti in precedenza: immunofluorescenza diretta microscopica, agglutinazione, metodi immuno-enzimatici.
- Analisi degli acidi nucleici, su materiale biologico o dopo coltura.

La maggior parte delle analisi batteriologiche si basa sulla semina del materiale biologico in esame su speciali terreni di coltura, liquidi o solidi: brodi o gel arricchiti di sostanze nutritizie tipiche per ogni batterio. L'identificazione degli eventuali batteri presenti avviene verificando su quale tipo di terreno il batterio sia cresciuto, la forma e la dimensione delle colonie, la eventuale presenza di emolisi, l'utilizzo degli zuccheri.

Seguono poi prove immunologiche per lo più di agglutinazione, e prove biochimiche volte a studiare il metabolismo del batterio. Così ad esempio l'u-

tilizzo di glucosio, lattosio o altri zuccheri, o la trasformazione di substrati è resa evidente dalla trasformazione in colore di dieci o venti pozzetti contenenti terreni di coltura differenti e particolari. La trasformazione del colore è dovuta, ad esempio, a variazione del pH per fermentazione dello zucchero in esame.

Sia direttamente da materiale biologico, sia da colonie cresciute sui terreni di coltura possono essere utilizzati metodi di biologia molecolare per identificare le sequenze degli acidi nucleici tipiche di ogni batterio.

Questi metodi sono particolarmente importanti quando si voglia studiare un sospetto episodio epidemico al fine di valutare se tutti i batteri isolati dagli individui affetti, ad esempio, da salmonellosi siano appartenenti allo stesso ceppo. L'appartenenza allo stesso ceppo, dimostrata con metodi di biologia molecolare, dimostra che ci si trova di fronte ad un episodio epidemico.

All'identificazione del batterio si aggiunge l'antibiogramma, che consente di valutare la sensibilità del batterio stesso ai diversi antibiotici. Questo metodo analitico consiste nel consentire al batterio la crescita seminandolo in un terreno di coltura adatto, ma aggiungendo al terreno di coltura stesso antibiotici in diversa concentrazione. La crescita del batterio ad una determinata concentrazione di ciascun antibiotico indica la resistenza del batterio all'antibiotico stesso; la mancata crescita indica invece la sensibilità dell'antibiotico e la concentrazione ottimale di azione dell'antibiotico.

Si tratta di un ottimo mezzo diagnostico, che applicato alla clinica consente l'utilizzo del miglior antibiotico alla miglior possibile posologia.

Un buon esame batteriologico inizia con un buon prelievo accompagnato da notizie cliniche esaurienti. Le notizie cliniche sono indispensabili per ricercare il germe più probabilmente in causa nella patologia in esame. Il buon prelievo deve consentire di raccogliere il materiale biologico più significativo per aumentare le possibilità di isolare il batterio causa di infezione; il prelievo non deve raccogliere materiali biologici confinanti con quello in esame, nel quale sovente i batteri sono presenti in numero e tipo assai vario.

Così ad esempio un esame batteriologico delle urine deve essere rappresentato di urine di sicura origine vescicale, eliminando i primi millilitri di urina emessi, dopo aver lavato accuratamente i genitali esterni, affinché non crescano, e non vengano quindi ritenuti causa di patologia, germi comunemente presenti nell'uretra, particolarmente frequenti in prossimità del meato uretrale esterno.

Il batteriologo infatti mette in condizione di crescere tutti i germi presenti nel materiale in esame, e non sempre è in grado di distinguere se i germi presenti rappresentino realmente la causa dell'infezione o siano invece dei germi inquinanti, provenienti da contaminazione del prelievo. Sta alla capacità del laboratorista discriminare queste due situazioni, dalla presenza di alcuni segni collaterali, quali la presenza di cellule di sfaldamento in alcuni tipi di materiali che limitano enormemente il significato diagnostico del campione in esame. Le cellule di sfaldamento infatti indicano che il campione è stato inquinato da batteri presenti nelle basse vie escrettrici, in cui la flora batterica è normalmente abbondante.

E' estremamente importante accettare i campioni a qualunque ora della giornata tenuto conto dell'unicità del momento del prelievo per l'esame batteriologico, che deve precedere, ove possibile, l'inizio della terapia antibiotica, la quale sovente non può essere dilazionata, pena il peggiorare della situazione clinica del soggetto. Esistono mezzi di trasporto che consentono la conservazione del prelievo per qualche ora, ma occorre certamente avere un'ampia flessibilità nell'accettazione e nell'avvio all'analisi di questi campioni.

Ricordiamo, infine, l'emocoltura, mezzo diagnostico fra i più importanti della microbiologia. Molti processi infettivi hanno almeno un periodo di batteriemia: polmoniti, prostatiti (dopo massaggio prostatico), ascessi profondi, e così via. La scelta del migliore momento per il prelievo deve essere concordata fra clinico e laboratorio al fine di non perdere la preziosa informazione derivante dall'emocoltura.

Non dissimili dalle indagini batteriologiche sono quelle parassitologiche. In realtà la massima parte delle ricerche viene eseguita al microscopio, con o senza colorazione, con o senza arricchimento, al fine di rendere più sensibile la ricerca.

I materiali variano a seconda dei parassiti interessati, e sono costituiti prevalentemente dal sangue (plasmodio), dalle feci (giardia, tenia, altri elminti intestinali e loro uova), dal preparato istologico (giardia).

Metodi microscopici e colturali utilizza la diagnostica micologica. Talora questi metodi sono troppo poco sensibili, specialmente di fronte alle gravissimi micosi profonde (candidosi, aspergilloso) in pazienti sottoposti a chemioterapia aggressiva. In questi casi viene utilizzata la ricerca nel sangue dell'antigene di candida o di aspergillo, con agglutinazione o metodo immunoenzimatico, o ancora dell'acido nucleico mediante tecniche di ibridazione molecolare.

Virologia

La ricerca diretta o colturale di virus viene d'abitudine effettuata in centri specializzati. La diagnostica virologica può essere attuata coltivando i virus su cellule, o ricercando l'acido nucleico con metodi di biologia molecolare. Inoltre, è frequente il caso di virus annidati in organi di difficile aggressione per il prelievo (fegato, linfonodi, etc.)

Più frequentemente pertanto si ricorre all'indagine sierologia, volta a mettere in evidenza la presenza di anticorpi rivolti contro il virus sospettato quale causa di malattia. Il titolo anticorpale elevato, e la presenza di IgM sono indici (seppure non univoci) di contagio recente o di recente vaccinazione.

Sierologia

Quando non sia possibile, per varie ragioni, prelevare, isolare, identificare il microorganismo sospettato come causa di malattia, è opportuno ricorrere alla diagnosi sierologia, cioè alla ricerca nel sangue di anticorpi contro quel microorganismo.

Non essendo possibile prelevare uno streptococco beta-emolitico da un granuloma gengivale, il titolo antistreptolisinico consente di verificare la presenza di anticorpi contro il batterio sospetto.

Non essendo possibile isolare un treponema da una lesione granulomatosa di un organo interno, la ricerca dello specifico anticorpo dà informazioni diagnostiche.

Essendo assai lenta la crescita della Brucella, in caso di sospetto clinico è bene eseguire un'indagine sierologia oltre ad un prelievo per emocoltura.

Le indagini virali sono molto sovente ricerche anticorpali, considerate le difficoltà o l'impossibilità di isolare il virus (varicella, epatite B o C, HIV, e così via). In alcune malattie virali, peraltro anche fra quelle citate, è possibile trovare nel sangue il virus stesso o un suo antigene, a dimostrare la fase di viremia.

La sierologia ha i suoi segreti ed i suoi rischi. Nell'interpretazione di un dato anticorpale occorre ricordare che presenza di anticorpo significa progresso contatto con l'agente infettivo e non necessariamente malattia in atto. Inoltre, il singolo risultato fotografa la situazione di oggi, mentre occorrono

prelievi a distanza di giorni o di settimane per dimostrare il movimento anticorpale, cioè il fatto che la risposta immunitaria è in corso a causa della presenza dell'agente infettante.

Un singolo titolo anticorpale elevato è raramente sufficiente a diagnosticare un'affezione in corso. La determinazione delle IgM o delle IgA viene in aiuto, essendo noto che queste sono le prime immunoglobuline ad essere prodotte, seguite poi dalle IgG. Sono presenti tuttavia reazioni aspecifiche, che possono dare risultati falsamente positivi, e solamente la cautela e l'esperienza nell'interpretazione possono indirizzare il giudizio diagnostico.

Biologia molecolare

L'analisi degli acidi nucleici può essere eseguita con diverse modalità, che rappresentano la storia di questa tecnologia. In pochi anni essa ha consentito di scoprire la base molecolare di un gran numero di malattie e ha oggi numerose applicazioni diagnostiche.

Enzimi di restrizione, cioè enzimi che riconoscono precise sequenze nucleotidiche tagliano tratti di DNA o di RNA ogni volta che trovano la sequenza nucleotidica specifica.

Sottoporre quindi ad elettroforesi i tratti di DNA così tagliati consente di riconoscerne la lunghezza e da qui individuare se mutazioni abbiano colpito alcune di queste sequenze, o geni vicini a tali sequenze.

Sequenziare e costruire in laboratorio tratti di DNA complementari a quello che si vuole mettere in evidenza, e marcare queste sequenze con isotopi radioattivi o con enzimi, consente di riconoscere specifiche sequenze di acidi nucleici.

Questa metodologia, molto semplificata nella descrizione, è oggi applicata ad un elevato numero di indagini diagnostiche:

- La presenza di batteri, di virus, di miceti, di parassiti può essere identificata direttamente su materiali biologici o dopo coltivazione.
- Quantificare la presenza di virus HIV, HCV o altri nel sangue per verificare la risposta alla terapia antivirale.
- La presenza di mutazioni che causano malattie genetiche può essere evidenziata allo stato eterozigote in una coppia a rischio, o durante la gravidanza prelevando liquido amniotico o villi coriali per la diagnosi prenatale.

- Sequenze specifiche di alcuni tipi di tumori, leucemie, linfomi consentono di identificare la presenza anche in minima quantità di cellule tumorali (malattia minima residua).

Al fine di aumentare la sensibilità del metodo, queste indagini sono d'abitudine precedute dalla PCR (polymerase chain reaction). Questo metodo consente di amplificare, cioè di moltiplicare, il numero dei tratti di acido nucleico in esame al fine di poter studiare materiali biologici che ne contengano minime quantità.

Le analisi microscopiche

Il laboratorio utilizza il microscopio come fondamentale arma diagnostica. Il microscopio è uno dei più antichi strumenti, e consente ancora oggi importantissimi momenti analitici.

Ricordiamo brevemente alcune delle applicazioni della microscopia:

- Analisi della formula leucocitaria
- Analisi del sedimento urinario
- Analisi del liquido cefalo-rachidiano
- Ricerca di parassiti ematici (plasmodio soprattutto)
- Ricerca di parassiti fecali
- Analisi del liquido seminale per valutazione dell'infertilità maschile e di coppia
- Analisi di liquidi biologici di varia natura: pus, liquido sinoviale, liquido peritoneale, etc., con o senza colorazioni
- Riconoscimento microscopico di miceti e batteri, da materiale biologico o da colonia, dopo colorazioni specifiche (Gram, Ziehl Neelsen, etc.)
- Valutazione della crescita di colture cellulari
- Diagnosi istologiche e citologiche
- Identificazione di cellule rese fluorescenti da specifici anticorpi monoclonali che ne riconoscono antigeni di superficie per diagnosi di tumore, linfoma, leucemia
- Analisi morfometriche, anche automatizzate, che valutano le dimensioni di cellule o di strutture anatomiche (tubuli seminiferi, etc.)
- Identificazione di batteri o parassiti con anticorpi fluorescenti
- Identificazione di anticorpi sierici contro batteri, parassiti, utilizzando un secondo anticorpo fluorescente anti-immunoglobuline umane.

Il Laboratorio e l'ematologia

Una delle branche del laboratorio in cui la tecnologia ha fatto negli anni enormi progressi nel garantire l'efficacia diagnostica è certamente l'ematologia. Fu nel 1932 che Wintrobe propose la classificazione delle anemie basata sul volume globulare medio e sul contenuto di emoglobina delle emazie. In realtà a quel tempo ottenere il dato numerico del volume globulare e del contenuto di emoglobina dipendeva dalla dedizione del medico a fare impegnative analisi e numerosi calcoli.

Fu nei decenni successivi che, inizialmente grazie ai due fratelli Coulter, vennero prodotti e commercializzati strumenti che negli anni 1960-70 iniziarono ad abitare i laboratori. Questi strumenti ed altri simili di altre ditte produttrici erano in grado automaticamente e per ogni campione di fornire ogni 30-60 secondi numerosi dati che fino a quel momento erano conoscenza esclusiva dello specialista ematologo: volume globulare medio, contenuto medio di emoglobina, concentrazione emoglobinica media, numero delle piastrine.

La classificazione delle anemie di Wintrobe, tuttora valida, venne così resa disponibile per la diagnostica ematologica quotidiana anche da parte del medico di base, o comunque di tutti gli altri medici anche non specialisti in ematologia. Venivano rese in tal modo numeriche informazioni fino a quel momento esclusivamente qualitative: la ipocromia, la ipercromia, la microcitosi, la macrocitosi.

Una felice intuizione, intorno al 1980, fece riconsiderare il fatto che il volume globulare medio è un dato calcolato sulla base della valutazione del volume di ogni cellula analizzata: la memorizzazione di ciascun volume poteva essere espressa in forma percentuale o in forma grafica dando così un'ulteriore fondamentale informazione: l'ampiezza della distribuzione del volume delle cellule (RDW per le emazie, PDW per le piastrine) diviene un dato numerico obiettivo di ciò che fino ad allora era qualitativamente espresso dal morfologo come anisocitosi.

Tutti questi dati, uniti ad altri ancora forniti dagli strumenti automatici di ematologia, hanno addirittura fatto ipotizzare di poter modificare e completare la classificazione di Wintrobe delle anemie. In realtà non ci sono ancora dati certi che consentano di attribuire a questi nuovi parametri l'importanza e la validità diagnostica di altri dati già da più anni noti.

E' indubbio tuttavia che un midollo normalmente funzionante produce cellule del sangue prevalentemente delle stesse dimensioni e che la anisocitosi è comunque un indice di difficoltà midollare a produrre cellule, senza con questo già definire la causa di ciò.

Il rendere numerici e immediatamente disponibili tutti questi dati consente inoltre di affrontare con maggiore sicurezza non solo il momento diagnostico, ma anche e soprattutto quello del follow up degli effetti della terapia. Così ad esempio l'aumento del volume globulare, una nuova popolazione cellulare a volume globulare normale, già fin dai primi giorni di terapia marziale, ci indicano chiaramente l'efficacia terapeutica e la correttezza della diagnosi, a suo tempo posta, di anemia sideropenica.

L'efficienza della tecnologia ematologica ha inoltre un altro punto a suo favore nella formula leucocitaria strumentale. Da molte parti si levano voci contrarie alla formula microscopica che a livello di screening non avrebbe in efficacia diagnostica una contropartita a quel grosso impiego di risorse che richiede. La formula strumentale, ottenuta quasi allo stesso prezzo di un conteggio ematologico, consente al morfologo di dedicare tutto il tempo necessario a quella piccola percentuale di analisi ematologiche che meritano un'attenta osservazione microscopica.

Di stretta derivazione dall'ematologia la citofluorimetria consente di analizzare cellule non solo dal punto di vista morfologico o delle caratteristiche chimiche o elettriche, ma consente di identificare popolazioni e sottopopolazioni leucocitarie (mediante specifici anticorpi monoclonali) di fondamentale importanza nella diagnosi delle leucemie e delle sindromi da immunodeficienza. E' bene infine ricordare che sia i contaglobuli, sia i citofluorimetri analizzano migliaia di cellule rendendo così minimo il coefficiente di variazione, che è invece molto elevato con l'osservazione microscopica di un solo centinaio di cellule.

Il Laboratorio e la terapia anticoagulante orale

Il monitoraggio della terapia anticoagulante orale consiste in un semplice ma delicato esame di laboratorio: la valutazione del tempo di protrombina o tempo di Quick, che può essere espresso come percentuale di attività o come INR. L'espressione del risultato come INR consente di ridurre l'ampia variabilità del risultato, dovuto alla diversa sensibilità dei reattivi all'azione dei farmaci anticoagulanti orali ed ad altri fattori di variabilità, quali la strumentazione e le condizioni quotidiane di analisi.

L'aspetto realmente delicato della terapia anticoagulante orale, non è tanto la corretta esecuzione dell'analisi, che ormai viene garantita da quasi ogni laboratorio (come dimostrano i risultati dei controlli di qualità), quanto l'interpretazione del risultato e il suggerimento terapeutico che occorre dare al paziente.

Occorre avere a mente tutte le possibili cause di variabilità nell'effetto terapeutico, e fra queste ricordiamo:

- La posologia ha diversi effetti sui vari individui, e pertanto la dose di farmaco da assumere deve essere personalizzata,
- Variazioni apparentemente modeste della posologia, quali ad esempio un quarto di compressa in più o in meno al giorno, provocano enormi variazioni nell'effetto terapeutico,
- Le variazioni della posologia si ripercuotono su più giorni, pertanto esse devono essere graduali, calcolate su base settimanale, rivalutate con la determinazione dell'INR alcuni giorni dopo la variazione terapeutica,
- Significative riduzioni, fino alla sospensione della compressa per un giorno, della dose somministrata provocano effetto nel giro di 24 - 48 ore,
- Incrementi della dose di farmaco somministrata provocano effetto nel giro di parecchi giorni,
- Una riduzione dell'assorbimento intestinale, dovuto ad esempio ad un episodio diarroico, provoca una riduzione dell'assorbimento del farmaco, e quindi uno scivolamento su valori non terapeutici,
- L'azione del farmaco può essere inibita o incrementata dalla contemporanea somministrazione di altri farmaci,
- Il sinergismo con farmaci che riducono l'aggregazione piastrinica (salicilati, antiinfiammatori) può provocare emorragie,

- La dieta può modificare in maniera assai significativa l'effetto della terapia: ad esempio numerose verdure (e fra esse spiccano le cime di rapa) contengono notevoli quantità di vitamina K che contrasta l'azione del farmaco,
- La somministrazione di vitamina K ripristina il legame fra la stessa vitamina K e le proteine della coagulazione, che vengono immediatamente attivate: gli effetti della terapia anticoagulante orale vengo annullati nel giro di poche ore, e gli effetti sulle analisi di laboratorio sono immediatamente evidenti.

Tutte queste considerazioni devono convincere il laboratorista della fondamentale importanza del suo compito nella valutazione della terapia anticoagulante orale. Ancora una volta il laboratorio non può dare un risultato di una analisi senza occuparsi dei tempi di risposta e dell'interpretazione del dato e del suo utilizzo clinico.

L'intervento del laboratorista deve pertanto risolvere i seguenti problemi. Il tempo di risposta deve essere sufficientemente breve, così che l'eventuale variazione della terapia sia possibile nella giornata stessa del prelievo: occorre quindi mettersi in condizione di consegnare (o comunque di fare conoscere il risultato al paziente nel giro di pochissimo tempo: da una a quattro ore al massimo.

Il laboratorio inoltre ha due possibilità per essere certo che il risultato dell'analisi venga correttamente utilizzato:

- Deve creare uno stretto collegamento con un ambulatorio della terapia anticoagulante orale della Divisione di Medicina o di Ematologia e trasmettere a questo i risultati in brevissimo tempo affinché ad esso si rivolgano i pazienti per i suggerimenti terapeutici dopo ogni valutazione di laboratorio
- In assenza di tale ambulatorio, il laboratorio stesso deve attrezzarsi in proprio per garantire che al paziente non giunga solamente un risultato numerico di un'analisi, come abbiamo visto di difficile interpretazione, ma giunga anche un suggerimento terapeutico sulla posologia e sul momento più indicato per eseguire il prossimo prelievo.

Ancora una volta il laboratorio deve farsi carico in proprio del corretto utilizzo dei suoi risultati analitici, giungendo autonomamente alla conclusione interpretativa delle analisi, o rendendosi fulcro organizzativo che consenta di ottenere i migliori risultati per il paziente, affinché questi possa trarre il dovuto vantaggio per la sua salute dalle analisi eseguite.

Gli enzimi muscolari (quale esempio di enzimologia diagnostica)

La CK (creatinchinasi) è un enzima costituito da due subunità. Le subunità possibili sono tre: la CK è pertanto rappresentata da tre isoenzimi: MM, MB o BB. La CK è enzima prevalentemente contenuto nei muscoli e fra questi quello cardiaco, e in minima quantità nel cervello. MM è l'isoenzima prevalentemente contenuto nella muscolatura scheletrica, MB quello contenuto nella muscolatura cardiaca, BB quello contenuto nel cervello.

Fra le varie cause non patologiche di incremento della CK, come di numerosi altri enzimi, quali la milasi, è la presenza di legami fra la CK e le immunoglobuline che danno luogo al fenomeno della macro CK, eliminata dal rene ad una velocità inferiore della normale CK, e quindi presente nel sangue in concentrazioni maggiori che di norma.

La LDH, latticodeidrogenasi, è un enzima costituito anch'esso da subunità assemblate fra loro in cinque diversi isoenzimi: di questi l'LDH1 è quello tipicamente miocardico. Altri enzimi, quali la AST, aspartatoaminotransferasi, sono contenuti nel miocardio più che in altri organi. Altre proteine, quali la mioglobina e le troponine, vengono utilizzate nella diagnostica del danno miocardico, con l'intento di ottenere risultati di laboratorio sempre più precoci e specifici.

Al clinico è chiaro il motivo per cui vengono utilizzati gli enzimi: si rivelano in questo modo danni di organo. Ciò che è tuttora dibattuto è il meccanismo secondo cui gli enzimi vengono liberati dalla cellula:

- La teoria tradizionale propone che l'enzima fuoriesca dalla cellula danneggiata, attraversando la parete cellulare danneggiata, e si riversi nel sangue.
- Altre teorie propongono invece che sia la rigenerazione cellulare, che interviene immediatamente dopo il danno, a riversare nel sangue una maggior quantità di enzima rispetto alla norma, con lo stesso meccanismo di sfioramento che avviene nella cellula normale.

Qualunque sia il meccanismo per cui noi rinveniamo nel sangue una maggior quantità di enzimi, questo è indice di danno d'organo o comunque di attività cellulare molto aumentata rispetto alle condizioni di base.

Bisogna poi tenere a mente che la presenza di enzimi nel sangue in quantità aumentata dipende non solo dal danno d'organo, ma dalle condizioni circolatorie nel tessuto danneggiato: le moderne terapie in corso d'infarto, che consentono riperfusioni dell'organo prima inimmaginabili, determinano la comparsa in circolo di quantità di enzimi assai superiori.

Ciò avviene grazie al fatto che maggiori quantità di sangue lavano l'organo e possono portare in circolo enzimi che altrimenti rimarrebbero imprigionati nel tessuto edematoso e necrotico.

Con metodo enzimatico o immunologico possono essere misurate la CK-MB, isoenzima presente in maggiore concentrazione nel miocardio, per una più precoce diagnosi di danno miocardio. Altre analisi (metodo immunologico), oggi sempre più utilizzate, sono i dosaggi di mioglobina e troponina, proteine che hanno una discreta specificità e precocità diagnostica se riversate nel sangue dal muscolo cardiaco danneggiato.

Con metodo elettroforetico possono essere evidenziate le isoforme della CK-MM, isoenzima prevalente nel muscolo scheletrico ma anche presente nel miocardio. Le isoforme sono proteine che presentano modificazioni post-trascrizionali: in sostanza, non si tratta di isoenzimi geneticamente codificati, ma di trasformazioni metaboliche che avvengono dopo che l'enzima è stato sintetizzato. Il rivenire in circolo l'isoenzima non ancora modificato è indice di recentissimo danno muscolare.

In conclusione, la tecnologia è alla ricerca di metodi diagnostici che con sempre maggiore precocità e specificità confermino o escludano il sospetto clinico di infarto miocardio. E' ben nota l'esigenza, infatti, di diagnosticare il più precocemente possibile l'ischemia del muscolo cardiaco, essendoci oggi terapie in grado di disostruire i vasi occlusi da un evento trombotico.

La distrofia muscolare

La distrofia muscolare, insieme alla fibrosi cistica, è stata una delle prime malattie in cui si è arrivati a scoprire il meccanismo di sviluppo della malattia stessa direttamente dallo studio del DNA. In queste malattie sono infatti stati saltati molti dei passi intermedi che nella storia della medicina hanno caratterizzato l'avanzare delle conoscenze sui meccanismi che causano la malattia.

La storia della medicina ha visto per la massima parte delle malattie ereditarie un andamento di questo tipo:

- conoscenza sempre più approfondita dei sintomi della malattia e della sua evoluzione naturale,
- scoperta del fatto che si tratta di malattia ereditaria per mezzo di un'accurata anamnesi, cioè di un accurato studio della famiglia,
- scoperta della proteina mutata, cioè diversa da quella normale, e dei meccanismi attraverso cui la mutazione di questa proteina provoca i sintomi già conosciuti,
- analisi del DNA, cioè del patrimonio genetico dell'individuo malato e scoperta della mutazione che nel DNA contiene l'informazione *proteina anomala*, o, in altri casi, produzione ridotta di proteina normale.

Sono questi i casi ad esempio delle emoglobinopatie, quali la talassemia, l'anemia falciforme, o di malattie da accumulo, quali la malattia di Tay-Sachs, la galattosemia, la fenilchetonuria.

Scoprire gli effetti biochimici delle alterazioni delle proteine è conquista degli ultimi quaranta, cinquanta anni.

Negli ultimi due decenni, invece, è andata affinandosi la tecnologia che ha consentito di analizzare il DNA e di scoprire quindi la causa prima di numerose malattie ereditarie.

Il non essere riusciti a scoprire quale fosse la proteina mutata che causava alcune condizioni patologiche, quali la distrofia muscolare e la fibrosi cistica ha fatto sì che il passo comunemente successivo, cioè la scoperta della mutazione sul DNA, avvenisse per queste malattie per primo, seppure tardivamente rispetto a numerose altre malattie.

Tutte queste conoscenze consentono oggi null'altro che la diagnosi prena-

tale che dà modo alla famiglia di fare scelte talora drammatiche. E' verosimile che tutte queste conoscenze unite a quelle provenienti dallo studio dell'intero genoma umano portino un giorno a consentire terapie geniche di cui si vedono in questi anni i primi tentativi o i primi approcci.

Il Laboratorio e la gravidanza

Nei protocolli diagnostici previsti per la gravidanza è inclusa la ricerca degli anticorpi antitoxoplasma. La toxoplasmosi è una malattia che si contrae da carni crude o prodotti della terra mal lavati e crudi che contengono un parassita: il *Toxoplasma gondii*. L'intestino del gatto è un ottimo serbatoio di *Toxoplasma*. La malattia passa sovente inosservata o causa febbri, rash cutanei, linfadenopatia.

Un'infezione contratta in gravidanza, invece, può provocare morte dell'embrione o malformazioni cerebrali o oculari, o un'infezione congenita.

Una ricerca di anticorpi antitoxoplasma eseguita in corso di gravidanza può dare luogo ad una risposta del seguente tipo: IgG 150 unità litro, IgM presenti.

Un commento allegato al referto talora dice "la presenza di IgM può corrispondere a recente infezione". Un referto di questo genere porta d'abitudine angoscia nella gravida, preoccupazione del ginecologo, terapie consistenti in somministrazione di antibiotici o in interruzione di gravidanza nel timore di gravi effetti sul feto.

Il laboratorio non può trincerarsi, nelle sue risposte, dietro risultati analitici consegnati senza interpretazione. Al laboratorio e agli esperti in infettivologia in gravidanza è ben noto quanto sovente la presenza di IgM rilevata dai sistemi analitici sia aspecifica, sia determinata cioè da variazioni della concentrazione proteica nel sangue, tipica della gravidanza.

In caso di dubbio di recente infezione, il laboratorio deve procedere a ulteriori indagini. Nel caso il laboratorio non sia in grado di eseguirle in proprio, occorre inviare il campione ad altro laboratorio specializzato, o suggerire ulteriori controlli nel referto, senza dare indicazioni che possono essere gravemente fuorvianti.

Bisogna dunque proseguire il percorso diagnostico con altri test più specifici volti alla ricerca delle IgM, ricercare la presenza di IgA (anche se di difficile interpretazione), eseguire la ricerca della avidità delle IgG. Dall'insieme di tutte queste indagini il laboratorio può, e deve, trarre delle conclusioni diagnostiche sulla data del contagio.

Il medico di laboratorio, dunque, in quanto esperto nel settore, deve esprimere una sua conclusione interpretativa e diagnostica in ogni caso in cui ritenga che il clinico non abbia a sue mani sufficienti criteri di valutazione per giudicare nella maniera più corretta.

Le indagini sierologiche sono un tipico caso di questo dovere, ed in particolare in gravidanza il medico di laboratorio può contribuire ad indirizzare alla corretta diagnosi il clinico, fungendo quale trait d'union fra il medico che gli richiede le analisi e lo specialista.

In buona sostanza, ruolo principale del medico di laboratorio è quello di essere specialista ematologo per l'infettivologo, specialista endocrinologo per il chirurgo, specialista infettivologo per l'ortopedico, e così via.

Il Laboratorio e gli screening neonatali

Da piccole gocce di sangue prelevate dal tallone di un neonato fra la seconda e la quarta giornata di vita, depositate su un cartoncino di carta bibula e lasciate essiccare all'aria è possibile determinare un insieme di informazioni biochimiche che consentono lo screening neonatale di alcune malattie congenite o ereditarie: ipotiroidismo congenito, fenilchetonuria, galattosemia, fibrosi cistica, malattia delle urine a sciroppo d'acero, deficit di biotinidasi, e così via.

Si tratta, tecnicamente, di reidratare la goccia di sangue depositata sulla carta bibula con gli stessi reattivi che consentiranno le analisi biochimiche. Dosare il TSH su pochi millilitri di sangue non può certo garantire dei coefficienti di variazione estremamente bassi come vogliamo ottenere nei dosaggi nell'adulto.

Ma le alterazioni del TSH neonatale in caso di ipotiroidismo congenito sono tali da rendere immediatamente riconoscibile un valore di dieci, venti volte la norma.

Per lo screening della fenilchetonuria si misura semi-quantitativamente la crescita di un ceppo batterico che necessita di fenilalanina per vivere. Il test di Guthrie è stata la prima analisi applicata agli screening neonatali.

Nel caso della galattosemia uno degli enzimi coinvolti nel metabolismo del galattosio è la galattosio-1-fosfato uridiltransferasi. La presenza o l'assenza di questo enzima è dimostrata verificando la trasformazione del galattosio-1-fosfato da parte di questo enzima con un sistema qualitativo: l'osservatore verifica la formazione di molecola fluorescente nella miscela di sangue e reagenti illuminati con una lampada a luce di Wood, cioè nel vicino ultravioletto.

Test analoghi vengono impiegati per lo screening delle altre malattie citate.

I prelievi di poche gocce di sangue nei primi giorni di vita, inviati a un centro di riferimento per ogni regione, consentono ogni anno di salvare molti bambini evitando loro la morte, o gravissimi ritardi mentali, problemi neurologici, epatopatie, predisposizione alle infezioni.

Il costo di questi test in termini di personale e di reattivi è di gran lunga

inferiore al costo delle terapie, dei ricoveri, dell'assistenza all'handicap di cui i soggetti avrebbero altrimenti bisogno per tutto il corso della loro vita.

Anomali risultati dei test di screening devono essere confermati da analoghe determinazioni eseguite su sangue prelevato sul neonato. Nel caso di malattie ereditarie verranno studiati anche i genitori o per mezzo di prove da carico o analizzando con isoeletrico focalizzazione gli enzimi carenti nel neonato, o ancora il DNA alla ricerca della mutazione che causa il deficit.

Dopo aver provveduto ad instaurare la dieta o la terapia necessaria al neonato, è di fondamentale importanza il consiglio genetico rivolto alla famiglia: genitori, zii, parenti in età fertile.

Il Laboratorio e la sindrome di down

I limiti della medicina, che talora ha un ruolo esclusivamente diagnostico, sono evidenti nel caso della sindrome di Down. Lo screening prenatale della sindrome di Down si rifà a Wald, che dall'analisi di tre test eseguiti in contemporanea nelle prime settimane di gravidanza, ritenne di individuare le donne a maggior rischio di essere portatrici di una gravidanza con feto affetto da sindrome di Down.

Anche se semplificato a due sole analisi, questo test consente di identificare con discreta specificità e con ottima sensibilità le gravidanze a rischio. Ad un esito positivo del test di screening seguirà un'analisi cromosomica eseguita o su villi coriali nelle primissime settimane di gravidanza, o su liquido amniotico.

Il test è abitualmente suggerito alle gravide oltre i 35-38 anni, poiché il rischio di trisomia del cromosoma 21 è strettamente proporzionale all'età materna.

Per altre malattie (tipicamente quelle ereditarie) è la presenza in famiglia di un individuo affetto a determinare la richiesta di diagnosi prenatale.

Il ruolo del laboratorio si ferma a questo punto, e la medicina non può offrire alla coppia altro che una diagnosi precoce e l'assistenza necessaria in caso di decisione di interruzione della gravidanza.

E' verosimile che il prossimo futuro consenta di scegliere fra le uova materne quelle con patrimonio cromosomico normale, al fine di prevenire la gravidanza di un individuo affetto.

Il Laboratorio e l'allergologia

Uno dei primi indici di laboratorio della presenza di malattia allergica è la eosinofilia, cioè l'aumento del numero di granulociti eosinofili circolanti nel sangue. Si tratta tuttavia di un fenomeno non specifico di fatto allergico, essendo la eosinofilia presente anche nel caso di parassitosi.

Le immunoglobuline E (IgE) nel sangue sono il migliore indice di risposta allergica. Il dosaggio delle IgE totali tuttavia non è in grado di discernere quale allergene sia in grado di scatenare la reazione nell'individuo.

E' allora abituale dosare le IgE specifiche, cioè le IgE rivolte contro singoli specifici allergeni. I risultati devono essere attentamente valutati sia in considerazione del quadro clinico, sia in considerazione di eventuali test di stimolazione cutanea eseguiti per valutare quale sia l'allergene in causa. Ancor prima dell'interpretazione a posteriori dei risultati delle analisi, è di estrema importanza la valutazione clinica iniziale del soggetto allergico, con un'accurata anamnesi.

In laboratorio sono valutabili le IgE contro un elevatissimo numero di allergeni, e non sarebbe sensato valutarli tutti in ciascun individuo, anche per gli elevati costi (circa 15.000 lire di ogni singolo dosaggio). Il clinico deve pertanto indirizzare il laboratorista verso quali allergeni valutare in ciascun individuo, sulla base della sua sintomatologia, della sua comparsa, della stagionalità del fenomeno, della supposta concomitanza con il contatto con l'alimento, il colorante, la polvere che scatena la reazione allergica.

Il laboratorio è inoltre oggi in grado di valutare la liberazione da parte delle cellule di mediatori di fenomeni allergici, quali i leucotrieni. Ritengo che questo importante mezzo diagnostico avrà grande sviluppo nei prossimi anni, per prevenire reazioni anche assai gravi, in particolare ai farmaci. Si comprende come sia di estrema importanza una valutazione preventiva dei danni potenzialmente scatenati, in individui predisposti, dalla somministrazione di salicilati (aspirina), antipiretici, antibiotici o anestetici.

Gli interventi chirurgici

C'è dibattito fra le società scientifiche sulla tipologia di esami preoperatori necessari. Oltre al laboratorio, la stessa radiografia del torace è assai dibattuta nella sua utilità. Molto rari sono i casi in cui una radiografia del torace in un individuo del tutto asintomatico metta in evidenza situazioni patologiche utili da diagnosticare.

Chi si sente d'altra parte di abolire autonomamente un'indagine che storicamente è sempre stata eseguita prima di ogni intervento chirurgico? Possono farlo le società scientifiche concordando protocolli diagnostici preoperatori. Ne risulterà verosimilmente che per la massima parte dei casi non è necessario eseguire la radiografia del torace.

Per quanto riguarda le analisi di laboratorio è bene concordare, fra società scientifiche o almeno a livello locale fra anestesista, chirurgo e laboratorista, il minimo numero di analisi utili prima di ogni intervento chirurgico.

Non parliamo qui delle analisi necessarie per diagnosticare la patologia che affligge l'individuo: parliamo delle analisi necessarie per garantire che un intervento chirurgico non venga eseguito su un individuo con patologie di altro tipo che possano incidere negativamente sulla sua situazione clinica.

Sovente si è abbondato nelle analisi di laboratorio preoperatorie. Ritengo che occorra graduare fra interventi minori e interventi maggiori, ma che la tipologia delle analisi di laboratorio preoperatorie possa essere ridotto, quale prima ipotesi, alle seguenti:

- Emocromo, per una verifica della crasi ematica e di eventuali fenomeni infiammatori e per valutare il numero delle piastrine in funzione della loro attività procoagulativa.
- ALT, per uno screening epatico.
- Creatinina, per screening della funzione renale.
- Potassio, per verificare l'equilibrio idroelettrolitico.
- CK, per prevenire l'ipertermia maligna, mortale in un'elevata percentuale di casi; occorre riferirsi alla corretta interpretazione dei valori di CK come spiegato nel capitolo riguardante gli enzimi muscolari.
- PT e PTT, quale primo screening della funzione coagulativa.

Altre analisi possono essere valutate con il chirurgo e l'anestesista: VES,

proteine totali e albumina, sodio, colinesterasi (eventualmente numero di dibucaina se la colinesterasi è bassa).

Come si vede il numero degli esami di laboratorio per un intervento di base è piuttosto limitato e un loro ampliamento può essere giustificato soltanto dal tipo di intervento, da analisi specifiche per l'organo sul quale si deve intervenire chirurgicamente, o da analisi ritenute utili nel singolo individuo per sue particolari condizioni di salute. Un ampliamento indiscriminato della tipologia di analisi porta invece ad un ingiustificato aumento dei costi senza che l'efficacia diagnostica ne venga aumentata.

Il Laboratorio e il diabete

Il pediatra aveva prescritto per la bambina una piccola serie di analisi di laboratorio per la astenia che da qualche giorno le rendeva difficili le attività quotidiane. Il medico pensava a qualche fatto infiammatorio, e fra questi in particolare ad una cistite.

L'esame delle urine mise in evidenza glicosuria. Come noto, il glucosio compare nelle urine solo quando la concentrazione ematica supera un valore soglia, che l'individuo con normale metabolismo non raggiunge.

Il laboratorio applicò uno dei primi percorsi diagnostici, anche se allora non si chiamavano ancora così. Si tratta in sostanza di fare seguire, ad una prima analisi con valori patologici, una seconda che confermi il significato della prime. Ai percorsi diagnostici viene dedicato un capitolo, cui si rimanda.

Quel percorso diagnostico dunque fu costituito dall'eseguire una glicemia per confermare il sospetto che un aumento del glucosio ematico (causato da diabete) fosse il motivo della glicosuria. In effetti la glicemia risultò essere assai elevata, e ricordo il dialogo con il pediatra, che riuscì ad avvertire solamente la sera dopo cena. Il mattino dopo la bambina era ricoverata all'ospedale infantile, dove iniziò il suo iter diagnostico e terapeutico.

Non è qui il caso di discutere sui vari tipi di diabete, sui valori di laboratorio su cui si basa la diagnosi di diabete, sulla terapia. E' tuttavia fondamentale che il laboratorista conosca tutto ciò, al fine di avere sempre in efficienza metodologie analitiche che consentano di diagnosticare correttamente il diabete, e di seguire correttamente l'andamento della malattia.

*Microalbuminuria: ma esiste un'albumina microscopica? In realtà si tratta solamente di una cattiva dizione di un parametro fondamentale nella prevenzione della nefropatia diabetica. L'albumina, principale componente delle proteine nel sangue, viene eliminata dal rene in piccolissime quantità. Un incremento anche molto modesto di questa eliminazione è precoce indice di danno renale. Un tempo venivano utilizzati in laboratori metodi abbastanza grossolani, che mettevano in evidenza solamente grandi eliminazioni di albumina: oggi i metodi immunologici consentono di evidenziare anche minime quantità: quantità *micro*, ma l'albumina è sempre quella.*

Il laboratorio deve essere in grado di dosare la glicemia con ottima accu-

ratezza e precisione intorno ai valori diagnostici, deve avere in funzione un buon sistema per dosare l'emoglobina glicata e anche la fruttosamina (per seguire la media dei valori glicemici nelle ultime settimane o mesi), e non può disinteressarsi della validità dei dosaggi di glicemia periferici: con POCT (point of care test) si intendono le analisi di laboratorio eseguite al letto del malato, o in ambulatorio, oppure a casa.

Nel caso del diabete, l'importanza di verificare continuamente la glicemia rende fondamentale la possibilità di avere strumenti di piccole dimensioni che analizzano una goccia di sangue. Del laboratorio è il compito di certificare che tali strumenti diano risultati costantemente ripetibili nel tempo, e paragonabili a quelli ottenuti dalle misure effettuate periodicamente in laboratorio.

Il problema dei POCT non è del tutto trascurabile. Sovente in passato il Laboratorio centrale degli Ospedali ha rifiutato l'esecuzione di analisi che il tempo ha dimostrato essere di fondamentale importanza per il malato. La miniaturizzazione della strumentazione ha inoltre reso disponibili possibilità diagnostiche un tempo inimmaginabili.

E' compito perciò della medicina di laboratorio seguire e guidare l'evoluzione di questa periferizzazione della tecnologia. Non è necessario temere di essere scavalcati dagli avvenimenti: occorre saperli conoscere per guidarli al migliore utilizzo, sempre con l'unico obiettivo della cura del malato, consci che i laboratoristi sono gli esperti della variabilità analitica, del controllo di qualità, dell'interpretazione del dato strumentale.

Il diabete è un esempio dell'utilizzo dei POCT, ma ormai sono disponibili strumenti portatili per l'esecuzione al letto del malato di almeno una decina di analisi. E così come nello stesso laboratorio la miniaturizzazione è il prossimo futuro, così il presente è rappresentato da questa sfida: analisi immediate con apparecchi palmari, che abbinano a coefficienti di variazione appena superiori al laboratorio tradizionale una flessibilità di impiego di sicuro impatto sulla salute del malato.

Il laboratorio, inoltre, deve avere a disposizione in ambulatorio una minima dotazione di emergenza. Specialmente in ambito pediatrico, oltre a dotazioni più tipicamente mediche, non potrà essere dimenticata una piccola scorta di zucchero: il prolungato digiuno per l'esecuzione del prelievo può portare all'ipoglicemia i piccoli pazienti. Ed è nota la drammatica urgenza di intraprendere misure terapeutiche prima del sopraggiungere del coma ipoglicemico.

Le dislipidemie

L'attuale modo di vivere del mondo occidentale, nel quale la rinuncia e la privazione non sono più parole di moda, ci porta a mangiare non quanto basta, ma quanto fa piacere. E d'abitudine fa piacere mangiare fino al doppio di quanto sia necessario per vivere.

Sorge di qui la comune richiesta, ora del medico di base, ora del paziente stesso, di conoscere la concentrazione di colesterolo e di trigliceridi nel sangue.

E' ben noto che esistono forme familiari, cioè ereditarie, di ipercolesterolemia e di ipertrigliceridemia. Per queste è di fondamentale importanza la determinazioni della colesterolemia e della trigliceridemia in corso di terapia, per verificarne l'efficacia.

Al momento della diagnosi, altre e più specifiche analisi consentono di identificare il genotipo ed il fenotipo.

Le altre, frequentissime, determinazioni di colesterolemia e di trigliceridemia servono d'abitudine all'individuo per contenere i suoi eccessi alimentari. Sovente questi eccessi alimentari portano ad incrementi sia del colesterolo ematico, sia della glicemia, sia del peso corporeo, sia della pressione sanguigna.

Nei casi dunque in cui la ipercolesterolemia sia strettamente legata agli eccessi alimentari, si potrebbe quasi dire che una buona bilancia, in casa o in farmacia, dia informazioni assai simili a quelle date da un prelievo di sangue.

Un problema molto importante, sovente trascurato, è la grande variabilità biologica della colesterolemia e soprattutto della trigliceridemia.

Le variazioni di questi parametri sono ben note al laboratorista, ma sono di tale entità che è talvolta difficile convincere l'interessato e anche il suo medico di base che non si tratta di errore di laboratorio: trigliceridi che nel giro di pochi giorni passano da 800 a 300 milligrammi sono risultati che lasciano per lo più stupiti e increduli i nostri pazienti, e, come dicevo, talvolta anche i medici di base.

In particolare, in individui ipertrigliceridemici, variazioni anche superio-

ri a quanto esemplificato sono frequenti, in stretta relazione con restrizioni o eccessi dietetici.

Altro problema, direi inverso rispetto al precedente, è l'attribuire significato favorevole a variazioni della colesterolemia che significative non sono, in quanto determinate dalla somma di variabilità biologica e variabilità analitica. Così ad esempio, una variazione della colesterolemia da 240 a 225 mg/dl non ha alcun significato clinico, mentre viene sovente accolta con soddisfazione quale indice di riduzione di questo fattore di rischio.

Un importante aspetto dello studio dell'assetto lipidico è l'analisi delle apolipoproteine, costituite da una porzione proteica (l'apoproteina) ed una porzione lipidica. Oltre al loro dosaggio immunologico (apo-A, apo-B, apo-E) può essere eseguito lo studio del genotipo delle apolipoproteine con metodiche di biologia molecolare: è infatti noto un fattore di rischio aterogeno legato ad alcuni genotipi apo-E.

Il Laboratorio e il cancro

Può capitare di tornare a casa con i risultati di laboratorio, soddisfatti che il PSA sia di 3 ng/ml, mentre i valori di riferimento arrivano fino a 4. Ma può capitare che, giunti dal medico, questi chieda: “Lei ha 47 anni, ha disturbi a urinare?”. “No, assolutamente nessuno”. Il medico allora dice: “Faremo un’ecografia prostatica transrettale ed una visita specialistica urologica”.

Molto correttamente, il medico aveva messo in relazione il valore del PSA non rispetto ai valori di riferimento, ma rispetto all’età ed alla dimensione della prostata per quanto questa fosse valutabile in base ad una semplice anamnesi.

Un’ecografia ed una visita urologica, eventualmente accompagnate da una biopsia, possono mettere in evidenza in un caso come quello descritto la presenza di un carcinoma prostatico di piccole dimensioni. Così come un PSA assai più elevato dei valori di riferimento, in un individuo più anziano e con ipertrofia prostatica di notevoli dimensioni, può essere indicativo della sola ipertrofia, senza che sia presente un tumore.

In buona sostanza, i marcatori tumorali, dei quali il PSA è il più specifico, devono essere valutati con estrema cautela, rapportati alla situazione clinica, e d’abitudine non devono utilizzati per lo screening delle varie forme di tumore.

Il laboratorio interviene in parecchie circostanze nella diagnosi e soprattutto nel follow-up del cancro. Si parte da sintomi di laboratorio assai specifici, quali gli indici di infiammazione acuta, la VES, l’anemizzazione con immissione in circolo di elementi cellulari immaturi, che richiederà una diagnosi differenziale fra leucemie, metastasi midollari di vari tipi di tumore, malattie infettive o parassitarie che causino un aspetto morfologico del sangue periferico quale quello descritto.

Da sempre la medicina ha cercato segni, clinici, strumentali, di laboratorio, possibilmente non invasivi, sensibili e specifici per le varie forme di tumore. Si è sperato negli anni di scoprire proteine specificamente secrete dai tumori, che avessero queste caratteristiche. In realtà, i marcatori tumorali sono proteine che aumentano molto in occasione di processi tumorali, ma che sono anche presenti, seppure in minore entità, nei tessuti normali.

Pertanto, sulla base dei soli marcatori tumorali, non esiste una risposta SI/NO alla domanda: Ha l'individuo in esame un tumore? Esistono varie concentrazioni di marcatori tumorali nel sangue che possono essere indice della presenza di tumore, ma possono anche essere indice di altre alterazioni non tumorali, quali ad esempio una stasi biliare, o una ipertrofia benigna.

In buona sostanza, il marcatore tumorale ottimale non esiste per alcuna forma di tumore.

Molto più promettenti sono i dosaggi dei marcatori tumorali nel follow-up delle varie forme di tumore. Sovente infatti la risalita di un marcatore tumorale nel sangue è precoce indice di ricaduta della malattia.

Ancora più promettenti sono i risultati ottenuti dalla valutazione del DNA, quando a particolari forme tumorali siano associate note mutazioni degli acidi nucleici. Così è il caso di alcune forme di leucemia, di alcune forme di tumori intestinali, polmonari, e così via. La grande specificità delle alterazioni del DNA in relazione ad alcune forme di tumore consente in alcuni casi di evidenziare la "malattia minima residua", cioè quelle poche cellule tumorali rimaste dopo un intervento chirurgico o chemioterapico, non diagnosticabili con altro mezzo, ma la cui presenza è sicuro indice di incompleta eradicazione della malattia.

Questi studi sulle mutazioni del DNA, specifiche di alcuni tumori, hanno aperto nuove prospettive alla terapia. Così come è stato descritto per la terapia di alcune malattie genetiche, anche per alcune forme tumorali, l'immissione di tratti di DNA normale nelle cellule geneticamente alterate, infettandole con virus che trasportano il DNA normale, potrà un giorno portare a ristabilire equilibri genici tipicamente alterati nella cellula tumorale.

I trapianti di organo

I trapianti d'organo sono l'effetto terapeutico consentito dalla donazione di un organo, da vivente o da cadavere, ad un paziente in cui l'attività di quell'organo non sia più in grado di garantirgli la funzione o addirittura la vita.

La più comune donazione d'organo è la donazione di sangue, e la sua trasfusione in altro individuo.

Le analisi richieste al laboratorio per una donazione d'organo, ed anche per una trasfusione, sono volte a garantire sostanzialmente tre aspetti:

- la compatibilità fra donatore e ricevente,
- il diritto alla salute del donatore, se vivente,
- lo stato di salute del donatore affinché il ricevente non venga contagiato da malattie trasmissibili con il trapianto d'organo o la donazione.

Le analisi da eseguire per una trasfusione di sangue sono ormai codificate da tempo per legge. Per i trapianti d'organo invece si è ancora in fase di organizzazione.

E' bene ricordare che anche un trapianto di cornea richiede le stesse cautele ed analisi di tutte le altre donazioni.

Le analisi più frequentemente richieste per la profilassi del contagio riguardano epatite, sifilide, AIDS, infezione da citomegalovirus, e così via. Sempre più di frequente, vengono richieste ulteriori analisi sierologiche.

Inoltre di frequente vengono richieste analisi chimico-cliniche, quali PSA per l'esclusione di un carcinoma della prostata in donatore maschio ultrasessantenne, quadro proteico elettroforetico per l'esclusione di disfunzione epatica o gammapatia monoclonale, e così via.

Si pone quindi un importante problema organizzativo. La preoccupazione è che i laboratori si attrezzino per affrontare l'esigenza di oggi, e che domani nuove esigenze non concordate ma inattuabili rendano vana la donazione.

Occorre dunque un coordinamento fra immunologi, nefrologi, gastroenterologi, chirurghi, anestesisti e rianimatori, laboratoristi, e quanti altri sono

coinvolti nei trapianti. Occorre in sostanza stabilire a priori quali siano le analisi necessarie per una donazione, ed in base a ciò stabilire quali e quanti centri in ciascuna Regione o gruppo di Regioni debbano fare fronte a tali fondamentali esigenze.

Occorre ancora citare, anche senza approfondire l'argomento, le analisi necessarie, a trapianto eseguito, volte a valutare:

- l'efficienza dell'organo trapiantato,
- la terapia immunosoppressiva,
- l'eventuale insorgenza di fenomeni di rigetto.

In sostanza, il laboratorio è chiamato a valutare anche l'efficacia terapeutica del trapianto.

Il Laboratorio e le malattie infettive

Perché un campione di feci per fare diagnosi di ulcera duodenale?

Perché più diversi prelievi di sangue, anche in contenitori diversi, per fare diagnosi di febbre malsese (brucellosi)?

Perché poi un campione di urina per fare diagnosi di polmonite da Legionella?

Già da queste tre domande si capisce come il laboratorio sia in prima linea su più fronti nella diagnosi delle malattie infettive. I mezzi a disposizione del laboratorio per affrontare questo tipo di diagnosi sono numerosi, e la maggior parte di questi sono anche piuttosto indaginosi, con tempi di risposta che talora non rispecchiano le necessità cliniche.

In particolare gli esami colturali, cioè quelli in cui eventuali batteri presenti vengono fatti crescere su appositi terreni, hanno tempi di incubazione di uno o più giorni, e sovente le malattie più gravi sono proprio quelle in cui i tempi di diagnosi di laboratorio sono più lunghi.

Ma fortunatamente il laboratorio ha numerose vie alternative per accelerare i tempi della diagnosi. Oltre all'esame colturale, sono infatti disponibili ricerche dirette di antigeni batterici, virali, di funghi, o ricerche dirette dell'acido nucleico di numerosi agenti infettivi, o ancora le ricerche di anticorpi.

La microbiologia si divide in varie branche: la batteriologia, la virologia, la parassitologia. E questa divisione tiene conto della varietà degli agenti patogeni.

Un'altra classificazione, che prende in considerazione gli aspetti diagnostici della microbiologia, vede da un lato la ricerca degli agenti biologici di malattia (esame colturali, ricerca di antigeni), dall'altro la risposta dell'organismo all'invasione degli agenti patogeni. Quest'ultimo tipo di analisi deve tenere conto di aspetti aspecifici, ma talora utili per la diagnosi differenziale, quali l'aumento della VES, la comparsa di segni di infiammazione acuta, l'incremento del numero di leucociti, e così via. E deve analizzare più specificamente la risposta anticorpale.

Il problema della microbiologia è la conoscenza dell'infezione e delle strade percorse nello sviluppo dell'infezione e della risposta dell'organismo

ospite. Occorre cioè avere chiaro a mente che il solo isolamento del microrganismo non è quasi mai indice certo di malattia. Devono essere studiati insieme i tre aspetti dell'infezione: il microrganismo, l'ambiente, l'ospite.

Il microrganismo. La Salmonella, noto patogeno causa di enteriti, può essere isolato da un campione di feci di un individuo con diarrea: siamo certi che non si tratti di un portatore sano di Salmonella con infezione da Rotavirus o da Campylobacter? Solamente una considerazione clinica completa, di cui l'analisi di laboratorio faccia parte, può risolvere il dilemma. Un Escherichia coli è batterio normale abitante del nostro intestino, ma l'Escherichia coli di Paesi lontani provoca gravi dissenterie perché il nostro sistema immunitario non ne conosce ancora gli antigeni.

L'ambiente. Qualunque lavoro di muratura mette in libertà Aspergilli. In ambiente casalingo, tutti sani, possiamo stare tranquilli: nessuno ammalerà di aspergillosi. In ospedale, l'Aspergillo liberato dalla trapanatura di un muro può infettare il paziente immunodepresso, immunosoppresso, leucopenico. In ospedale, la pressione antibiotica seleziona i batteri più resistenti ai farmaci, mentre la prima infezione delle vie urinarie di una giovane ragazza è d'abitudine sensibile a qualsiasi farmaco antibatterico.

L'ospite. Il discorso è già fatto: chi ha buone difese resiste all'aggressione di numerosi microrganismi. Chi ha difese ridotte per varie patologie, o anche solo per un intervento chirurgico, è più facile preda di infezioni, a causa della riduzione delle difese immunitarie, aspecifiche e specifiche.

Come dunque il laboratorio può mirare per diagnosticare correttamente la causa di una infezione? La risposta è: conoscere i possibili microrganismi causa di infezione, dove si trovano, come agiscono, che effetti provocano sull'ospite.

Occorre avere chiara la possibile localizzazione del microrganismo, la possibilità di ricercarlo senza fare danno all'ospite, la sicura validità diagnostica del reperto.

La ricerca del microrganismo può seguire la strada dell'analisi microscopica, senza o con arricchimento e colorazione:

- esame morfologico del liquor dopo colorazione di Gram, e conta e tipizzazione delle cellule nel liquor stesso
- esame macro- e microscopico delle feci, dopo concentrazione e colorazione, alla ricerca di uova di parassiti

- esame microscopico di secreto uretrale per ricercarvi gonococchi intracellulari.

La ricerca del microrganismo può seguire la strada dell'esame colturale. Da un pus, da un liquor, da una urina si può d'abitudine fare crescere il patogeno, purchè non sia già stata avviata la terapia antibiotica.

La ricerca del microrganismo talora non è più possibile: tipicamente la meningite insorge come infiammazione delle prime vie aeree. Tipicamente un'infiammazione delle prime vie aere viene curata con antibiotici. L'evoluzione in meningite viene diagnosticata dalla sintomatologia clinica e dall'analisi del liquor. Tuttavia, la somministrazione di antibiotici rende impossibile la crescita del batterio causa di meningite, e sovente anche la sua evidenziazione alla colorazione di Gram. Occorre dunque inserire una ulteriore analisi: la ricerca degli antigeni solubili batterici liberati nel liquor. Questi permangono evidenziabili con reazioni immunologiche di laboratorio, anche se il batterio non è più coltivabile o visibile.

Ricordiamo peraltro la estrema importanza dell'esame colturale del sangue: l'emocoltura. Quasi non esiste infezione profonda che non abbia fase batteriemia. La polmonite, la meningite, l'ascesso profondo hanno periodi in cui i batteri sono evidenziabili nel sangue perché circolanti. L'emocoltura è un potentissimo mezzo diagnostico, talora sottovalutato, il cui unico limite è costituito dalla difficile interpretazione: l'inquinamento da prelievo è costituito talora da quegli stessi batteri che sospettiamo essere causa di patologia. Occorrono dunque tre prelievi (all'inizio del picco febbrile se presente) per aumentare enormemente la sensibilità di questo costoso, laborioso, insostituibile mezzo diagnostico.

In numerosi casi, la ricerca diretta del microrganismo (colturale, microscopica, con analisi degli antigeni) non è possibile per vari motivi, dipendenti dal tipo di agente, dalla sede di infezione, dalla difficoltà a identificare direttamente l'agente patogeno. Così uno Streptococco indovato in un granuloma gengivale, un virus epatitico evidenziabile solamente nel fegato, una Salmonella florida in cistifellea non meritano moralmente una ricerca diretta: primum non nocere.

Si ricorre in questi casi alla evidenziazione indiretta della malattia: dagli indici di infiammazione acuta, dagli enzimi epatici, da altre indagini specifiche trarremo indirizzi diagnostici.

Specifico è invece la reazione anticorpale, cui molto spesso occorre rivol-

gersi per confermare ipotesi diagnostiche cliniche. Ricordiamo che la presenza di anticorpi circolanti informa solamente sull'avvenuto contatto con il patogeno. E' il movimento anticorpale, o il titolo anticorpale particolarmente elevato, o ancora la presenza di IgM specifiche, a consentire la diagnosi di recente contagio o di infezione in corso.

E' bene poi osservare che il titolo anticorpale deve essere messo in relazione alla situazione clinica dell'individuo in esame. Un elevato titolo antistreptococcico (ASLO, streptozyme, antistreptochinasi) assume significati completamente diversi nel bambino e nell'adulto. Nel bambino sano un alto titolo anticorpale può essere indice di buona risposta immunitaria ai batteri con cui si viene a contatto. Nell'adulto astenico, con febbre serotina, in assenza di sintomi focali, una modesta elevazione del titolo antistreptolisinico non può essere trascurata. Molti foci gengivali trascurati sono causa di malattia reumatica dell'adulto, con conseguenze anche gravi proprio perché facilmente negletti.

Dopo avere citato la ricerca delle IgM specifiche quale sintomo di recente contagio, occorre guardarsi dagli eccessivi ottimismo. Elevatissimi titoli anticorpali (oltre ad altre condizioni quali la gravidanza, la presenza di auto-anticorpi) possono dare luogo a false positività per reazioni di laboratorio aspecifiche.

Ricordo un caso in cui fu sospettato un tumore polmonare a seguito di tosse persistente ed immagini radiografiche sospette. Esclusa la neoplasia, fu poi sospettato un tumore osseo a seguito di forti dolori ed immagini radiografiche indicative, con indici infiammatori elevatissimi e condizioni generali compromesse. La rivisitazione dell'intero quadro sintomatologico e clinico portò alla diagnosi corretta: endocardite batterica con infezioni metastatiche polmonari ed ossee.

Come sempre in medicina, non esiste sintomo, clinico, strumentale, di laboratorio, che da solo costituisca certezza diagnostica.

Il Laboratorio e lo sport

Nel campo della medicina dello sport il compito del laboratorio è soprattutto volto a garantire che gli atleti non subiscano danni alla salute a seguito dell'esposizione all'intensa attività atletica e all'eventuale somministrazione di farmaci che talora possano essere utilizzati per migliorare i risultati sportivi.

Il laboratorio assume quindi anche un compito di vigilanza, talora imposto dalle autorità sportive o addirittura dalla magistratura. La vigilanza deve estendere il suo campo d'azione alla verifica dell'andamento dei parametri biumorali per accertare che non raggiungano valori dannosi, o nella ricerca di eventuali sostanze d'abuso utilizzate dagli sportivi.

Talora queste sostanze di abuso sono le stesse utilizzate anche quali droghe d'abuso, per ridurre la consapevolezza della fatica fisica. Altre volte si tratta di sostanze quali ormoni o anabolizzanti o ancora più di recente di eritropoietina.

Un importante problema incontrato dal laboratorio in queste verifiche è il fatto che la maggior parte delle sostanze talora utilizzate dagli sportivi sono sostanze secrete normalmente dalle ghiandole del nostro organismo, quali ad esempio gli ormoni sessuali o quale la eritropoietina.

In merito all'utilizzo dell'eritropoietina sono stati studiati gli effetti della sua somministrazione esogena sul midollo osseo e si va oggi oltre l'analisi del semplice ematocrito per sospettare o verificarne l'utilizzo. Sono così entrati in uso il rapporto fra la ferritina e il recettore solubile della transferrina, gli indici di maturazione reticolocitaria.

La medicina dello sport utilizza sempre nuovi preparati, anche di sintesi. Laboratori specializzati sono chiamati a scoprire la presenza ed a valutare la concentrazione di tali sostanze nei liquidi biologici. Lo scopo è garantire la salute dello sportivo e non solamente il miglioramento delle prestazioni fisiche.

I valori di riferimento (un tempo detti valori normali)

Un importante aspetto utile all'interpretazione del dato di laboratorio è la corretta espressione dei valori normali o di riferimento. Sovente ciò non riceve la meritata attenzione da parte del laboratorio.

E' noto come strumentazioni diverse possano dare risultati non sovrapponibili fra loro; è noto che popolazioni diverse possono avere diversi valori di riferimento; è noto che sovente i valori cosiddetti normali non corrispondono in realtà alla norma, ma ai valori medi della popolazione. E non è detto che i valori medi di una popolazione siano quelli che garantiscano la prevenzione delle malattie cardiovascolari, come nel caso della colesterolemia.

Il problema dei valori di riferimento è particolarmente evidente in due situazioni:

- in ematologia la misurazione del volume globulare medio avviene con metodi analitici diversi fra i vari strumenti: i risultati che ne derivano sono in tutti i casi perfettamente validi se paragonati a misurazioni ottenute con lo stesso strumento, o se paragonate ai valori di riferimento, che devono variare quindi da strumento a strumento.
- nei dosaggi immunometrici, quali ad esempio le misurazioni ormonali, diversi metodi analitici portano a risultati non sovrapponibili fra loro: è anche qui fondamentale che i valori di riferimento siano calcolati ed espressi per il proprio metodo analitico e non siano semplicemente desunti dalla letteratura.

Risulta evidente dai programmi di verifica esterna di qualità che dati provenienti da diversi metodi analitici danno un'ampiezza di distribuzione dei dati stessi tali da mettere talvolta in dubbio l'utilità clinica di questi dosaggi.

Diviene dunque di fondamentale importanza valutare ogni singolo dato, non tanto per il suo valore assoluto, quanto per la sua posizione all'interno del range di normalità espresso da quel laboratorio.

Vecchi strumenti ormai in disuso (gli SMA Technicon) esprimevano i valori, oltre che numericamente, anche graficamente, tracciando una linea che incrociava la linea dei valori di normalità indicati da una diversa colorazione della carta.

Senza leggere alcun dato numerico, con la sola osservazione delle posizioni dei tratti di penna, si ottenevano validissime informazioni.

Non siamo ancora pronti a questo, ma sono fermamente convinto che nei prossimi anni l'espressione grafica dei risultati, o l'espressione del centile occupato dal singolo risultato rispetto alla popolazione generale, o infine l'espressione normalizzata, cioè in percentuale, del valore ottenuto rispetto ai valori di riferimento, diverranno modalità di espressione dei risultati di laboratorio in aggiunta o in sostituzione alla attuale modalità di refertazione.

La biologia molecolare

Avanzate tecnologie di analisi molecolare consentono oggi vari tipi di indagine:

- diagnosi di numerose malattie ereditarie, prevalentemente di quelle monogeniche, quali la fenilchetonuria, la talassemia, la sferocitosi, le varianti genetiche di fattori della coagulazione, e così via;
- lo studio del riarrangiamento delle immunoglobuline, sia per la diagnosi di numerose forme di leucemie e linfomi, sia, nel follow up di queste malattie, per la diagnosi di malattia minima residua;
- la ricerca di mutazioni tipiche di alcune forme tumorali
- analisi del genoma virale del HIV per valutare la viremia o per la ricerca delle mutazioni
- ricerca di acidi nucleici virali, batterici o fungini quando altri metodi analitici non garantiscano la stessa elevata sensibilità e accuratezza.

La storia dell'AIDS e l'applicazione alla clinica di numerosi avanzamenti sia di laboratorio, sia di sperimentazione clinica ha consentito di arrivare oggi, a circa vent'anni dalla scoperta della malattia, ad ottenere successi terapeutici grazie ad alcuni farmaci utilizzati ad alte dosi che inibiscono la transcriptasi inversa o le proteasi del virus.

Questi farmaci hanno elevatissimi costi e dimostrano la loro efficacia consentendo sopravvivenze e qualità di vita inimmaginabili fino a pochi anni fa per l'AIDS.

In un certo numero di casi, tuttavia, sia la sintomatologia, che peggiora, sia la viremia, che aumenta anziché diminuire, significano l'inefficacia di tali farmaci. Considerata la difficoltà in un certo numero di soggetti di accertare la compliance, le nuove tecnologie offrono oggi la possibilità di verificare sul DNA virale se esistano mutazioni che inducono resistenza ai farmaci antiretrovirali o antitranscriptasi inversa.

Qualora sia dimostrata la resistenza ad uno o più farmaci, l'elevatissima efficacia diagnostica di questi costosi test deriva dall'indicazione a modificare la terapia, anticipando scelte terapeutiche e consentendo quindi di sospendere la somministrazione di farmaci costosissimi, ma in quel singolo caso inefficaci. La dimostrazione clinica dell'inefficacia del farmaco avviene d'abitudine con settimane o mesi di ritardo rispetto alla diagnosi di laboratorio.

Il “POCT” (point of care test)

La storia del laboratorio iniziò quando il più giovane medico di reparto venne incaricato di centrifugare le urine per analizzarne il sedimento al microscopio, o di contare le cellule del sangue in camera di Buerker. L'avanzare della tecnologia, da un lato, e l'ampliamento delle conoscenze fisiopatologiche dall'altro portarono alla nascita di una nuova specialità medica, figlia dell'anatomia patologica o della microbiologia o ancora dell'igiene.

Contemporaneamente queste nuove possibilità diagnostiche furono apprezzate e sempre più necessarie e numerose.

Il laboratorio divenne perciò una branca indipendente della medicina, adatta ad eseguire e suggerire al clinico le analisi microscopiche, biochimiche, microbiologiche. La sempre più estesa possibilità di eseguirle portò il loro utilizzo anche per i pazienti ambulatoriali.

Oggi la tecnologia ha fatto ulteriori notevoli passi avanti, miniaturizzando le tecnologie analitiche. Sono così stati prodotti strumenti di laboratorio portatili o palmari, che consentono di eseguire un ristretto numero di analisi di laboratorio: gasanalisi e pH, emoglobina, glucosio, sodio, potassio, creatinina, e poche altre.

Ma il loro numero andrà certamente aumentando. Tempi di risposta rapidissimi al letto del malato sono un lusso fino a pochi anni fa inimmaginabile.

Il laboratorista accorto non deve restare legato al grande strumento automatico, rifiutando la possibilità offerta al clinico di avere in tempo reale una risposta ad un quesito clinico talora vitale.

Il laboratorista deve seguire le conoscenze tecnologiche, e mantenere nelle sue mani l'impostazione dell'utilizzo di tali tecnologie, ed affidare ai tecnici di laboratorio la manutenzione della nuova strumentazione ed il controllo di qualità.

Il rischio dello strumento utilizzato dal clinico è la credibilità dello strumento stesso: il clinico è più portato a credere al risultato dell'analisi eseguita al letto del malato, anche se non è stato eseguito alcun controllo di qualità, piuttosto che al risultato di analisi eseguita in laboratorio.

Dunque è compito del laboratorio garantire al clinico che l'analisi, ovunque eseguita, abbia la medesima credibilità. E non solo: compito del laboratorio è concordare con il clinico le analisi da eseguire per determinate patologie, al letto del malato o in laboratorio, e quali analisi di conferma debbano essere effettuate per concludere un iter diagnostico che il solo clinico, con lo strumento palmare, non è in grado di affrontare.

L'interpretazione delle analisi di laboratorio

Non è scopo di questo volume descrivere in dettaglio ogni possibile interpretazione di tutte le analisi di laboratorio. E' tuttavia possibile affrontare il problema nei suoi aspetti generali, mettendo in luce soprattutto le situazioni che incidono sulla variabilità dei risultati.

In buona sostanza, per interpretare correttamente il risultato di un'analisi, occorre prendere in considerazione almeno le seguenti caratteristiche:

- la variabilità biologica interindividuale: ogni metabolita è presente in concentrazioni anche assai diverse fra soggetti diversi;
- la variabilità biologica intraindividuale: variazioni delle condizioni di vita; utilizzo di metaboliti maggiore in ore della giornata, giorni del mese, mesi dell'anno provocano variazioni nel corso della giornata o di periodi più lunghi;
- terapie in atto, sovente non dichiarate: in corso di terapia marziale (ferro) dosare il ferro ematico (sideremia) dà risultati assai elevati, fin quando il ferro assunto non venga distribuito nei tessuti di deposito;
- condizioni fisiologiche, quali la gravidanza e l'età pediatrica hanno influenze notevolissime sulla concentrazione di numerosissime sostanze: 10 g/dL di emoglobina non sono indice di anemia in gravidanza ed in alcune fasce di età dell'infanzia;
- la variabilità preanalitica:
 - comportamenti alimentari ed esercizio fisico possono indurre variazioni molto ampie: si pensi agli enzimi liberati da muscoli sottoposti ad esercizio non abituale (CK, LDH), che possono simulare un infarto miocardico o fare sospendere la preparazione ad un intervento chirurgico per timore di ipertermia maligna (CK);
 - modalità di prelievo: mancato riposo nei minuti precedenti il prelievo di sangue, laccio emostatico troppo stretto con conseguente eccessiva stasi venosa, prelievo difficile e lungo, con iniziale coagulazione del sangue, provetta con anticoagulante non corretto;
 - modalità di conservazione del campione in reparto ed in laboratorio: temperatura, luce, scuotimenti, tempo eccessivo possono variare in modo significativo parametri ematici;
 - modalità di esecuzione dell'analisi: metodo analitico, controllo di qualità, e così via;

- sensibilità e specificità di ciascun tipo di analisi e di ciascun metodo analitico;
- valori di riferimento;
- modalità e tempi di refertazione: occorre ricordare che il valore di un test va riferito non al momento in cui questo viene letto, ma al momento del prelievo; nel frattempo le condizioni cliniche possono essere variate.

Tecnologia, efficienza ed efficacia diagnostica

Sovente si ritiene che alta tecnologia significhi aumento dei costi. Per contro alcuni ritengono che un ampio utilizzo dell'informatica significhi possibilità di ridurre il personale.

Poiché tuttavia i due fatti non possono essere disgiunti nella realtà dei fatti, l'avanzato utilizzo dell'informatica e della tecnologia e dell'automazione non portano d'abitudine né ad un contenimento dei costi, né ad un loro incremento. Portano ad un notevole incremento dell'efficacia.

Tutto ciò può avvenire se dietro l'utilizzo dell'informatica e dietro l'utilizzo della tecnologia avanzata esiste una mente organizzatrice e coordinatrice che consenta di utilizzare al meglio le risorse umane e quelle tecnologiche.

I risultati possono essere ottenuti solo grazie al coinvolgimento di tutto il personale che deve comprendere l'obiettivo di efficienza e di miglioramento della qualità rendendosi disponibile ad una grande flessibilità.

Anche la garanzia di qualità e soprattutto del miglioramento continuo della qualità vengono sovente ritenute fonte di incremento delle spese.

Una frase molto utilizzata, ma reale, è: i costi della non qualità sono assai elevati.

E' ormai nota e da tutti convenuta l'importanza della diagnostica di laboratorio, quale insostituibile supporto alla diagnostica clinica. L'evoluzione della tecnologia porta a rendere disponibile un sempre maggior numero di analisi, i cui costi ovviamente gravano sulle spese generali dell'ospedale.

E' peraltro nota una certa ridondanza nell'utilizzo della diagnostica di laboratorio. E' dunque di estrema importanza che il clinico e il laboratorista concordino profili diagnostici per patologia. Ciò ha indubbi vantaggi sull'utilizzo finale della diagnostica di laboratorio:

- possono essere scelti a tavolino i test di laboratorio che abbiano reale significato clinico in determinate patologie, escludendo di comune accordo analisi poco utili richieste in emergenza;
- l'accordo fra clinico e laboratorista sui test da richiedere fa sì che non

vengano dimenticate analisi importanti, e non vengano aggiunte analisi di scarsa utilità clinica in quella particolare condizione: ne guadagna in tranquillità e serenità il clinico, che può dedicare maggiore attenzione alla rilevanza del sintomo;

- viene superato il timore di problemi medico-legali che troppo sovente distrae il clinico dalla attenzione per il malato, in quanto le analisi sono state concordate lontano dal momento dell'emergenza clinica;
- l'eliminazione dai profili diagnostici di alcune analisi non indispensabili o che nel tempo sono state superate per significato diagnostico da altre, fa sì che, sui grandi numeri, si possano ottenere economie di scala dell'ordine di alcune decine o centinaia di migliaia di euro l'anno. Fra le analisi di dubbio significato clinico almeno nel loro più frequente utilizzo è in primo luogo l'azotemia, cui non è più riconosciuto particolare significato nella diagnostica renale, ma che mantiene inalterata tutta la sua importanza nello studio del bilancio azotato, soprattutto nei pazienti a lungo ospedalizzati o in nutrizione parenterale. Questi risparmi si tradurranno in migliore efficacia diagnostica quando i risparmi vengano impiegati nell'esecuzione di nuove e più utili analisi.

L'informatizzazione e la tecnologia avanzata, se utilizzate al meglio, consentono di ottenere tempi di risposta estremamente brevi per un ampio numero di analisi di laboratorio. Analisi di ematologia, di coagulazione, di chimica clinica che costituiscono nel loro insieme l'80% delle analisi di un laboratorio ospedaliero possono essere consegnate con un tempo di risposta mediamente inferiore ad un'ora.

A ciò deve corrispondere un'organizzazione che preveda che il giro di visita dei malati da parte dei medici del reparto venga eseguito avendo già disponibili l'80% delle analisi di laboratorio, il cui prelievo è stato eseguito in quella stessa mattinata. Eventuali test di conferma potranno essere addirittura eseguiti nella giornata stessa.

Considerata l'esigenza di abbreviare al massimo le degenze ospedaliere è chiaro come il contributo della tecnologia sia di estrema importanza nel consentire un miglioramento dell'efficienza.

E' da considerare efficacia diagnostica quella che consente ad un ambulatorio endocrinologico di visitare i pazienti nella mattinata stessa in cui è stato eseguito il prelievo per le indagini sul metabolismo tiroideo. In tal caso il malato può tornare a casa con un eventuale aggiustamento della terapia, ottenendone un miglioramento generale della malattia, una riduzione dell'ansia, una convivenza più umana con la malattia e con l'ospedale.

La sicurezza

La sicurezza sul luogo di lavoro è un diritto per il lavoratore ed un dovere per il datore di lavoro. Il D.L. 626/94, forse la legge più nota nel mondo del lavoro, prende in esame tutte le norme da seguire per garantire la sicurezza a sé ed agli altri.

E' necessario conoscere tale legge, e partecipare a momenti di formazione sulla sicurezza. E' importante ricordare che ciascuno è responsabile della sicurezza propria e degli altri, dal momento in cui viene informato sui rischi, formato sulle modalità per ridurli, e messo in condizione di poterli ridurre.

Sono necessari dispositivi di protezione individuale, quali i guanti, per maneggiare materiale biologico potenzialmente infetto o prodotti chimici. E' obbligo per il datore di lavoro fornire i guanti, è obbligo per il lavoratore utilizzarli.

Quali materiali biologici devono essere considerati potenzialmente infetti? Un tempo i laboratori richiedevano che le provette di pazienti affetti da epatite virale fossero marcate con un bollino rosso, per distinguerle dalle altre "normali". Fortunatamente tale pratica è terminata.

Oggi si sa che esiste un periodo finestra, sierologicamente negativo ma di massima potenzialità infettante, nell'epatite virale come in altre malattie trasmissibili quale ad esempio l'AIDS.

Pertanto tutti i materiali biologici devono essere considerati potenzialmente infetti. Adottare precauzioni solo per le indagini sierologiche dei pazienti ricoverati nel reparto di malattie infettive significa esporsi al contagio del sangue degli stessi malati quando eseguiamo la glicemia.

E' bene accogliere i nuovi assunti o frequentatori con una lettera in cui vengono fornite informazioni sulle norme di sicurezza. E' bene poi dotare il laboratorio di un manuale della sicurezza (appendice).

Nella lettera occorre spiegare i rischi biologici, chimici, da radiazioni, e così via, ed invitare il neofita a prendere visione del manuale per la sicurezza, che in forma cartacea o informatica deve essere consultato. L'ospedale deve organizzare un corso per la prevenzione dei rischi.

Devono essere comunicate le funzioni: il dirigente, responsabile per la sicurezza, i preposti, cioè gli incaricati di verificare sul campo i rischi; i DPI (dispositivi di protezione individuale), i cartelloni sul rischio biologico, le stazioni di pronto soccorso oculare, la disposizione delle coperte antifiamma, dell'idrante, degli estintori, e così via.

Nella lettera, il laboratorio deve essere descritto nei suoi obiettivi e nella sua composizione, organigramma, organizzazione. L'ignoranza di tutto ciò è fonte di maggiore rischio di errore, di difficoltà di rapporti, di incidenti sul lavoro.

Segreto professionale e privacy

Da decenni il segreto professionale per il medico ed il segreto d'ufficio per chiunque svolga un'attività lavorativa sono regolati da leggi. Di recente la legge sulla privacy ha riportato l'attenzione su alcuni aspetti di riservatezza che occorre rispettare. Non mi dilungo a discutere sull'argomento, ma propongo la lettura di alcuni stralci di una disposizione interna emanata da me per il personale del laboratorio. Essa non riguarda solamente la privacy, ma anche i rapporti con il pubblico.

L'atteggiamento verso il pubblico deve essere sempre professionale: qualunque cedimento viene immediatamente colto come fatto negativo (indugiare a lungo prima di dare ascolto senza dare cenno di avere visto l'interessato, parlare ad alta voce, criticare altri, e così via). Lo sportello deve essere sempre presidiato nell'orario pubblicizzato.

Esistono leggi che regolano il segreto: il segreto professionale, il segreto d'ufficio, la privacy. Cito a memoria: chiunque in occasione del proprio lavoro venga a conoscenza di fatti che possano comunque danneggiare altri è tenuto al segreto. In tal senso è fondamentale una attenzione particolare in un ambiente quale quello di un grande Ospedale, dove tutti si conoscono e dove le parentele fra dipendenti e pazienti sono frequenti.

Il fatto di danneggiare qualcuno può talora coincidere con la semplice informazione data: sì, la tal persona è venuta da noi ieri per un prelievo. Non conosciamo le situazioni familiari, di lavoro, di rapporti interpersonali che possono essere danneggiate da informazioni che noi consideriamo banali. Non solo, dunque, un test di gravidanza non dovrà mai essere consegnato ad un fidanzato, ad un padre o una madre, ma neppure il fidanzato, il padre o la madre hanno diritto ad avere risposta alla domanda se un test di gravidanza è stato eseguito per una certa persona.

Cortesìa non significa dire sempre sì: alla richiesta di informazioni non dovute deve corrispondere un cortesissimo rifiuto (ad esempio: "il primario ha dato queste disposizioni")

Il problema delle comunicazioni telefoniche di risultati può essere risolto con le regole e molto buon senso. Le regole sono quelle dettate per i pazienti in terapia anti-coagulante orale: nome e cognome, data di nascita, giorno del prelievo. Se il medico curante chiede i risultati, occorre prima accertarsi che si tratti realmente del medico: il riconoscere la voce, la dichiarazione del numero di codice regionale, la conoscenza

di tutti (o quasi) gli esami richiesti per quel paziente dimostreranno la realtà. Ogni dubbio di veridicità dovrà essere affrontato con un cortesissimo rifiuto di fornire informazioni. I medici del Laboratorio sono a disposizione per eventuali problemi di rapporti esterni. Chiunque dia informazioni ad un medico su analisi eseguite è tenuto a comunicare il proprio ruolo professionale, ed a segnalare (se l'analisi è incompleta o non ancora consegnata) che il risultato non è ancora passato alla revisione critica del laureato addetto alla firma.

La consegna di un referto deve essere sempre fatta nel seguente modo:

- Chiudere il referto (la responsabilità dell'apertura sarà quindi di chi apre un documento contenente dati sensibili) in busta o mediante adeguata pinzatura.
- Accertarsi dell'identità di chi ritira mediante il foglio di ritiro ed un documento, o la firma per delega e il documento di chi è delegato al ritiro.
- L'eccezione sta nella dimenticanza del foglio di ritiro: la dimostrazione con documento di essere il diretto interessato è sufficiente; un risultato può essere consegnato ad un delegato esclusivamente se esibisce il foglio di delega ed un documento.

Occorre capire quando chi ci sta di fronte non ha diritto ad ottenere le informazioni che vorrebbe. Anche l'eccedere nel dare informazioni non espressamente richieste può costituire violazione della presente regola. Il mancato rispetto di questa riservatezza è da decenni previsto nel codice penale (e mi ripeto): chiunque in occasione del proprio lavoro venga a conoscenza di fatti che possano comunque danneggiare altri è tenuto al segreto.

Il dipartimento

Il dipartimento è una creatura del D.L. 502/92. Si tratta di un tipo di organizzazione cui occorre mentalmente abituarsi, perché va al di fuori di schemi che ci siamo portati dentro per decenni.

Va premesso che le responsabilità diagnostiche rimangono di chi ha eseguito l'analisi, e del primario che ha scelto con i suoi collaboratori strumenti e metodi analitici.

Molti aspetti organizzativi possono invece essere modificati rispetto al passato. Si pensi quanto sovente, negli ospedali esistono uguali strumenti in diversi laboratori, o analoghe analisi eseguite in duplicato da reparti che reciprocamente ignorano ciò.

Sovente il paziente è costretto a rivolgersi a diversi laboratori per ottenere il completamento di un iter diagnostico solamente perché le analisi vengono eseguite in diversi laboratori di uno stesso ospedale.

Lavorare in un dipartimento significa riunificare metodologie analitiche disperse su più laboratori, raggruppare uffici di segreteria per essere unici interlocutori verso l'esterno, in sostanza mettere insieme le forze. Se condotto in modo concreto e sensato, il dipartimento consente risparmi di gestione che possono essere reinvestiti per affrontare nuove metodologie diagnostiche.

Consente soprattutto di migliorare l'accessibilità ai servizi: si pensi, per il reparto di ricovero, alla possibilità di eseguire un'unica richiesta per qualunque analisi di laboratorio; si pensi, per il paziente ambulatoriale, alla possibilità di rivolgersi ad un unico interlocutore anziché essere costretto a girovagare per l'ospedale alla ricerca di chi esegue una particolare analisi.

Dipartimento significa, forse, rinunciare ciascuno ad una piccola quota di apparente autonomia, al fine di ottimizzare l'impiego delle risorse, cioè non disperdersi in attività ripetitive e per questo dispendiose.

Vi sono alcuni settori della diagnostica di laboratorio che, per aspetti locali o storici, fanno parte ora del Laboratorio analisi, ora del Servizio immunotrasfusioanle, ora dell'Anatomia patologica: si tratta ad esempio dei settori di autoimmunità, di virologia, di coagulazione, di immunometria.

Ritengo che occorra, per ciascuna situazione, stabilire con assoluta disponibilità quale sia la migliore collocazione di tali settori in quella determinata situazione ospedaliera. E' inutile, per questioni di principio, trasferire una competenza acquisita in anni di lavoro e di dedizione. E' dannoso costituire un nuovo settore, dappione del primo, in un altro laboratorio, anche se apparentemente più idoneo.

E' opportuno studiare congiuntamente la situazione all'interno del dipartimento, e trovare la migliore soluzione per il malato e per l'economia generale dell'ospedale.

Le società scientifiche

Le società scientifiche hanno costituito la storia della medicina di laboratorio, come di tutte le altre branche della medicina, insieme alla letteratura specialistica.

Grazie alle società scientifiche è stato possibile confrontarsi con altre realtà, scambiare opinioni, pareri, esperienze con i propri colleghi di altre città e nazioni. Senza di esse, il progresso sarebbe stato assai più lento.

Oggi le società scientifiche hanno mutato il loro modo di essere, poiché gli scambi di esperienze e conoscenze non hanno bisogno di attendere il congresso annuale, ma avvengono in tempo reale grazie a Internet ed alla posta elettronica.

Se occorre un parere su un determinato argomento, si può lanciare un appello sulle liste di posta elettronica lette da numerosi colleghi, e nel giro di pochi giorni ottenere le informazioni necessarie.

I convegni sono utili soprattutto per cementare conoscenze e amicizie, scambiare impressioni, predisporre comuni filoni di sviluppo scientifico.

I momenti di informazione scambiata sono dunque più impersonali, ma enormemente più rapidi. D'altra parte, l'aggregazione nasce e cresce proprio all'interno delle società scientifiche.

Nella realtà italiana, le società scientifiche di laboratorio sono le seguenti:

- AIPaC: Associazione Italiana Patologi clinici
- AMCLI: Associazione Microbiologi Clinici Italiani
- SIBIOC: Società Italiana di Biochimica e Biologia molecolare clinica
- SIMeL: Società Italiana di Medicina di Laboratorio
- SIMeL-STeLB: Sezione dei Tecnici di Laboratorio Biomedico della SIMeL.

Oltre a queste, tipicamente di laboratorio, esistono alcune altre Associazioni scientifiche di altre branche della diagnostica e della medicina: quelle di medicina trasfusionale e quelle di anatomia patologica.

Un po' troppe società scientifiche, forse? Ritengo di sì. Alcune delle associazioni citate prevedono la presenza di soli medici, altre di tutti i laureati. A

vario titolo, di queste società scientifiche fanno parte i tecnici di laboratorio, fulcro dell'attività analitica.

Negli anni scorsi, gli anatomo-patologi italiani hanno trovato modo di riunire le varie società scientifiche che dividevano le varie loro componenti (universitari, ospedalieri, citologi, istologi).

Mio augurio è che le diverse componenti del laboratorio sappiano nei prossimi anni trovare una convergenza di intenti che superi le differenze di opinioni.

Conclusione

Un vecchio zio magistrato mi disse che preferiva il giudizio civile a quello penale, perché in quello penale si trovava troppo spesso a dover decidere su ciò che considerava il bene supremo per l'essere umano: la libertà.

Ho scelto di fare il medico per cercare di dare il mio contributo ad un altro bene certamente molto alto nella scala dei valori dell'uomo: la salute.

Fare il laboratorista e avere come punto centrale delle proprie attenzioni la salute dell'individuo è ciò che deve dare l'impronta alla nostra concezione del lavoro. In realtà il cardine della nostra attività deve essere il malato, con il suo bisogno di salute. Tutto quanto di umanamente possibile, volto a migliorare le condizioni fisiche e psichiche del malato, deve essere messo in atto.

Ciò significa vedere il laboratorio come elemento compartecipe della diagnosi e della cura del malato, adattando la propria organizzazione a questo obiettivo. Là dove la variabilità biologica lo consenta, il laboratorio non può imporre orari di accettazione dei campioni destinati esclusivamente alla salvaguardia delle proprie abitudini.

Il laboratorio non è un grande magazzino con un'ampia varietà di prodotti fra cui scegliere.

Il laboratorio deve consigliare, fra le proprie analisi, quella giusta per quell'individuo con quella determinata patologia, deve saperne eseguire alla perfezione l'analisi, deve sapere interpretare il risultato per il suo migliore impiego clinico, deve prevedere i percorsi diagnostici per le analisi patologiche, deve consegnare il risultato delle analisi al medico richiedente in tempo utile perché egli possa prendere i giusti provvedimenti diagnostici e terapeutici, trovando l'organizzazione per fargli pervenire i risultati prima ancora che egli senta la necessità di richiederli al laboratorio.

Troppo spesso l'attenzione del laboratorista è stata destinata al miglioramento della qualità analitica. Nella massima parte dei casi questa ha raggiunto e superato le esigenze cliniche, e altri sono gli obiettivi primari per il laboratorio.

La scelta dei metodi analitici in relazione alle esigenze cliniche è dunque

uno degli aspetti fondamentali del nostro lavoro: un coefficiente di variazione bassissimo è certamente meno utile per la cura del malato rispetto ad un'analisi consegnata in tempi estremamente rapidi e clinicamente utili seppure con un coefficiente di variazione più elevato.

La centralità del malato nel nostro lavoro ci deve portare a rendere disponibili, facilmente leggibili e interpretabili analisi utili per la popolazione che si rivolge a noi, adattando la gamma delle analisi alle patologie emergenti.

Il laboratorista deve conoscere le ampiezze della variabilità biologica per ogni analisi, e la sua variabilità analitica, proponendo al clinico e concordando con lui le analisi che abbiano un reale significato per ogni forma patologica.

Gli argomenti da trattare sarebbero stati altri cento. Lo scopo di questo volume non è dare un'approfondita informazione scientifica sui vari tipi di analisi di laboratorio. Il suo scopo è comunicare, a chi in laboratorio vive e a chi il laboratorio utilizza, impressioni, convincimenti, certezze, che mi hanno portato ad organizzare la vita del laboratorio sfruttando al massimo la tecnologia esclusivamente in funzione del malato e delle sue esigenze di salute.

Il Laboratorio di domani

Non sono un indovino, ma mi prefiguro il laboratorio come lo frequenterò da paziente nei prossimi anni di vecchiaia.

Laboratori ne vedrò pochi, e di grandi dimensioni: le provette viaggiano più in fretta in autostrada che dal sesto al primo piano di un grande ospedale.

Medici, ritengo, ne vedrò pochi: funzione del medico sarà sempre più la consulenza (troppo se ne è parlato, troppo poco se ne è fatto finora), il collegamento con la clinica. Sempre meno vedremo medici dentro i laboratori, mai nei turni di reperibilità e di guardia. Esistono professionalità che possono assai bene vivere nel laboratorio: biologi, chimici, soprattutto tecnici con laurea professionalizzante.

I tecnici, a ragione, chiederanno nuovi spazi di azione intellettuale, e non solo marginalmente esecutiva ed analitica. Non credo che l'uso del microscopio sia vietato al tecnico! E allora sarà la volta di biologi e chimici, che dovranno crearsi nuove posizioni strategiche, se non vorranno avviare con i tecnici la guerra che per anni ha contrassegnato i rapporti fra medici e "laureati dei ruoli speciali".

E allora: il medico in ufficio a stilare protocolli con i clinici e con la direzione sanitaria, il biologo e il chimico a organizzare il laboratorio in accordo con il medico e con i tecnici, il tecnico a gestire completamente l'analisi e la sicurezza del campione e del risultato, l'ausiliario a centrifugare e mettere le provette in macchina.

Alta tecnologia, e distribuzione periferica di molti POCT, dalla sala prelievi del laboratorio stesso, all'ambulatorio decentrato rispetto all'ospedale, al reparto di dialisi e di rianimazione. Sempre sotto il controllo e la responsabilità del laboratorio? Certamente, è ora di farsi avanti.

Il medico, dunque, in ogni ospedale, sarà vicino al POCT e non al laboratorio centralizzato. Sarà il medico a chiedere al laboratorio centralizzato ciò di cui il clinico ha bisogno, e in che tempi, e con quali standard di qualità.

Il progresso costringerà finalmente a riconoscere in modo definito i ruoli di ciascun attore di quella grande risorsa intellettuale e sanitaria che è la medicina di laboratorio.

Letture consigliate

La Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana, e il Bollettino Ufficiale della Regione di appartenenza (per le norme di accreditamento, sicurezza, tariffazione, e così via)

Qualche testo classico:

- M F Beeler, P G Catrou: Interpretations in clinical chemistry. A textbook approach to chemical pathology. ASCP Press, Chicago, 1984
- Marco Bobbio: Giuro di esercitare la medicina in libertà e indipendenza – medici e industria. Einaudi, Torino, 2004.
- A Burlina: Guida clinica all'esame di laboratorio. Edizioni Medico Scientifiche, Torino, 1987.
- C A Burtis, E R Ashwood: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Saunders, Philadelphia, 1994.
- W G Guder, S. Narayanan, H Wisser, B Zawta: Samples: from the patient to the laboratory. Git Verlag, Darmstadt, 1996.
- J B Henry: Clinical diagnosis and management by laboratory methods, 20th edition. Saunders, Philadelphia, 2001.
- J H Hicks, D S Young: DORA '90-91: Directory of rare analyses. AACC Press, Washington, D.C., 1990
- D S Young: Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests. AACC Press, Washington, D.C., 1993
- R B Friedman, D S Young: Effects of disease on clinical laboratory tests. AACC Press, Washington, D.C., 1989
- D S Young: Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC Press, Washington, D.C., 1990

Qualche testo e articolo più specifico su alcuni argomenti trattati:

- G Bracco, C Ginardi, T Camilla, C Zuliani, C Garro: Can routine be as fast as emergency? Journal of the Association for Laboratory Automation (JALA) 2000, 5, 1: 58-59.
- G Bracco, G Dotti, S Pagliardini, G C Fiorucci: Gli screening neonatali. Caleidoscopio, Medical Systems. Genova, 1992.
- A Cameroto, F Carmignoto: I canoni di validità dei risultati di laboratorio richiesti come urgenti: rivisitazione del problema nell'era delle procedure. Biochimica Clinica 2000, 24: 53-58.
- E Peyronel, G C Fiorucci: Esami di laboratorio. Guida per l'interpretazione. Menarini, Firenze, 1998.
- M Plebani: Etica e qualità in medicina di laboratorio: dalla ricerca dei

modelli all'impegno dei professionisti. 2000 Centro Scientifico Editore, Torino, 2000.

- J C Silverstein, A S Rothschild: Clinical perspectives on the modern laboratory. Clinics in Laboratory Medicine 1999, 19 (2): 421-432.

Per chi vuole vivere l'ospedale con gli occhi del malato non autosufficiente:

- Sue Baier, Mary Zimmeth Schomaker: Bed number ten. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1989.

Ringraziamenti

La stesura di questo volume non avrebbe potuto essere immaginata senza utilizzare le capacità e l'impegno di numerosi collaboratori degli Ospedali e delle ASLin cui ho lavorato. Tutti loro hanno creduto, e credono, in una visione del laboratorio non solo tecnicistica ma soprattutto interpretativa, e hanno dato sostanziali e innovativi contributi al modello organizzativo programmato.

Indice

Editoriale	pag. 3
Prefazione	» 5
Introduzione	» 9
Il Laboratorio e il suo utilizzo in medicina	» 11
Progettazione di un Laboratorio	» 13
Personale	» 16
Strumenti	» 19
L'informatizzazione	» 22
Identificazione del paziente, del campione, della richiesta	» 24
La fase preanalitica	» 26
I rapporti con le ditte fornitrici	» 28
Organizzazione di un Laboratorio	» 30
I compiti del Laboratorio	» 41
Controllo di qualità	» 43
Certificazione e accreditamento	» 46
I metodi analitici	» 48
Il Laboratorio e l'ematologia	» 65
Il Laboratorio e la terapia anticoagulante orale	» 67
Gli enzimi muscolari (quale esempio di enzimologia diagnostica)	» 69
La distrofia muscolare	» 71
Il Laboratorio e la gravidanza	» 73
Il Laboratorio e gli screening neonatali	» 75
Il Laboratorio e la sindrome di down	» 77
Il Laboratorio e l'allergologia	» 78
Gli interventi chirurgici	» 79

Il Laboratorio e il diabete	» 81
Le dislipidemie	» 83
Il Laboratorio e il cancro	» 85
I trapianti di organo	» 87
Il Laboratorio e le malattie infettive	» 89
Il Laboratorio e lo sport	» 93
I valori di riferimento (un tempo detti valori normali)	» 94
La biologia molecolare	» 96
Il "POCT" (point of care test)	» 97
L'interpretazione delle analisi di laboratorio	» 99
Tecnologia, efficienza ed efficacia diagnostica	»101
La sicurezza	»103
Segreto professionale e privacy	»105
Il dipartimento	»107
Le società scientifiche	»109
Conclusione	»111
Il Laboratorio di domani	»113
Lecture consigliate	»114
Ringraziamenti	»115
Indice	»116

Caleidoscopio

Italiano

...il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

1. Rattu S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rattu S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rattu S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rattu S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rattu S.: *L'obesità*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P., Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali dell'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D., Girelli M.E., Zanatta G.P., Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La β -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimoimmunologico e fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rattu S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.
31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.

34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Caffero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriogonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterina nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica*. Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.

73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa*. Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radio - nuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Info - citi B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptococchi beta emolitici di gruppo B (SGB)*. Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodel - lamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*. Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori*. Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P., Romano L.: *Im - munoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da prin - cipi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella dia - gnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*. Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101. Cogato I., Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.
102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale*. Maggio '96.
103. Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giu - gno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tis - sutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative*. Ottobre '96.
106. Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.

107. Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108. Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109. Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110. Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.
111. Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112. Paleschi G., Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina*. Maggio '97.
113. Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114. Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115. Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116. Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117. Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.
118. Bartoli E.: *Le glomerulonefriti acute*. Gennaio '98.
119. Bufi C., Tracanna M.: *Computerizzazione della gara di Laboratorio*. Febbraio '98.
120. National Academy of Clinical Biochemistry: *Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide*. Marzo '98.
121. Fava G., Rafanelli C., Savron G.: *L'ansia*. Aprile '98.
122. Cinco M.: *La Borreliosi di Lyme*. Maggio '98.
123. Giudice G.C.: *Agopuntura Cinese*. Giugno '98.
124. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (I)*. Luglio '98.
125. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Basofili*. Settembre '98.
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: *Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo 1*. Novembre '98.
127. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (II)*. Dicembre '98.
128. Muzi P., Bologna M.: *Tecniche di immunoistochimica*. Gennaio '99.
129. Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: *Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivirali*. Febbraio '99.
130. Castello G., Silvestri I.: *Il linfocita quale dosimetro biologico*. Marzo '99.
131. Aiello V., Caselli M., Chiamenti C.M.: *Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - correlata*. Aprile '99.
132. Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: *Medicina Termale e Malattie Reumatiche*. Maggio '99.
133. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Eosinofili*. Giugno '99.
134. Fusco A., Somma M.C.: *NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*. Luglio '99.
135. Chieffi O., Bonferraro G., Fimiani R.: *La menopausa*. Settembre '99.
136. Giglio G., Aprea E., Romano A.: *Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi*. Ottobre '99.
137. Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: *Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati*. Novembre '99.
138. Giovanella L.: *Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica*. Dicembre '99.
139. Paladino M., Cerizza Tosoni T.: *Umanizzazione dei Servizi Sanitari: il Case Management*. Gennaio 2000.
140. La Vecchia C.: *Come evitare la malattia*. Febbraio 2000.
141. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Cellule dendritiche*. Marzo 2000.
142. Dammacco F.: *Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (I)*. Aprile 2000.

143. Dammacco F.: *Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (II)*. Maggio 2000.
144. Croce E., Olmi S.: *Videolaparoscopia*. Giugno 2000.
145. Martelli M., Ferraguti M.: *AllergoGest*. Settembre 2000.
146. Giannini G., De Luigi M.C., Bo A., Valbonesi M.: *TTP e sindromi correlate: nuovi orizzonti diagnostici e terapeutici*. Gennaio 2001.
147. Rassu S., Manca M.G., Pintus S., Cigni A.: *L'umanizzazione dei servizi sanitari*. Febbraio 2001.
148. Giovanella L.: *I tumori della tiroide*. Marzo 2001.
149. Dessì-Fulgheri P., Rappelli A.: *L'ipertensione arteriosa*. Aprile 2001.
150. The National Academy of Clinical Biochemistry: *Linee guida di laboratorio per lo screening, la diagnosi e il monitoraggio del danno epatico*. Settembre 2001.
151. Dominici R.: *Riflessioni su Scienza ed Etica*. Ottobre 2001.
152. Lenziardi M., Fiorini I.: *Linee guida per le malattie della tiroide*. Novembre 2001.
153. Fazio P.: *Dermatofiti e dermatofitosi*. Gennaio 2002.
154. Suriani R., Zanella D., Orso Giaccone G., Ceretta M., Caruso M.: *Le malattie infiammatorie intestinali (IBD) Etiopatogenesi e Diagnostica Sierologica*. Febbraio 2002.
155. Trombetta C.: *Il Varicocele*. Marzo 2002.
156. Bologna M., Colorizio V., Meccia A., Paponetti B.: *Ambiente e polmone*. Aprile 2002.
157. Corrao M., Paradiso A., Quaranta M.: *I Markers tumorali*. Maggio 2002.
158. Loviselli A., Mariotti S.: *La Sindrome da bassa T3*. Giugno 2002.
159. Suriani R., Mazzucco D., Venturini I., Mazzarello G., Zanella D., Orso Giaccone G.: *Helicobacter Pylori: stato dell'arte*. Ottobre 2002.
160. Canini S.: *Gli screening prenatali: marcatori biochimici, screening nel 1° e 2° trimestre di gravidanza e test integrato*. Novembre 2002.
161. Atzeni M.M., Masala A.: *La β -talassemia omozigote*. Dicembre 2002.
162. Di Serio F.: *Sindromi coronariche acute*. Gennaio 2003.
163. Muzi P., Bologna M.: *Il rischio di contaminazione biologica nel laboratorio biosanitario*. Febbraio 2003.
164. Magni P., Ruscica M., Verna R., Corsi M.M.: *Obesità: fisiopatologia e nuove prospettive diagnostiche*. Marzo 2003.
165. Magrì G.: *Aspetti biochimici e legali nell'abuso alcolico*. Aprile 2003.
166. Rapporto dello Hastings Center: *Gli scopi della medicina: nuove priorità*. Maggio 2003.
167. Beelke M., Canovaro P., Ferrillo F.: *Il sonno e le sue alterazioni*. Giugno 2003.
168. Macchia V., Mariano A.: *Marcatori tumorali nel cancro della vescica*. Luglio 2003.
169. Miragliotta G., Barra Parisi G., De Sanctis A., Vinci E.: *La Tuberculosis Polmonare: Diagnostica di Laboratorio*. Agosto 2003.
170. Aebischer T.: *Il Comitato Internazionale della Croce Rossa ed il Diritto Internazionale Umanitario*. Settembre 2003.
171. Martino R., Frallicciardi A., Tortoriello R.: *Il manuale della sicurezza*. Ottobre 2003.
172. Canigiani S. e Volpini M.: *Infarto acuto del miocardio: biochimica del danno cellulare e marcatori di lesione*. Novembre 2003.
173. La Brocca A., Orso Giaccone G., Zanella D., Ceretta M.: *Laboratorio e clinica delle principali affezioni tiroidee*. Dicembre 2003.
174. Savron G.: *Le Fobie*. Gennaio 2004.
175. Paganetto G.: *Evoluzione storica del rischio di patologie umane per contaminazione chimica ambientale*. Febbraio 2004.

176. Giovanella L.: *Iperparatiroidismo e tumori paratiroidei*. Marzo 2004.
177. Severino G., Del Zompo M.: *Farmacogenomica: realtà e prospettive per una "Medicina Personalizzata"*. Aprile 2004.
178. Arigliano P.L.: *Strategie di prevenzione dell'allergia al lattice nelle strutture sanitarie*. Maggio 2004.
179. Bruni A.: *Malattia di Alzheimer e Demenza Frototemporale*. Giugno 2004.
180. Perdelli F., Mazzarello G., Bassi A.M., Perfumo M., Dalleria M.: *Eziopatogenesi e diagnostica allergologica*. Luglio 2004.
181. Franzoni E., Gualandi P., Pellegrini G.: *I disturbi del comportamento alimentare*. Agosto 2004.
182. Grandi G., Peyron F.: *La toxoplasmosi congenita*. Settembre 2004.
183. Rocca D.L., Repetto B., Marchese A., Debbia E.A.: *Patogeni emergenti e resistenze batteriche*. Ottobre 2004.
184. Tosello F., Marsano H.: *Scientific English Handout*. Novembre 2004.
185. La Brocca A., Orso Giacone G., Zanella D.: *Ipertensione arteriosa secondaria: clinica e laboratorio*. Dicembre 2004.
186. Paganetto G.: *Malattie Neoplastiche: dalla Paleopatologia alle Fonti Storiche*. Gennaio 2005.
187. Savron G.: *La sindrome dai mille tic: il disturbo di Gilles de la Tourette*. Febbraio 2005.
188. Magrì G., Baghino E., Florida M., Ghiara F.: *Leishmania*. Marzo 2005.
189. Lucca U., Forloni G., Tiraboschi P., Quadri P., Tettamanti M., Pasina L.: *Invecchiamento, deterioramento cognitivo e malattia di Alzheimer*. Aprile 2005.
190. Volpe G., Delibato E., Orefice L., Palleschi G.: *Tossinfezioni alimentari e metodiche recenti ed innovative per la ricerca dei batteri patogeni responsabili*. Maggio 2005.
191. Mazzarello M.G., Albalustri G., Audisio M., Perfumo M., L. Cremonte G.: *Aerobiologia ed allergopatie*. Giugno 2005.
191. Mazzarello M.G., Albalustri G., Audisio M., Perfumo M., L. Cremonte G.: *Aerobiologia ed allergopatie*. Giugno 2005.
192. Scalabrino G., Veber D., Mutti E.: *Nuovi orizzonti biologici per la vitamina B12*. Luglio 2005.
193. Zeponi E.: *Guida pratica per gli utenti del laboratorio analisi*. Settembre 2005.
194. Faricelli R., Esposito S., Martinotti S.: *La sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi*. Ottobre 2005.
195. Baccini C., Bezzi F., Conti M., Tazzari V.: *Doping e antidoping nello sport*. Novembre 2005.
196. Lozzi M.: *La Mediazione pacifica dei conflitti. Una risorsa socio-relazionale in ambito medico-sanitario*. Dicembre 2005.



I volumi disponibili su Internet nel sito www.medicalsystems.it sono riportati in nero mentre in grigio quelli non ancora disponibili su Internet.

Inoltre sono disponibili un limitato numero di copie di alcuni numeri del Caleidoscopio che ormai sono "storiche". Qualora mancassero per completare la collana potete farne richiesta al collaboratore Medical Systems della Vostra zona. I numeri sono: Caleidoscopio 14, 18, 33, 40, 48, 49, 50, 54, 65, 68, 84, 100, 106, 118, 121, 126, 129, 130, 131, 132, 133, 134. I volumi verranno distribuiti sino ad esaurimento e non verranno ristampati se non in nuove edizioni.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 24, numero 197

Direttore Responsabile
Sergio Rasso
Tel. mobile 338 2202502
E-mail: sergiorasso@libero.it

Progettazione e Realizzazione

Restless Architect
of Human Possibilities s.a.s.

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Responsabile Ufficio Acquisti
Giusi Cunietti

Segretaria di Direzione
Maria Speranza Giola
Giovanna Nieddu

Servizio Abbonamenti
Maria Grazia Papalia
Flavio Damarciasi

EDITORE

...il futuro ha il cuore antico  **MEDICAL SYSTEMS SpA**

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. 010 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax 010/8340310- 809070.

Internet URL: <http://www.medicalsystems.it>

La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Caleidoscopio Illustrato,
Caleidoscopio Letterario, Giornale della Associazione per l'Automazione del Laboratorio,
Guida Pratica Immulite[®], Journal of Clinical Ligand Assay, Pandora,
Tribuna Biologica e Medica.

Stampa
LA STAMPA - Industrie Grafiche S.p.A.
Salita Pino Sottano, 3/C - Genova
Tel. 010 8360167 - Fax 010 8367321

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989
Iscrizione al Registro degli Operatori di Comunicazione (ROC) n° 1188

Finito di stampare: Gennaio 2006
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLASTAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano

