
BC

biochimica clinica

In questo numero:

**IL CONSOLIDAMENTO DEI SERVIZI
DI MEDICINA DI LABORATORIO**

Guest editors: Martina Zaninotto e Davide Giavarina



SIBioC - Medicina di Laboratorio
membro di

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)
European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM)



 **BIOMEDIA**
La condivisione del sapere

CAPILLARYS 3

...beyond separation

Tanti bisogni, una soluzione



Automazione per un ampio pannello analitico:

- Hb A1c sangue intero e sangue capillare
- Elettroforesi delle Sieroproteine e Proteine Urinarie
- Immunotipizzazione del Siero e Urine
- CDT/CDT_{IFCC}
- Elettroforesi delle Emoglobine su sangue intero
- Elettroforesi delle Emoglobine neonatali su dried blood spot*



L' Ospedale S. Giovanni Di Dio di Firenze racconta la sua esperienza con Capillarys 3 Tera MC3

* In sviluppo

sommario



EDITORIALE

123

Il consolidamento dei Servizi di Medicina di Laboratorio
M. Zaninotto, D. Giavarina, M.S. Graziani

RASSEGNE

125

La tele-ematologia nel consolidamento dei laboratori clinici
D. Giavarina, M. Carta

CONTRIBUTI SCIENTIFICI

135

Garantire la comparabilità dei risultati nel rispetto dei requisiti di qualità e delle esigenze organizzative: l'esempio di una procedura operativa
A. Padoan, G. Antonelli, A. Aita, L. Sciacovelli, M. Plebani

143

Analisi di laboratorio in un punto di primo intervento: l'esperienza di sei anni di Point-of-Care Testing
G. Micca, G. Patrucco

150

La fase pre-analitica dei campioni provenienti dal Pronto Soccorso: impatto della introduzione di un impianto di posta pneumatica nel miglioramento del tempo di risposta
V. Polesello, R. Dittadi, H. Afshar, G. Bassan, M. Rosada, L. Del Ninno, P. Carraro

OPINIONI

156

Laboratorio clinico: non sempre più grande è migliore
M. Plebani

162

Gli esami urgenti nel consolidamento dei laboratori: analisi decentrate, Point-of-Care and Near-Patient testing
M. Plebani

168

La valutazione delle prestazioni analitiche dei laboratori mediante programmi di valutazione esterna di qualità: una analisi multifattoriale
S. Secchiero, L. Sciacovelli, M. Baldon, M. Plebani

173

Il contributo dell'automazione alla qualità del consolidamento nei Servizi di Medicina di Laboratorio
G. Minola

DOCUMENTI

178

Siero o plasma? Un quesito non nuovo che attende risposte nuove
M. Plebani, G. Banfi, S. Bernardini, F. Bondanini, L. Conti, R. Dorizzi, C. Feo Ferrara, R. Mancini, T. Trenti

DOCUMENTI SIBioC

187

Raccomandazioni FISMeLab per il trasporto del materiale biologico
M. Zaninotto, B. Brando, A.M. Cenci, F. Crivelli, F. Curcio, R. Giardini, E. Magliano, V. Miconi, S. Stioui, E. Torresani, C. Ottomano

200

Raccomandazione congiunta EFLM-COLABIOCLI per il prelievo di sangue venoso
Traduzione a cura di G. Bonetti e D. Giavarina

228

Protocollo operativo per la verifica della comparabilità dei risultati di laboratorio ottenuti su più procedure analitiche
M. Vidali, A. Padoan, R. Dittadi per il Gruppo di Studio Statistica per il laboratorio, D. Brugnoli, A. Carobene, S. Mattioli per il Gruppo di Studio Qualità Analitica, L. Sciacovelli, F. Ceriotti per il Gruppo di Studio Qualità e Accreditamento.

sommario

RECENSIONI

244

Approccio alla chimica clinica
S. Brenna

NOTIZIE SIBioC

245

Lab Tests Online: un successo che parte da lontano
M. Berardi

248

In memoria del Professor Howard A. Morris
M.S. Graziani

249

2019 AACC Outstanding Contributions Through Service to the Profession of
Clinical Chemistry Award
M.S. Graziani

CASI CLINICI

e9

Astenia e urine intensamente colorate: una associazione da indagare
attentamente
V. Granero, G. Bourlot, A. D'Alessandro, E. Peyronel, L. Calosso, M.R. Cavallo

e12

Un effettivo vantaggio dello screening neonatale allargato
*C. Mazzaccara, A. Redi, L. Albano, S. Fecarotta, C. Flagiello, D. Crisci,
F. Acquaviva, G. Gallo, A. Nolano, B. Mirra, R. Pecce, G. Parenti, G.R.D. Villani,
M. Ruoppolo, G. Frisso*

e17

Utilità dell'esame citologico del liquido cerebrospinale
*C. Ferraris Fusarini, L. Maldari, A. Maregnani, M. Ammirabile, C. Sina,
R. Maiavacca, F. Ceriotti*

e20

Paziente pediatrico con oliguria e adenopatia cervicale: il ruolo degli analizzatori a
cattura di immagine per l'esame standard delle urine
*R. Anderlini, C. Canali, G. Manieri, N. Bigiani, W. Gennari, F. Zambelli, T. Trenti,
M. Varani*

save the date



51°



Congresso SIBioC
Medicina di Laboratorio

La Medicina di Laboratorio nella fragilità e la fragilità
della Medicina di Laboratorio

Laboratory Medicine in frailty and frailty of Laboratory Medicine

PADOVA

20-22 novembre 2019

Padova Fiere

un evento
organizzato da



BIOMEDIA
La condivisione del sapere

biochimica clinica

Rivista fondata da Norberto Montalbetti
e già diretta da Carlo Franzini

Rivista della Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica - Medicina di Laboratorio membro di

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)
European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM)

*Biochimica Clinica è indicizzata in Scopus (www.info.scopus.com), EMBASE (www.info.embase.com)
Engineering Village (www.ei.org), Reaxys (www.info.reaxys.com) e ESCI (www.wokinfo.com/products_tools/multidisciplinary/esci)*
*Biochimica Clinica is indexed in Scopus (www.info.scopus.com), EMBASE (www.info.embase.com)
Engineering Village (www.ei.org), Reaxys (www.info.reaxys.com) and ESCI (www.wokinfo.com/products_tools/multidisciplinary/esci)*

Editor-in-Chief

Maria Stella Graziani

Deputy Director

Martina Zaninotto

Associate Editors

Ferruccio Ceriotti
Davide Giavarina
Bruna Lo Sasso
Giampaolo Merlini
Martina Montagnana
Andrea Mosca
Paola Pezzati
Rossella Tomaiuolo
Matteo Vidali

International Advisory Board

Khosrow Adeli *Canada*
Sergio Bernardini *Italy*
Marcello Ciaccio *Italy*
Eleftherios Diamandis *Canada*
Kjell Grankvist *Sweden*
Hans Jacobs *The Netherlands*
Eric Kilpatrick *UK*
Magdalena Krintus *Poland*
Giuseppe Lippi *Italy*
Howard Morrish *Australia*
Mario Plebani *Italy*
Sverre Sandberg *Norway*
Ana-Maria Simundic *Croatia*
Jill Tate† *Australia*
Tommaso Trenti *Italy*
Cas Weykamp *The Netherlands*
Maria Willrich *USA*
Paul Yip *Canada*

Editorial Secretary

Arianna Lucini Paioni
biochimica.clinica@sibioc.it
Biomedica srl
Via L. Temolo 4
20126 Milano
Tel. 0245498282
Fax 0245498199
www.bc.sibioc.it

Responsible Editor

Giuseppe Agosta

Publisher

Biomedica srl
Via L. Temolo 4
20126 Milano
www.biomedica.net

SIBioC Executive Board 2018-2019

Fiamma Balboni
Umberto Basile
Sergio Bernardini *Presidente*
Marcello Ciaccio *Past President*
Giorgio Da Rin
Davide Farci Santarcangeli
Martina Montagnana
Michele Mussap
Antonello Nonnato
Laura Sciacovelli
Martina Zaninotto

Amministrazione e Pubblicità Business Office and Advertising

Biomedica srl
Via L. Temolo 4 - 20126 Milano
Tel. 0245498282



utilizza un Sistema di
Gestione Qualità
Certificato per l'attività di

Fornitura di servizi per la progettazione,
realizzazione e distribuzione di prodotti editoriali

Autorizzazione del Tribunale di Milano
n. 40 del 2.02.1987

Grafica e impaginazione

Biomedica srl
Via L. Temolo 4 - 20126 Milano

Stampa

GRAFICA BRIANTEA srl
20040 Usmate (MI)

Abbonamento annuo
Euro 50 per Italia/Privati
Euro 75 per Italia/Enti
Euro 75 per Estero/Privati
Euro 90 per Estero/Enti

Prezzo di un fascicolo Euro 5,16

Spedizione in abbonamento postale
D.L. 353/2003 (conv. in L. 27/02/2004
n. 46) art. 1, comma 1, LO/MI

Associato all'USPI
Unione Stampa
Periodica Italiana
Tiratura di questo
numero 2000 copie
2000 copies of this
issue have been printed
ISSN 0393-0564



L'utilizzo degli estratti dei lavori pubblicati è
consentito esclusivamente per uso personale
e non può essere in alcun modo esteso ad
altri impieghi (commerciali, pubblicitari, ecc).
La SIBioC - Medicina di Laboratorio si riserva
di perseguire eventuali utilizzi impropri.

Volume 43
Numero 2 - Giugno 2019

Milano, Maggio 2019

Cari Colleghi,

I laboratori clinici italiani stanno adottando per la determinazione delle troponine cardiache (cTnI e cTnT) metodi ad alta sensibilità, come raccomandato dalle più recenti linee guida internazionali. Infatti, il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction*, pubblicato nel Settembre 2018, stabilisce che il termine “danno miocardico” (*myocardial injury*) dovrebbe essere utilizzato nella pratica clinica quando vi è una evidenza di elevati valori di troponine cardiache (preferibilmente misurate con metodi ad alta sensibilità) con almeno un valore al di sopra del 99° percentile della popolazione di riferimento. Come ormai dimostrato da molti studi, il passaggio da metodi a bassa a quelli ad alta sensibilità per la cTnI o cTnT nella diagnosi differenziale delle sindromi coronariche acute può richiedere in alcuni centri ed istituzioni cliniche italiani una profonda revisione, non solo dei percorsi diagnostici e terapeutici dei pazienti, ma anche una differente organizzazione del Pronto Soccorso e dei Reparti Clinici. Infatti, le caratteristiche analitiche dei metodi ad alta sensibilità delle troponine cardiache hanno modificato nel corso degli anni non solo l’algoritmo della diagnosi differenziale di infarto acuto del miocardio e la comprensione della fisiopatologia dell’infarto del miocardio, ma anche sia la classificazione dei pazienti con sindrome coronarica acuta che il loro monitoraggio.

In più, la misura delle troponine cardiache sta assumendo una rilevanza sempre maggiore nella definizione di “danno miocardico” non solo ischemico.

Biochimica Clinica ritiene che tale tematica sia così rilevante per la professione da meritare una trattazione particolarmente approfondita; è stato così deciso di dedicare un numero monografico al tema delle prestazioni analitiche delle troponine cardiache e alla conseguente rilevanza clinica della loro determinazione. È infatti fondamentale che i laboratoristi (ma anche i clinici) siano informati non solo delle caratteristiche analitiche dei nuovi metodi di misura, ma anche delle possibili difficoltà di interpretazione dei valori del biomarcatore misurati nella pratica clinica. È importante sottolineare che gli studi clinici sono in genere effettuati in centri ad elevata specializzazione e che la selezione dei pazienti è spesso differente tra uno studio e l’altro. Di conseguenza, i risultati ottenuti in questi studi possono non essere completamente confrontabili con la reale situazione del nostro Paese, per cui occorre una stretta collaborazione tra clinici ed esperti di laboratorio per validare livelli decisionali e processi diagnostici più efficienti per ogni istituzione.

Chiediamo quindi a tutti coloro che hanno in corso esperienze o valutazioni da proporre sulle diverse tematiche coinvolte della monografia, di presentare i loro contributi allo scopo di condividerli con la comunità professionale italiana, concorrendo al chiarimento e possibilmente alla soluzione delle molte problematiche che questi cambiamenti hanno posto e porranno nel futuro.

Il termine per l’invio dei manoscritti è fissato per il 31 Dicembre 2019; questi saranno come sempre sottoposti all’esame da parte di revisori specializzati al fine di garantirne l’acceptabilità scientifica.

Con i più cordiali saluti

Maria Stella Graziani
*Editor in chief di Biochimica Clinica*Aldo Clerico
Martina Zaninotto
Guest Editors per il numero monografico

Il consolidamento dei Servizi di Medicina di Laboratorio

Martina Zaninotto¹, Davide Giavarina², Maria Stella Graziani³

¹Unità Operativa Complessa, Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università degli Studi-Padova

²Laboratorio Analisi, AULSS n. 8 Berica, Vicenza

³Sezione di Biochimica Clinica, Università di Verona.

La pressante necessità di ridurre i costi dei servizi sanitari in genere, e della medicina di laboratorio in particolare, ha da alcuni anni indotto ad avviare processi di riorganizzazione basati sulla centralizzazione dei servizi e sul consolidamento delle strutture. Tali cambiamenti hanno determinato una modifica rilevante nella organizzazione dei laboratori clinici. Tuttavia, sono carenti in letteratura, al momento, esperienze concrete sui benefici ottenuti nonché valutazioni dei rischi che questi cambiamenti possono avere sulla qualità del servizio erogato e sulla sicurezza del paziente. Non vi sono ad oggi evidenze che questi consolidamenti comportino un reale vantaggio economico, ed in ogni caso le valutazioni delle esperienze non possono certamente essere puramente economiche, basate solamente sul costo per esame, ma devono includere giudizi più complessi relativi alla qualità e alla utilità clinica del servizio erogato.

Inoltre, il consolidamento porta con sé una serie di sfide legate al trasporto dei campioni, al mantenimento della qualità dei campioni trasportati anche per percorsi talvolta lunghi, alla qualità analitica da garantire per un numero anche elevato di esami giornalieri, alla necessità di produrre referti standardizzati ma informativi sulla singola situazione clinica, tutti aspetti che meritano analisi e verifiche mirate.

Abbiamo ritenuto che tali temi fossero così rilevanti per la nostra professione, da meritare una trattazione estesa ed approfondita; è nato quindi il progetto di dedicare, nel 2019, un numero della rivista a questo specifico tema, al fine di sensibilizzare i nostri lettori su queste tematiche così rilevanti per il presente e il futuro della professione. A questo numero monografico è dunque dedicato il fascicolo N 2 del 2019, che è suddiviso nelle consuete sezioni.

Aprè il fascicolo una rassegna a cura di Giavarina D et al. sul ruolo della tele-ematologia all'interno dei processi di consolidamento (1), che analizza criticamente i vantaggi ma anche le problematiche della consulenza ematologica a distanza, resa indispensabile dalla necessità di disporre di una diagnostica

ematologica di secondo livello anche in sedi decentrate prive di specialisti adeguatamente formati. La tecnologia disponibile per la trasmissione delle immagini e soprattutto per la scelta delle immagini da trasmettere, non è ancora perfettamente adeguata allo scopo ma le nuove frontiere della intelligenza artificiale aprono nuove e molto promettenti prospettive.

Tre contributi originali affrontano temi di grande rilevanza. Padoan A et al. riportano l'esperienza del loro laboratorio per garantire la congruenza tra risultati di esami eseguiti su sistemi analitici diversi (o anche uguali), dislocati nella stessa sede o in sedi diverse (2). La comparabilità dei risultati all'interno di organizzazioni basate su modelli a reti integrate, è diventato un compito imprescindibile del professionista di laboratorio per assicurare qualità alle prestazioni erogate. Micca G et al. presentano una esperienza pluriennale sull'utilizzo di sistemi di Point of Care Testing (POCT) in un punto di pronto intervento decentrato rispetto al laboratorio centrale indicando le modalità per la costruzione del progetto e per il successivo monitoraggio della qualità delle prestazioni analitiche erogate (3). Infine, Polesello V et al. illustrano una modalità di trasporto campioni recentemente attuata che prevede il trasferimento di provette singole (4). Anche se la tipologia di trasporto non sembra particolarmente adatta al trasferimento di campioni tra sedi distanti tra di loro, la metodologia seguita per la valutazione dell'impatto del sistema sulla qualità del campione risulta di estremo interesse per analoghe valutazioni in situazioni che utilizzano sistemi diversi.

La sezione Opinioni include la traduzione di un contributo di Plebani M pubblicato nel 2018 su *Diagnosis (Berlin)* contenente una riflessione critica sull'impatto dei processi di consolidamento sulla qualità delle cure erogate; in particolare, l'Autore auspica uno spostamento della "attenzione sull'aspetto volumi ed efficienza ad una visione centrata sul paziente, che ripristina la natura dei servizi di laboratorio come parte integrante del processo diagnostico e terapeutico" (5). Una seconda Opinione, sempre di Plebani M, riguarda

Corrispondenza a: Maria Stella Graziani, Sezione di Biochimica Clinica, Università di Verona. E-mail mariastella@graziani.eu

Ricevuto: 12.05.2019

Accettato: 12.05.2019

Pubblicato on-line: 23.05..2019

DOI: 10.19186/BC_2018.048

considerazioni quanto mai opportune nel contesto dei progetti di consolidamento, relative alla qualità delle prestazioni analitiche erogate in regime di "urgenza/emergenza" nelle sedi decentrate, sottolineando la assoluta necessità di una governance da parte del laboratorio centrale su questo tipo di attività (6). L'Opinione di Secchiero et al. discute la necessità di avviare un processo di armonizzazione degli schemi di VEQ operanti in Italia, al fine di sostenere i professionisti di laboratorio sia nei processi di accreditamento, che nel garantire la affidabilità delle prestazioni analitiche erogate (7). Infine, viene riportata la visione di una ditta fornitrice di sistemi di automazione, che illustra le possibilità di una gestione efficiente di grandi realtà di laboratorio mediante l'automazione integrata dei processi (8).

Troviamo poi il documento redatto da un gruppo di professionisti che esamina vantaggi e svantaggi dell'uso della matrice sierica rispetto a quella plasmatica e propone un percorso per la corretta gestione del cambiamento da siero a plasma in diversi contesti analitici (9).

Chiudono il fascicolo monografico tre documenti societari. Il primo è un documento inter-societario, redatto da un gruppo di lavoro istituito dalla Federazione Italiana delle Società di Medicina di Laboratorio (FISMeLab) sulla problematica del trasporto del materiale biologico, tema di assoluta rilevanza all'interno delle organizzazioni in rete dei laboratori. Il documento è corredato da tabelle con raccomandazioni per il trasporto dei campioni da sottoporre ad analisi nell'ambito delle diverse specialità di laboratorio (10). Il secondo è la traduzione italiana (a cura di Bonetti G e Giavarina D di una raccomandazione EFLM per la corretta esecuzione del prelievo venoso e per l'armonizzazione di questa attività, pre-requisito indispensabile per l'ottenimento di un campione biologico di buona qualità a garanzia della produzione di risultati accurati (11). Chiude il numero monografico il documento SIBioC (redatto dai gruppi di studio Statistica, Qualità Analitica e Qualità & Accreditamento) che contiene le raccomandazioni societarie per verificare l'allineamento strumentale (12). Il documento contiene il protocollo per la verifica della comparabilità dei risultati tra procedure di esame, identiche o differenti, caratterizzato da quattro diversi disegni sperimentali particolarmente utili per coloro che devono affrontare questa problematica.

La medicina di laboratorio in Italia (e non solo) sta vivendo anni tumultuosi dove il consolidamento, l'automazione, la riduzione delle direzioni, la diffusione della diagnostica decentrata per la garanzia dei punti di primo soccorso e di assistenza residenziale, la delocalizzazione, e tutti gli altri corollari a questi grandi temi determinano una continua sfida professionale e organizzativa. È peraltro necessario operare in modo che le scelte che i professionisti della medicina di laboratorio sono chiamati a fare, ora e nel prossimo futuro, non influenzino negativamente in nessun modo la qualità analitica e clinica delle prestazioni erogate dai laboratori clinici.

Le esperienze riportate nel fascicolo potranno non essere particolarmente interessanti nè esaustive per ogni problema sul campo; le opinioni probabilmente non tutte condivisibili e le raccomandazioni (intese come strumenti utili per gestire questi complessi processi) eccessive o perfettibili. Tuttavia, l'occasione per riflettere su ciò che stiamo facendo, la possibilità di confrontarsi con esperienze simili, e di ragionare anche per confutare le opinioni dei colleghi, ed infine disporre di qualche utile strumento di indirizzo ci sono sembrati stimoli sufficienti per dedicare un intero numero della rivista a questo tema.

Con questi auspici vi auguriamo buona lettura.

BIBLIOGRAFIA

1. Giavarina D, Carta MR. La tele-ematologia nel consolidamento dei laboratori clinici. *Biochim Clin* 2019;43:125-34.
2. Padoan A, Antonelli G, Aita A, et al. Garantire la comparabilità dei risultati nel rispetto dei requisiti di qualità e delle esigenze organizzative: l'esempio di una procedura operativa. *Biochim Clin* 2019;43:135-42.
3. Micca G, Patrucco G. Analisi di laboratorio in un punto di primo intervento: l'esperienza di sei anni di Point-Of-Care Testing. *Biochim Clin* 2019;43:143-9.
4. Polesello V, Dittadi R, Afshar H, et al. La fase pre-analitica dei campioni provenienti dal Pronto Soccorso: impatto della introduzione di un impianto di posta pneumatica nel miglioramento del tempo di risposta. *Biochim Clin* 2019;43:150-5.
5. Plebani M. Laboratorio clinico: non sempre più grande è migliore. *Biochim Clin* 2019;43:156-61.
6. Plebani M. Gli esami Urgenti nel consolidamento dei laboratori: analisi decentrate, "Point-of-Care and Near-Patient testing". *Biochim Clin* 2019;43:162-7.
7. Secchiero S, Sciacovelli L, Baldon M et al. La valutazione delle prestazioni analitiche dei laboratori mediante programmi di valutazione esterna di qualità: una analisi multifattoriale. *Biochim Clin* 2019;43:168-72.
8. Minola G. Il contributo dell'automazione alla qualità del consolidamento nei servizi di Medicina di Laboratorio. *Biochim Clin* 2019;43:173-7.
9. Plebani M, Banfi G, Bernardini G, et al. Siero o plasma? Un quesito non nuovo che attende risposte nuove. *Biochim Clin* 2019;43:178-86.
10. Zaninotto M, Brando B, Cenci AM, et al. Raccomandazioni FISMeLab per il trasporto del materiale biologico. *Biochim Clin* 2019;43:187-99.
11. Simundic AM, Bolenius K, Cadamuro J, et al. Raccomandazione congiunta EFLM-COLABIOCLI per il prelievo di sangue venoso. *Biochim Clin* 2019;43:200-27.
12. Vidali M, Padoan A, Dittadi R et al. per i Gruppi di Studio Statistica per il Laboratorio, Qualità Analitica, Qualità e Accreditamento di SIBioC. Protocollo operativo per la verifica della comparabilità dei risultati di laboratorio ottenuti su più procedure di esame. *Biochim Clin* 2019;43:228-43.

La tele-ematologia nel consolidamento dei laboratori clinici

Davide Giavarina, Mariarosa Carta

Laboratorio Analisi, AULSS n. 8 Berica, Vicenza

ABSTRACT

Tele-haematology in the consolidation of clinical laboratories. Haematological laboratory diagnostics could benefit widely from telematics, but some critical issues need to be addressed for a successful organization. Image transmission is probably the most critical item. In fact, specific competences are required for the selection of the samples to be reviewed, preparing of the slides, choosing fields and cells to be examined, and so on. The transmission of the entire blood film could be a good solution, but it is not yet available for laboratory haematology, while expert automated systems are nowadays ready for high performance processes without the need of specific skills.

Digitization of laboratory haematology can harmonize the activities utilizing the same rules of selection of the preparations to be reviewed, and for the control, verification and validation of the analysed samples and finally for reporting. It offers support for consultancy and training. When these needs involve different sites far from each other, the transmission of data and images effectively requires automation technologies for preparing and reading the preparations, information technologies for an integrated management of all the necessary data helpful for the diagnosis and a suitable network to make communications travel in suitable quantities and speeds.

The new frontiers of artificial intelligence will probably have a greater role both in the management of process, in the verification of automatic validations, and finally in the recognition of pathological morphological patterns. All this tools cannot replace the specialized expertise in the final supervision of haematological diagnoses, but will allow simpler, faster and safer management of haematological analyses and revisions, meeting the changing needs of modern laboratory medicine.

ANALISI DEL CONTESTO

I servizi di medicina di laboratorio si sono evoluti nel corso degli ultimi 50 anni in modo tumultuoso. Da settori annessi alle cliniche, sono diventati vere e proprie unità operative distinte che, successivamente nel corso degli anni, 70-80, si sono organizzate in settori specialistici e sub-specialistici. L'emocitometria è stata sicuramente tra le prime specialità a caratterizzarsi come settore definito e autonomo, dove tecnologie dedicate e competenze specifiche delineavano un ambito irrinunciabile di qualsiasi laboratorio, piccolo o grande che fosse. Nelle strutture più grandi nascono anche sub-specialità, come la citometria per l'immunofenotipizzazione cellulare e la diagnostica delle emoglobinopatie. Nel frattempo, la necessità di gestire un numero sempre più crescente di prestazioni e di richieste urgenti e non, pone nuovi e maggiori problemi organizzativi.

Negli anni '90 si assiste ad una significativa iniziale

crisi del sistema, che porta alla prima grande riforma del sistema sanitario nazionale, dopo la sua creazione nel 1978 (1).

Per i laboratori di analisi cliniche l'automazione, che in quegli anni si affaccia al mondo della diagnostica in vitro, pare essere la soluzione più opportuna e rapidamente i laboratori si riorganizzano, sfruttando soluzioni di integrazione, per rispondere adeguatamente alla mutata richiesta di alta produttività ad elevati standard di qualità.

La specialità di Ematologia di laboratorio è tuttavia interessata solo marginalmente da questi profondi mutamenti. La rivoluzione tecnologica nella fase analitica era avvenuta già negli anni precedenti, prima con la diffusione di metodi di conteggio automatici accurati, poi con la possibilità di differenziare le popolazioni cellulari sulla base delle caratteristiche fisiche ma anche con tecniche citochimiche e citofluorimetriche. Invero, nei primi anni '90, alcune soluzioni tecnologiche di gestione informatica delle

Corrispondenza a: Davide Giavarina, Laboratorio Analisi, AULSS n. 8 Berica, Viale Mons. Rodolfi 37. 36100, Vicenza. Tel 0444-753254; E-mail davide.giavarina@aulss8.veneto.it

Ricevuto: 26.01.2019

Revisionato: 27.02.2019

Accettato: 24.03.2019

Pubblicato on-line: 16.04.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.032

analisi (software dedicati, sistemi esperti e *middleware*), che prevedevano la possibilità di selezionare automaticamente i campioni da rivedere al microscopio ottico sulla base di parametri quantitativi, ma anche su parametri qualitativi, anagrafici e di provenienza, associando anche l'allestimento automatico dei preparati (striscio del vetrino automatizzato), cambiano anche per questo settore i processi, migliorando notevolmente la standardizzazione. Tuttavia, il "settore emocitometria", anche se con una struttura più dinamica, rimane generalmente ben definito nei suoi confini, negli specialisti, nelle strumentazioni, e nelle sedi di produzione.

È l'inizio di questo millennio a determinare il rovesciamento di tutti i cardini su cui i laboratori clinici si erano basati fino a quel momento. Il sistema sanitario per continuare a garantire contemporaneamente la sostenibilità, la qualità e la sicurezza delle cure in una ovvia necessità di equità territoriale per la cittadinanza, si riorganizza nelle reti ospedaliere e nelle nuove aziende sanitarie. I laboratori sono particolarmente colpiti da queste logiche e ai laboratori è richiesto nuovamente di "riorganizzarsi" (termine che diverrà un mantra fino ai giorni nostri), con un ulteriore incremento di attività e di rapidità delle risposte a tutti i livelli, mantenendo invariate le risorse, soprattutto quelle umane. La possibilità di spostare i campioni biologici fa ritenere conveniente e relativamente semplice la concentrazione degli esami in grandi strutture, mantenendo solamente gli esami "urgenti", a risposta rapida, presso i punti di erogazione delle cure.

Questi modelli sono tuttora oggetto di grandi discussioni.

Un ulteriore elemento critico, aggiuntosi negli ultimi anni al contesto generale, è la riduzione degli specialisti di medicina di laboratorio all'interno dei sistemi sanitari. Se è vero che le competenze ematologiche sono molto diffuse e comuni tra i dirigenti di laboratorio, è altrettanto vero che il numero complessivo di specialisti si è fortemente ridotto nel corso degli ultimi 20 anni. Dopo un periodo di crescita quasi esponenziale, dagli anni '90 ad oggi, si è registrata una continua e progressiva contrazione sia del numero di laboratori (il 70% in meno in regione Veneto), sia del personale, in tutte le figure professionali, sia dirigenti sia tecniche, operata attraverso blocchi del *turn-over* e progressivi ridimensionamenti.

La carenza degli specialisti sta divenendo oggi critica. La situazione, anche se non drammatica come per la diagnostica in vivo, rappresenta una nuova sfida e pone problemi di copertura, in particolare per la garanzia delle prestazioni che non possono essere concentrate facilmente nei laboratori di riferimento, come è per l'emocitometria. Oltre alla contrazione degli organici e alla diminuzione del numero degli specialisti, di rilievo è infine il problema della minore appetibilità delle sedi *spoke* ad attrarre nuovi medici.

IL PROCESSO DELLA DIAGNOSTICA TELE-EMATOLOGICA DI LABORATORIO

Nei paragrafi successivi, indicheremo con tele-ematologia i processi di diagnostica ematologia in vitro, che prevedano lo spostamento delle informazioni tra sedi diverse e dove lo specialista possa trovarsi in "remoto" rispetto al paziente e al campione biologico.

In ogni luogo ove vi siano pazienti da curare, è necessario avere almeno alcuni esami di laboratorio disponibili. Tra questi, l'esame emocromocitometrico è forse tra i primi e più richiesti. Nelle zone di decentralizzazione della medicina di laboratorio, che tuttavia spesso mantengono elevati livelli di cure, sia per gravità che per complessità, questi esami possono tuttavia essere talora eseguiti da personale di laboratorio con preparazione solo di base, oppure con strumentazioni che necessitano di supporto tecnico e infine i risultati possono aver bisogno di essere interpretati.

In particolare, l'esame dello striscio periferico e, talora, di strisci del midollo osseo sono essenziali per alcune malattie, in particolare quelle ematologiche. Anche se tecnicamente semplice, questo esame morfologico richiede una notevole capacità ed esperienza, sia tecnica, nella preparazione dei preparati, sia specialistica nella lettura. In qualche caso, come nella emblematica leucemia promielocitica acuta, il riconoscimento rapido della condizione, che si associa spesso ad una coagulazione intravascolare disseminata che può essere fatale, è di vitale importanza. Ma nei centri periferici una opportuna valutazione e una diagnosi solida è talora condizione necessaria anche per decisioni meno critiche ma comunque importanti, come ad esempio una pseudo-piastrinopenia che, se non segnalata, può esporre il paziente ad un inutile rischio trasfusionale e/o a percorsi diagnostici-terapeutici inappropriati e dannosi, oppure una corretta valutazione di un quadro anemico o leucopenico, di leucocitosi o di valutazione differenziale in corso di malattie infettive, anche solo per un trasferimento del paziente alle strutture specialistiche di riferimento. Poiché molte condizioni patologiche possono essere chiarite da informazioni ottenibili dall'esame emocromocitometrico, in particolare se comprensivo anche di nuovi parametri definiti di "conta estesa" su specifici e dedicati canali di analisi, dalla valutazione della morfologia delle cellule nel sangue periferico e dalla possibilità di aggiungere approfondimenti di tipo qualitativo/quantitativo per la presenza di blasti o eritroblasti, pericolosi ritardi possono essere evitati solamente se la consulenza esperta del laboratorio è prontamente disponibile (2).

Spesso il trasferimento dei campioni dalle sedi *spoke* all'*hub* non è una soluzione in grado di dare sufficiente sicurezza alle cure, soprattutto per gli esami per i quali la risposta necessita di tempi rapidi, come è per l'emocromo.

Una componente chiave per migliorare la qualità dei laboratori con limitate risorse, soprattutto umane, è stabilire una efficace connessione con il laboratorio

centrale, in grado di fornire supporto in termini di diagnosi e di risoluzione di problemi. Riveste quindi un ruolo fondamentale la tele-ematologia, ovvero la trasmissione a distanza di dati e immagini ematologiche, per fini di diagnosi, consulenza o formazione.

Volendo analizzare un processo di tele-ematologia "tipo", sorge la necessità di descrivere prima un processo standard, all'interno di un'unica sede, con tutti i livelli di tecnologia e competenza necessari. La Tabella 1 rappresenta schematicamente un flusso semplificato dei diversi passaggi nel processo di analisi di un campione ematologico in un laboratorio clinico. Lo schema evidenzia i punti fondamentali, che richiedono competenze sia tecniche che diagnostiche. Quando tutte le competenze sono presenti nella stessa sede, il processo procede lineare e continuo.

Nella Tabella 2 viene rappresentata l'ipotesi in cui alcune competenze non siano presenti nella sede dove è processato il campione, ma siano allocate in un'altra sede. Questa schematizzazione chiarisce una peculiarità propria della diagnostica tele-ematologica, rispetto ad altre diagnostiche in telemedicina: la necessità di più di un passaggio di comunicazione, da sorgente a ricevente. Serve un primo accesso per la validazione dei parametri di base (conteggi e concentrazioni) e per la selezione degli eventuali preparati da rivedere; serve poi un secondo accesso per la lettura e la valutazione della morfologia cellulare e

quindi un ultimo accesso per il rilascio dei risultati.

La lettura dei vetrini ematologici costituisce un elemento critico in questo modello, per due aspetti principali: la lettura fisica del preparato, che richiede competenze specifiche o complessi strumenti di automazione, e la completezza delle immagini trasmesse. Questi due elementi impattano sulle tecnologie necessarie, sui tempi di esecuzione, sulle dimensioni dei dati scambiati. Le soluzioni sono oggi essenzialmente da ricercarsi nella tecnologia, sia informatica (IT) che di automazione.

L'evoluzione della tecnologia

Nella verifica e refertazione dei risultati di emocitometria esiste un vincolo fondamentale, legato all'analisi della morfologia cellulare. Un elemento che ha rallentato le possibilità di percorsi telematici e remoti di validazione, è stato l'aver sviluppato tecnologie e strumentazioni che classificano le cellule sulla base di caratteristiche chimico-fisiche prese singolarmente o in combinazione, invece di basarsi sull'analisi delle immagini e sulla loro digitalizzazione. Invero, agli inizi dell'era moderna dell'ematologia di laboratorio, dopo la scoperta e l'applicazione di metodi di conteggio cellulare (metodo Coulter su tutti) (3), i primi tentativi di una classificazione automatica dei leucociti si basavano sull'analisi di immagini al microscopio ottico (4). Negli

Tabella 1

Schematizzazione semplificata del processo per l'esecuzione di un esame emocromocitometrico in un'unica sede di laboratorio, inserita nella sede della richiesta clinica

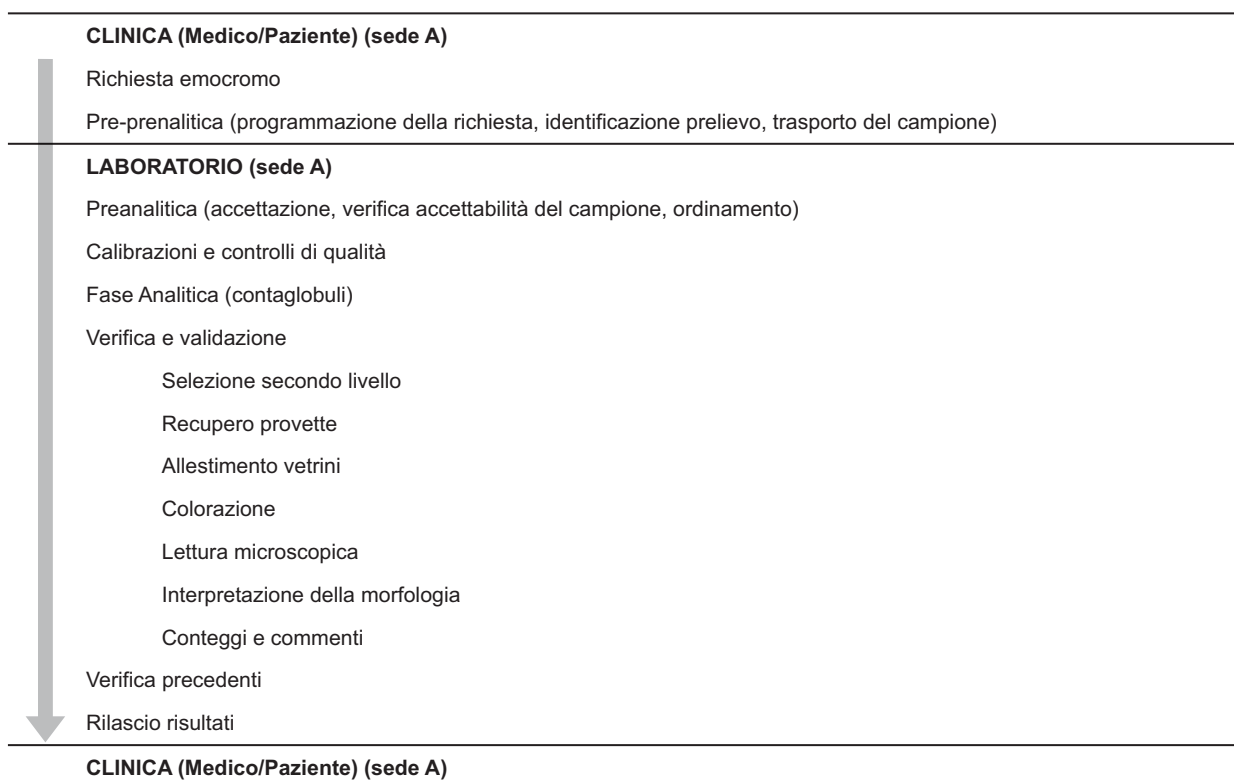
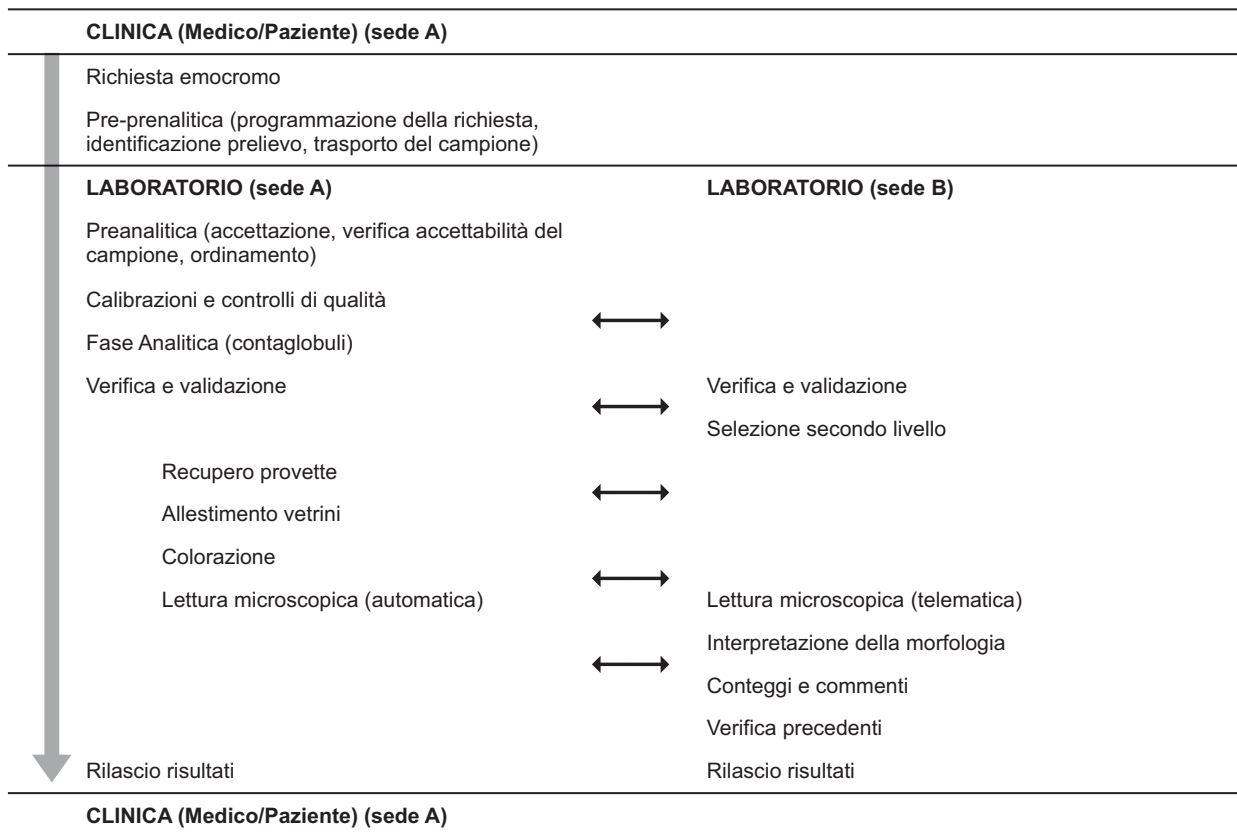


Tabella 2

Schematizzazione semplificata del processo per l'esecuzione di un esame emocromocitometrico richiesto in una sede periferica (sede A), con specialisti di ematologia presso un altro laboratorio di riferimento (sede B)



anni '70 lo strumento LARC è stato venduto in tutto il mondo da Corning (Medfield, Massachusetts, USA) come il primo strumento in grado di eseguire il conteggio differenziale dei leucociti in modo automatico. I leucociti venivano classificati in 6 categorie, attraverso una scansione regolare e ad alto ingrandimento (immersione a olio, 100x) di un vetrino colorato. Il sistema dichiarava di poter leggere 100 cellule al minuto, una prestazione straordinaria per i tempi. Le immagini erano salvate ad una risoluzione molto bassa, solo 50x50 pixel, a causa dei limiti delle schede di memoria (5). La tecnologia della microscopia virtuale automatizzava il percorso "umano" di revisione. Tuttavia questo approccio fu presto abbandonato, per l'imporre di un'altra tecnologia, basata sulla citometria a flusso. Serviranno più di 30 anni perché tecniche di cattura di immagini vengano riproposte nella routine clinica (6), e più di 40 per un nuovo progetto di conteggi basati sulla microscopia digitale automatizzata (7).

Invece, la citometria a flusso ha rivoluzionato l'analisi emocromocitometrica. Hemalog D (Technicon Corporation, Tarrytown, USA) è stato il primo strumento a offrire una soluzione percorribile per l'analisi differenziale dei leucociti, integrata con un conteggio completo degli eritrociti, leucociti e delle piastrine. Era uno strumento integrato, in grado di misurare i leucociti in conteggio differenziale in un sistema a flusso

continuo, attraverso la colorazione selettiva (perossidasi per i granulociti, alcian blue e l'esterasi per l'identificazione di basofili e monociti rispettivamente) (8) e la misurazione dimensionale di 10 000 cellule in 60 secondi (9). I conteggi differenziali automatizzati avevano il vantaggio di offrire precisione, efficienza, sicurezza ed economia, e la citometria a flusso si è rapidamente imposta con numerose varianti tecnologiche associate: impedenzometria, citofluorimetria, colorazioni e denaturazioni selettive, *scatter* della luce a angoli multipli, e altri. Tuttavia, per quanto queste tecniche si siano affinate e perfezionate, l'analisi delle anomalie cellulari, associate a patologie proliferative e non, richiedeva e richiede ancora oggi la revisione morfologica sul vetrino, come lo era 30 anni fa (10).

Non potendo prescindere dalle immagini microscopiche per il completamento del giudizio diagnostico, la loro digitalizzazione è quindi ritornata ad essere interessante, grazie anche ai miglioramenti tecnologici e informatici, non solo nei processi di consulto tra pari, ma anche nell'insegnamento e nell'apprendimento, e infine per il miglioramento dell'accuratezza diagnostica (11).

La digitalizzazione delle immagini, attraverso la fotografia e la registrazione dai microscopi, offre interessanti vantaggi: le immagini possono essere riprodotte e distribuite in modo semplice ed economico;

possono essere prontamente archiviate e non vengono degradate durante l'archiviazione; le immagini digitali si adattano bene a ulteriori elaborazioni, annotazioni o analisi; immagini di rare condizioni morfologiche possono essere facilmente condivise. Ma soprattutto, le stesse immagini possono essere visualizzate da osservatori in siti distanti o in tempi diversi (12). Questa possibilità apre la strada alla tele-ematologia, intesa come il trasferimento diagnostico dall'area di esecuzione delle analisi ad un punto remoto. Ma per una efficace diagnosi, oltre alle immagini devono essere trasferiti contestualmente tutti i dati del paziente e quelli misurati dal contaglobuli. Sorge l'esigenza di cartelle ematologiche e di *middleware*, in grado di integrare tutte le informazioni utili per il singolo paziente: informazioni anagrafiche, provenienza, richiesta, esami e riscontri precedenti, parametri misurati dei contaglobuli, allarmi morfologici o strumentali, altri parametri biochimici correlati, e infine immagini registrate della morfologia cellulare del sangue periferico. In realtà, l'integrazione delle immagini è arrivata in un secondo momento, mentre per tutte le altre informazioni, comprese anche quelle relative alla fase analitica strettamente definita (calibrazioni, controlli di qualità, tracciabilità, controlli di processo, e così via), i *middleware* di ematologia sono stati tra i primi modelli di gestione integrata delle informazioni in medicina di laboratorio. Oggigiorno, l'integrazione delle informazioni in software gestionali è comune per molti settori del laboratorio clinico, ma è soprattutto in emocitometria che questi strumenti diventano irrinunciabili per la grande mole di informazioni e dati da integrare, al punto da rappresentare un forte elemento competitivo tra i fornitori di sistemi per l'emocitometria (13).

Anche se la disponibilità di macchine fotografiche montate nei microscopi ottici risale a molti anni prima, Lafia (Sysmex, Kobe, Japan) (2) è uno dei primi sistemi a proporre l'importazione automatica di tali immagini all'interno del file del paziente, integrandole con tutti gli altri dati e offrendo la messa in rete di diverse stazioni *middleware*, tra loro comunicanti attraverso reti interne o esterne (14).

Lafia è stato essenzialmente un primo progetto di IT, applicata all'ematologia di laboratorio. Nonostante le soluzioni di IT e della rete internet fossero oramai disponibili, le proposte di tele-ematologia attraverso la digitalizzazione diretta delle immagini del microscopio non hanno tuttavia preso piede, per una essenziale limitazione: occorre competenza specifica anche per selezionare le immagini significative da valutare. In assenza di competenze specialistiche, serve una ulteriore componente per una diagnostica ematologica da remoto: una standardizzazione dei processi, attraverso l'automazione e l'intelligenza artificiale.

I primi microscopi automatici per l'ematologia appaiono sulla scena agli inizi del 2000 (15,16). Essi integrano funzioni automatiche di spostamento del vetrino, messa a fuoco e cattura delle immagini con funzioni "intelligenti" di selezione e scelta delle cellule da

fotografare. Questi sistemi hanno sicuramente potenzialità maggiori rispetto ai precedenti e sono oggetto di molti più studi e applicazioni. Tuttavia, la strada per la realizzazione di compiute reti di tele-ematologia è ancora lunga e molte sono ancora le criticità.

Determinanti di successo

La diagnostica ematologica mediante l'uso degli attuali sistemi digitali di analisi delle immagini è facile da utilizzare e idonea agli scopi di un laboratorio di emocitometria che debba ottimizzare l'efficienza (17) e ridurre il *Turn Around Time* (TAT) (18), non solo per la serie leucocitaria (19), ma anche per la serie eritrocitaria, dove può rilevare la maggior parte delle anomalie morfologiche dei globuli rossi in modo sensibile e specifico senza aumentare il carico di lavoro (20,21). Nonostante la bassa sensibilità dei sistemi oggi disponibili per la rilevazione del parassita malarico precluda la possibilità di utilizzare questa tecnologia per lo screening, tuttavia la buona correlazione con la microscopia e l'innegabile riduzione del TAT, può risultare utile anche nel monitoraggio della parassitemia (22,23).

Anche se la valutazione delle immagini da parte di un osservatore esperto rimane necessaria, le prestazioni dei lettori digitali sono risultate essere equivalenti a quelle dei lettori umani in alcuni esercizi di VEQ (24), e qualche esperienza ha addirittura portato a sostenere che la diagnostica supportata dalla tecnologia può migliorare le prestazioni diagnostiche (25,26).

Grazie ai recenti miglioramenti nelle scansioni e nella gestione dell'analisi di eritrociti e piastrine (17), la transizione alla tecnologia delle immagini digitali dal metodo convenzionale per l'esecuzione dei conteggi differenziali periferici delle cellule del sangue è quindi oggi possibile (27). Ma in una gestione "remota" del processo diagnostico ematologico, le cose sono un po' più complicate.

I limiti nella piena realizzazione della tele-ematologia sono quindi principalmente nella gestione delle immagini da catturare. La cosa potrebbe risultare abbastanza sorprendente, considerando come oggi le immagini siano gestite con relativa facilità in un'altra area diagnostica, la radiologia, dove la telemedicina è oramai diffusa e consolidata. Due sono però le principali differenze tra medicina di laboratorio e diagnostica radiologica. La prima è che in radiologia oggi l'immagine nasce digitale, e l'intero quadro di immagini è registrato in bit. Questo consente di trasmettere tutte le immagini senza la necessità di selezione "competente". Le immagini ematologiche invece nascono ancora oggi analogiche e la digitalizzazione è un processo che richiede tempo (e competenza), con le attuali tecnologie. La seconda considerazione è che la diagnostica in vitro è spesso "*figlia di un dio minore*", per cui anche solo acquisire risorse di memoria digitale costituisce un problema. Eppure, la digitalizzazione delle immagini microscopiche sarà sempre più una necessità, e non

solo per l'ematologia di laboratorio. Sistemi di digitalizzazione totale per l'anatomia patologia sono di fatto alle porte e già disponibili, offrendo una scansione totale dei preparati (28), ma ciò non è ancora molto diffuso e per il momento non è offerto al mercato dell'ematologia di laboratorio.

Nella impossibilità attuale di catturare digitalmente l'intero quadro morfologico dei preparati, ottimizzare i diversi momenti dell'analisi morfologica rimane un'esigenza irrinunciabile. Quattro sono le fasi critiche, per la garanzia della qualità delle immagini e della loro valutazione, tanto più quando meno disponibili sono le competenze nella sede remota (Figura 1): la tecnica di allestimento del vetrino, la tecnica di colorazione, la cattura delle immagini, la trasmissione. Tutte queste fasi sono da ottimizzare in termini di automazione e di IT (Tabella 3).

Nell'allestimento del vetrino è critica la deposizione del sangue, la velocità e l'angolo del vetrino strisciante (o le tecniche alternative di deposizione), le modalità e i tempi di asciugatura/fissaggio per la colorazione; concentrazioni, tamponi e tempi debbono essere standardizzati tra le diverse sedi e nel tempo. È stato dimostrato che la preparazione manuale dei vetrini, rispetto ad una preparazione automatica, può ridurre l'accuratezza nella lettura del 72% (2).

Oggi l'utilizzo dei sistemi automatici di allestimento dei vetrini è molto diffuso e quindi questi due primi punti paiono non essere particolarmente critici e/o comunque facilmente superabili.

Maggiormente critica è invece la cattura delle

immagini, sia nella tecnologia dei sistemi, per la qualità delle immagini, sia nell'automazione, per il movimento del vetrino sul traslatore, il cambio dei campi e delle lenti per le focali, la scelta dei campi e delle cellule significative, la scelta delle risoluzioni opportune e infine la definizione del numero di immagini da trasmettere.

Pochi anni fa Gulati et al. avevano proposto tre livelli di analisi dei preparati microscopici in emocitometria: il primo, per una valutazione di accettabilità e di conferma, senza conteggi e senza analisi di figura patologiche (ad esempio verifica della esclusione di presenza di aggregati piastrinici, crioagglutinine/rouleaux, eosinofilia, basofilia); il secondo, per il conteggio differenziale dei leucociti (attività oggi limitata ai casi in cui i conteggi non possano essere eseguiti dal contaglobuli, o debbano essere verificati); l'ultimo, la revisione vera e propria del vetrino, per la valutazione completa dell'emocromo (29). È discutibile se questa suddivisione possa essere di qualche impatto nei processi di tele-ematologia. Ad esempio, le prestazioni che si ottengono con i conteggi cellulari in citometria a flusso sono molto più accurate di qualsiasi conteggio manuale al microscopio, per l'assoluto maggior numero di eventi contati per campione. Per alcune linee cellulari è stata dimostrata l'insufficienza anche delle immagini digitalizzate relativamente ai conteggi, come ad esempio per i monociti (30). Analogamente, anche i conteggi su altri fluidi corporei, specie se a basse concentrazioni, trovano oggi migliori prestazioni nella citometria a flusso; anche in questo campo il riconoscimento morfologico automatico non è ancora ottimale (31).

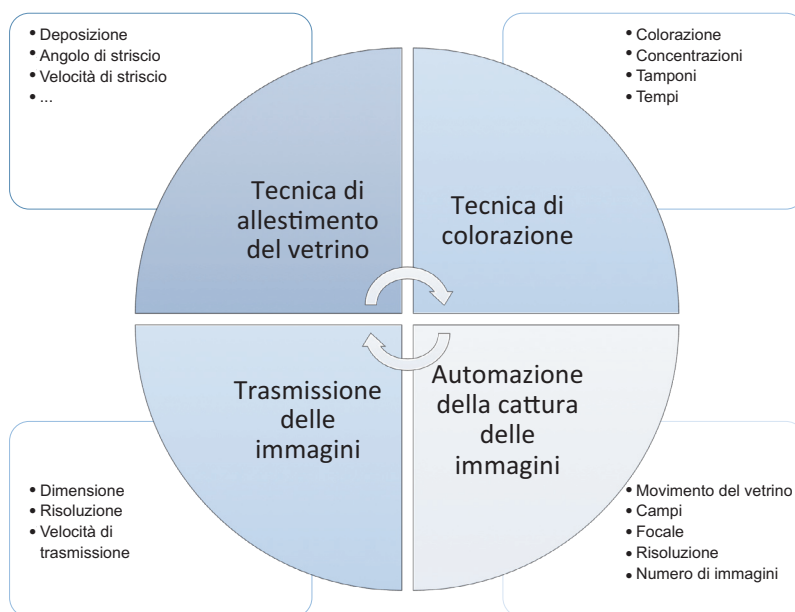


Figura 1.

Fasi nel processo di valutazione morfologica in emocitometria, per la garanzia della qualità delle immagini e della loro valutazione.

Tabella 3*Determinanti di successo per la realizzazione di una efficace rete di tele-ematologia*

Determinante	Punti qualificanti
Selezione automatica dei preparati da rivedere	Sistema esperto di ematologia Stesse regole in ogni punto della rete ematologica
Automatismo dell'allestimento	Standardizzazione delle procedura di allestimento e colorazione Identica qualità e caratteristiche dei vetrini, ovunque preparati Selezione secondo livello
Automatismo della lettura della immagini	In linea, automatico, integrato con i contaglobuli Senza necessità di competenze umane specifiche (messe a fuoco, risoluzione, selezione campi) Alta velocità di acquisizione Sistemi di intelligenza artificiale per la pre-classificazione, la scelta dei campi, la tipologia di lettura, e così via Trasmissione di tutta l'immagine possibile
Sistema gestionale di diagnostica ematologica in vitro	Integrazione dati paziente, campione, contaglobuli, morfologia Controllo dati e flags Controllo/Gestione Immagini Controllo remoto Flessibilità organizzativa
Network	Tempo reale Banda disponibile Indipendenza dalla sede

Sicuramente, una trasmissione il più possibile completa delle immagini disponibili garantirebbe ogni livello di diagnostica e le migliori prestazioni di riconoscimento e concordanza tra operatori diversi. Quando invece occorre scegliere le immagini da digitalizzare e inviare, servono conoscenze e competenze specifiche, oppure soluzioni di intelligenza artificiale, in grado di riconoscere pattern specifici e fare pre-classificazioni, in confronto a librerie di riferimento. Ma anche con immagini preselezionate, maggiore è il numero di immagini registrate e trasmesse, migliore sarà la valutazione. In questo entra il quarto punto: le potenzialità della rete nella trasmissione dei dati e l'architettura della rete. Le infrastrutture telematiche non sono tuttora diffuse in tutti i territori nazionali con la stessa potenza e capillarità. Con una sanità sempre più digitale, i pazienti sarebbero a rischio se il sistema dovesse interrompersi. Servono quindi ridondanza di reti e dati, monitoraggio continuo, procedure di emergenza chiare e condivise, formazione degli operatori e pianificazione di collaudi periodici. Il 6 luglio 2016, il Parlamento Europeo ha adottato la Direttiva (UE) 2016/1148 recante misure per un livello comune elevato di sicurezza delle reti e dei sistemi informativi nell'Unione. Il documento si colloca

all'interno di una strategia europea che mira a rafforzare la *cyber security* e la resilienza informatica dell'Unione. Partendo dalla constatazione che le reti e i sistemi informativi svolgono un ruolo centrale nella società, la Direttiva sancisce come sia necessario garantirne l'affidabilità e la sicurezza. Un qualsiasi progetto informatico, quindi, non può prescindere da un'adeguata infrastruttura tecnologica, che rappresenta un elemento essenziale per garantire livelli di sicurezza congrui. In sanità a maggior ragione occorre verificare ed eventualmente progettare l'infrastruttura, ma anche garantirne la continuità operativa, anche in caso di problemi tecnici parziali o totali. I progetti di tele-ematologia, non possono pertanto essere affrontati solamente dai laboratori, ma debbono essere condivisi e pianificati nelle strategie aziendali. La forte tendenza alla digitalizzazione totale della sanità è tuttavia motivo di fiducia per la disponibilità, affidabilità e sicurezza di questa fondamentale infrastruttura.

NOVITÀ E FUTURO

I sistemi di tele-ematologia oggi disponibili sul mercato hanno tre temi di sviluppo: il gestionale in rete,

l'automazione, la cattura delle immagini. In tutti questi ambiti l'intervento di regole e sistemi esperti rappresenta un filo comune di sviluppo sia gestionale sia di *decision-making*.

I *middleware* stanno progressivamente migrando da strutture *client-server* a strutture *web-based*, dove l'accesso alle informazioni e alle azioni può essere distribuito e agito in ogni sede, non solamente nella sede centrale o in collegamento fisico diretto. Le strutture *web-based* consentono inoltre un accesso indipendente dall'hardware e una conseguente maggiore flessibilità e accessibilità. Nei *middleware* è sempre più spinta l'integrazione con tutti i dati che possono completare e dirimere la verifica e la validazione dei campione e la diagnosi per il paziente.

Le automazioni oggi possono integrare non solamente più strumenti, ma anche l'allestimento dei vetrini, la loro colorazione e infine la cattura delle immagini. L'IT riveste un ruolo determinante nella gestione automatica, decisamente maggiore dell'hardware, e ancora di più se si considerano le automazioni necessarie alla cattura delle immagini.

In un processo continuo si possono gestire

consecutivamente, ma in maniera integrata, l'analisi, la valutazione dei risultati dei contaglobuli, l'autovalidazione o la selezione dei preparati da analizzare, gli allestimenti dei vetrini e la loro colorazione, la lettura, con la scelta dei campioni del numero di cellule da contare, la pre-classificazione cellulare, la tracciabilità e gli eventuali esami reflex. Algoritmi e regole di sistemi esperti sono di uso comune, ma proprio nella pre-classificazione delle immagini morfologiche cellulari sono state introdotte tecnologie di intelligenza artificiale. L'analisi automatica delle immagini si avvale di numerose azioni successive, volte a scomporre elementi complessi in unità sempre più elementari, togliendo gli elementi di disturbo, isolando caratteristiche che possano essere analizzate da sistemi di lettura digitale (32). Ogni caratteristica potrà quindi avere più di un riferimento digitale, a seconda del sistema di estrazione dell'informazione, e i dati potranno essere analizzati di algoritmi e sistemi di intelligenza artificiale (Tabella 4).

Già agli inizi di questo secolo l'intelligenza artificiale pareva essere alle porte, nella diagnostica ematologica (33), soprattutto per le potenzialità di integrare ed

Tabella 4

Automazione dell'analisi di immagini in emocitometria

Fase	Tecniche disponibili
Miglioramento dell'immagine	Rimozione dei rumori di fondo Aumento della qualità dell'immagine (nitidezza, contrasto)
Riconoscimento di componenti cellulari	Nucleo, citoplasma Segmentazioni Riconoscimento delle regioni di confine Soglie
Riconoscimento/estrazione delle caratteristiche	Morfologiche Strutturali Frattali Topologiche Basate sull'intensità
Algoritmi di apprendimento e Reti neurali	k-nearest neighbor (k-NN) (algoritmo che si basa sulle caratteristiche degli oggetti vicini a quello considerato) Regressione logistica [modello di regressione applicato a variabili che possono essere rese dicotomiche (0/1)] La logica fuzzy o logica sfumata (logica in cui si può attribuire a ciascuna proposizione un grado di verità diverso da 0 e 1 e compreso tra di loro) Analisi discriminante lineare (analisi statistica di riconoscimento dove i classificatori impiegati sono funzioni lineari nelle osservazioni) Alberi decisionali
Statistica e Matematica	

elaborare i dati con tutte le conoscenze mediche disponibili, ma i recenti progressi fanno prevedere una rivoluzione in molte branche della medicina, compresa l'ematologia di laboratorio, non solo nella auto-validazione dei casi sempre più complessi e articolati, ma anche nel riconoscimento di quadri patologici predefiniti (34).

CONCLUSIONI

La digitalizzazione dell'emocitometria di laboratorio è una opportunità e un forte aiuto per armonizzare le attività sulle stesse regole di selezione dei preparati da revisionare, sul controllo, la verifica e la validazione dei campioni analizzati e sulla refertazione. Offre supporto per la consulenza e la formazione, nonché maggiore flessibilità organizzativa. Quando queste necessità si estendono in luoghi diversi e lontani gli uni dagli altri, la trasmissione di dati e immagini in modo efficace necessita di tecnologie di automazione per la preparazione e la lettura dei preparati, tecnologie informative per la gestione integrata di tutti i dati necessari alla diagnosi e di un network idoneo per far viaggiare le comunicazioni in quantità e velocità idonee. Le nuove frontiere di intelligenza artificiale avranno sempre maggiore ruolo sia nella gestione dei processi, sia nella verifiche a validazioni automatiche, sia infine nel riconoscimento di pattern morfologici patologici. Tutto ciò non potrà sostituire la competenza specialistica nella supervisione finale delle diagnosi ematologiche, ma consentirà gestioni più semplici, veloci e sicure, per rispondere alle mutate esigenze della medicina di laboratorio.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Legge 23 dicembre 1978, n. 833. (Gazzetta Ufficiale, Serie Generale n.360 del 28-12-1978 - Suppl. Ordinario)
- Luethi U, Risch L, Korte W, et al. Telehematology: critical determinants for successful implementation. *Blood* 2004; 103:486-8.
- Ruhenstroth-Bauer G, Zang D. Automatic counting method: the Coulter particle counting apparatus. *Blut* 1960; 6s:446-62.
- Sage BH. White blood cell analyser Laboratory Equipment Digest 1973;11: 113-29.
- Cotter DA, Sage BH. Performance of the LARC™ classifier in clinical laboratories. *J Histochem Cytochem* 1976; 24:202-10.
- Kratz A, Bengtsson HI, Casey JE, et al. Performance evaluation of the CellaVision DM96 system: WBC differentials by automated digital image analysis supported by an artificial neural network. *Am J Clin Pathol* 2005; 124:770-81.
- Bruegel M, George TI, Feng B, et al. Multicenter evaluation of the Cobas M511 integrated hematology analyzer. *Int J Lab Hematol* 2018; 40:672-82.
- Mansberg HP, Saunders AM, Groner W. The Hemalog D white cell differential system. *J Histochem Cytochem* 1974;22:711-24.
- Simmons A, Leaverton P, Elbert G. Normal laboratory values for differential white cell counts established by manual and automated cytochemical methods (Hemalog D-TM). *J Clin Pathol* 1974; 27:55-8.
- Morse EE, Nashed A, Spilove L. Automated differential leukocyte counts. *Ann Clin Lab Sci* 1989;19:155-60.
- Lee SH. Virtual microscopy: applications to hematology. *Lab Hematol* 2005;11:38-45.
- Hutchinson CV, Brereton ML, Burthem J. Digital imaging of haematological morphology. *Clin Lab Haematol* 2005; 27:357-62.
- <https://www.kaloramainformation.com/Content/Blog/2014/03/28/Hematology-Middleware-Creates-a-New-Front-for-Competition> (ultimo accesso: gennaio 2019).
- Sinha P, Späth-Schwalbe E. Haematology networks, graphical and image databases and telehaematology with new sysmex instrumentation. *Infus Ther Transfus Med* 2001;28:298-302.
- Tatsumi N, Pierre RV. Automated image processing. Past, present, and future of blood cell morphology identification. *Clin Lab Med* 2002;22:299-315.
- Ceelle H, Dinkelaar RB, van Gelder W. Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and Cellavision DM96. *J Clin Pathol* 2007;60:72-9.
- Kim HN, Hur M, Kim H, et al. Performance of automated digital cell imaging analyzer Sysmex DI-60. *Clin Chem Lab Med* 2017;56:94-102.
- Yu H, Ok CY, Hesse A, Nordell P, et al. Evaluation of an automated digital imaging system, Nextslide Digital Review Network, for examination of peripheral blood smears. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136:660-7.
- Park SH, Park CJ, Choi MO, et al. Automated digital cell morphology identification system (CellaVision DM96) is very useful for leukocyte differentials in specimens with qualitative or quantitative abnormalities. *Int J Lab Hematol* 2013;35:517-27.
- Criel M, Godefroid M, Deckers B, et al. Evaluation of the red blood cell advanced software application on the CellaVision DM96. *Int J Lab Hematol* 2016;38:366-74.
- Hervent AS, Godefroid M, Cauwelier B, et al. Evaluation of schistocyte analysis by a novel automated digital cell morphology application. *Int J Lab Hematol* 2015;37:588-96.
- Florin L, Maelegheer K, Muyldermans A, et al. Evaluation of the CellaVision DM96 advanced RBC application for screening and follow-up of malaria infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018;90:253-6.
- Roberta Rolla, Giorgio Da Rin, Valentino Granero, et al. La diagnosi di malaria: ruolo dell'esame emocromocitometrico nello screening. *Biochim Clin* 2018;42:191-209.
- Burthem J, Brereton M, Ardern J, et al. The use of digital 'virtual slides' in the quality assessment of haematological morphology: results of a pilot exercise involving UK NEQAS(H) participants. *Br J Haematol.* 2005;130:293-6.
- Brereton M, De La Salle B, Ardern J, et al. Do we know why we make errors in morphological diagnosis? An analysis of approach and decision-making in haematological morphology. *EBioMedicine* 2015;2:1224-34.
- Riedl JA, Stouten K, Ceelle H, et al. Interlaboratory reproducibility of blood morphology using the digital microscope. *J Lab Autom* 2015;20:670-5.
- VanVranken SJ, Patterson ES, Rudmann SV, et al. A survey study of benefits and limitations of using CellaVision DM96 for peripheral blood differentials. *Clin Lab Sci* 2014;27:32-9.

28. Holten-Rossing H, Talman MM, Jylling AMB, et al. Application of automated image analysis reduces the workload of manual screening of sentinel lymph node biopsies in breast cancer. *Histopathology* 2017;71:866-73.
29. Gulati G, Song J, Florea AD, et al. Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med* 2013;33:1-7.
30. Buoro S, Moioli V, Seghezzi M, et al. Evaluation and comparison of automated hematology analyzer, flow cytometry, and digital morphology analyzer for monocyte counting. *Int J Lab Hematol* 2018;40:577-85.
31. Takemura H, Ai T, Kimura K, Nagasaka K, et al. Evaluation of cell count and classification capabilities in body fluids using a fully automated Sysmex XN equipped with high-sensitive Analysis (hsA) mode and DI-60 hematology analyzer system. *PLoS One* 2018;13:e0195923.
32. Ahmadzadeh E, Jaferzadeh K, Lee J, et al. Automated three-dimensional morphology-based clustering of human erythrocytes with regular shapes: stomatocytes, discocytes, and echinocytes. *J Biomed Opt* 2017;22:76015.
33. Zini G. Artificial intelligence in hematology. *Hematology* 2005;10:393-400.
34. Fakhouri NH, Al-Sharaeh SH. A Hybrid methodology for automation the diagnosis of leukemia based on quantitative and morphological feature analysis. *Modern Applied Science* 2018;12:56-73.

Garantire la comparabilità dei risultati nel rispetto dei requisiti di qualità e delle esigenze organizzative: l'esempio di una procedura operativa

Andrea Padoan^{1,2}, Giorgia Antonelli^{1,2}, Ada Aita^{1,2}, Laura Sciacovelli², Mario Plebani^{1,2}.

¹Dipartimento di Medicina-DIMED, Università degli Studi di Padova

²Unità Operativa Complessa Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale-Università di Padova

ABSTRACT

How to guarantee the comparability of test results in compliance with the quality requirements and organizational needs: the example of an operative procedure. Medical laboratories are responsible for the quality of test results, also when the same patient sample is evaluated using different analytical systems within the same lab. Indeed, as stated by ISO 15189:2012, laboratories should define means to compare procedures for evaluating the comparability of patients' samples results within the same healthcare system. In this study we report the approach used to define a procedure for assessing results comparability, developed in our laboratory before the ISO 15189:2012 accreditation in 2016. Firstly, the approach was focused on the identification of all the different situations that may potentially require alignment of test results within the laboratory. Therefore, after evaluating guidelines and documents available in the literature, we defined a workflow applicable both to quantitative and qualitative methods. For quantitative methods, bias was estimated by means of statistical analyses such as Bland Altman and Passing Bablok. For qualitative methods, results comparability was assessed by concordance. Criteria for defining the acceptability of systematic errors were also included in the procedure.

INTRODUZIONE

L'innovazione tecnologica e la riorganizzazione delle strutture regionali che erogano prestazioni di base e specialistiche di laboratorio, basate su un modello a reti cliniche integrate, di tipo "hub & spoke", hanno portato negli ultimi anni alla copresenza di sistemi analitici simili e/o diversi per l'esecuzione delle medesime analisi nello stesso laboratorio o in laboratori diversi appartenenti alla stessa rete. In questo contesto, garantire la congruenza tra i risultati misurati su sistemi analitici diversi (o uguali), dislocati nella stessa sede o in sedi diverse, diventa un compito fondamentale del professionista di laboratorio. A tale scopo, in letteratura sono disponibili documenti di consenso riconosciuti dalla comunità scientifica (primi fra tutti i documenti del *Clinical Laboratory Standards Institute - CLSI*) che descrivono le migliori modalità operative da adottare per la valutazione della comparabilità dei risultati. Tuttavia, sebbene dal punto di vista teorico queste raccomandazioni siano efficienti e robuste, nei laboratori è necessario definire una procedura operativa pragmatica che tenga conto delle peculiarità di ogni esame, dei differenti contesti organizzativi, dei limiti pratici dovuti alle risorse

disponibili, senza tuttavia rinunciare ad una metodologia statisticamente valida e clinicamente rilevante. Le cause riconosciute di non comparabilità dei risultati possono essere molteplici; le principali sono riportate nella Tabella 1.

Un'efficace procedura per la valutazione della comparabilità dei risultati misurati su più di un sistema analitico, conosciuta come "valutazione dell'allineamento strumentale", dovrebbe prendere in considerazione le seguenti condizioni:

- strumenti identici per quanto riguarda la ditta fornitrice e la tecnologia applicata (strumenti gemelli) situati all'interno di una stessa sezione, in diverse sezioni o in sedi diverse afferenti al medesimo laboratorio;
- strumenti con tecnologie differenti situati all'interno di una stessa sezione, in sezioni diverse o in sedi diverse al medesimo laboratorio;
- strumenti utilizzati solo in caso di malfunzionamento dello strumento usualmente utilizzato in routine (strumenti di *back-up*).

La situazione più favorevole all'ottenimento di comparabilità dei risultati può essere quella in cui l'analisi del campione avviene su strumenti identici (strumenti gemelli). Questa circostanza si realizza, per

Corrispondenza a: Andrea Padoan, Dipartimento di Medicina – DIMED, Università degli Studi di Padova, Via Giustiniani 2 35128 Padova. Tel: 049 8212801; E-mail: andrea.padoan@unipd.it

Ricevuto: 28.11.2018

Revisionato: 18.01.2019

Accettato: 21.01.2019

Publicato on-line: 12.04.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.016

Tabella 1
Principali cause riconosciute di non comparabilità dei risultati

Cause

Differenti metodologie analitiche;
 differenze nell'imprecisione tra procedure analitiche;
 differenze nella calibrazione tra procedure analitiche;
 differenti lotti di calibratori;
 esistenza di errori nell'assegnazione del valore e variazioni della commutabilità tra lotti di calibratori;
 differente grado di commutabilità dei calibratori utilizzati in procedure analitiche diverse e/o relative a produttori diversi;
 differente stato di degradazione (tempo dipendente) del calibratore;
 degradazione dei reagenti dopo calibrazione;
 uso di differenti lotti di reagenti o differenze nello stato di conservazione quando è usato lo stesso metodo;
 differenze nei parametri analitici strumentali, come i rapporti di diluizione e tempi di incubazione, tra strumenti differenti che usano lo stesso reagente;
 guasti strumentali;
 effetti pre-analitici sul campione, incluse le differenze nel trattamento del campione tra differenti sistemi di misura.

esempio, nel caso di strutture con elevato numero di campioni, in cui le analisi vengono effettuate contemporaneamente, e più o meno indistintamente e casualmente su più di una strumentazione, o in contesti in cui la presenza di uno strumento di *back-up* risulta indispensabile per garantire risultati in urgenza/emergenza. Nei casi in cui lo stesso esame possa essere effettuato su strumenti con principi analitici differenti (può essere il caso dei laboratori decentrati o dislocati in ospedali differenti ma afferenti alla stessa direzione), garantire la comparabilità dei risultati è più problematico, così come è più indaginosa la gestione dell'applicazione delle procedure di valutazione.

Lo scopo di questo lavoro è descrivere il flusso operativo generale adottato dall'Unità Operativa Complessa Medicina di Laboratorio dell'Azienda Ospedale-Università di Padova per garantire la comparabilità dei risultati relativi ad esami che vengono eseguiti su più di un sistema analitico.

METODI

La metodologia utilizzata per definire le modalità operative da adottare per garantire la comparabilità dei risultati ottenuti su sistemi analitici diversi ha previsto le seguenti fasi operative:

- valutazione dei requisiti richiesti dalla norma ISO 15189:2012 dei documenti di riferimento e delle pubblicazioni disponibili sulla tematica in oggetto;
- definizione del flusso operativo;
- identificazione della tipologia di esami da sottoporre alla valutazione della comparabilità (metodi quantitativi e qualitativi);
- sperimentazione della procedura operativa.

Per le analisi statistiche, in particolare per il grafico di Bland Altman e la regressione di Passing Bablok, è stato usato il software MedCalc versione 18.2.1 (MedCalc Software, v 18.2.1, Ostend, Belgium). La linearità della risposta tra i due metodi è stata valutata con il test Cumsum, dove un valore di probabilità $p < 0,05$ è stato considerato come indicativo di deviazione dalla linearità. L'esame parametrico *t* di Student per dati appaiati è stato utilizzato per valutare la presenza di un bias statisticamente significativo, considerando un valore di probabilità $p < 0,05$ come significativo. Come bias si intende la stima dell'errore sistematico ottenuta dal confronto dei risultati di più sistemi analitici (1).

RISULTATI

Valutazione dei requisiti richiesti dalla norma ISO 15189:2012 e dei documenti di riferimento sulla tematica in oggetto

La norma per l'accreditamento dei laboratori medici, ISO 15189:2012 riporta (punto 5.6.4 *Comparability of examination results*): "There shall be a defined mean of comparing procedures, equipment and methods used and establishing the comparability of results for patient samples throughout the clinically appropriate intervals. This is applicable to the same or different procedures, equipment, different sites, or all of these"(2).

Pertanto, la verifica della comparabilità dei risultati dei pazienti ottenuti su più sistemi analitici, uguali o differenti, impone:

- la definizione di una istruzione operativa interna che descriva criteri e modalità operative da adottare;
- che la valutazione sia effettuata ai livelli di concentrazione dell'analita clinicamente significativi in relazione allo scopo dell'esame;
- la definizione delle modalità di gestione delle situazioni di non comparabilità dei risultati;
- la definizione delle modalità di notifica agli utilizzatori dell'eventuale non comparabilità dei risultati;
- la registrazione dei dati e di tutte le azioni intraprese in seguito all'analisi dei dati ottenuti dalla verifica della comparabilità dei dati.

In letteratura sono presenti due raccomandazioni CLSI: EP09C-ED3:2018 (Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd Edition) e EP31-A-IR:2012 (Verification of Comparability of Patient Results Within One Health Care System, 1st Edition) (3,4).

Il documento CLSI EP09C-ED3:2018 descrive il disegno e i metodi di analisi da utilizzare per misurare il bias tra sistemi analitici, utilizzando campioni dei pazienti. Questa raccomandazione limita le valutazioni ai soli metodi quantitativi e nel punto 2.2.2.3 definisce che l'ambito di applicazione ai laboratori medici è principalmente la valutazione del bias all'introduzione in routine di una nuova procedura analitica (3). Il documento CLSI EP31-A-IR:2012 fornisce una guida su come verificare la comparabilità dei risultati dei pazienti, ottenuti con metodi quantitativi, su un massimo di 10

sistemi analitici, specificando che al momento dell'introduzione in laboratorio di un nuovo sistema, deve essere utilizzata una metodologia più completa, come quella proposta nella CLSI EP09-ED3:2018 (3,4). Il documento suggerisce anche le procedure da intraprendere in seguito alla non comparabilità dei risultati ed alla valutazione del rischio ad essa associata, ai criteri da adottare per la definizione della frequenza della verifica, delle concentrazioni dei campioni da utilizzare, e dei criteri di accettabilità dei risultati della comparazione.

Definizione del flusso operativo

Per la definizione del flusso operativo si è fatto riferimento oltre che ai due documenti CLSI già citati, ad altre pubblicazioni sulla comparazione dei risultati identificate in letteratura (3-9).

Un punto particolarmente rilevante e affrontato inizialmente nella valutazione della stesura della procedura, che ha richiesto un'analisi approfondita, riguarda l'identificazione delle situazioni che richiedono necessità di valutazione della comparabilità dei risultati. In particolare, abbiamo ritenuto fondamentale implementare la verifica della comparabilità tra i risultati ottenuti su uno strumento di nuova introduzione con quello in uso, prima della sua implementazione nella routine (fase di validazione) (3,5), come pure è importante il monitoraggio della stabilità della comparabilità tra strumentazioni nel tempo (4,9).

Per chiarire questo concetto e facilitare l'applicazione, sulla base anche di quanto definito dalla CLSI EP09C-ED3:2018, la procedura è stata concettualmente suddivisa in due fasi: verifica, e monitoraggio. La prima fa riferimento principalmente (ma non esclusivamente) alla verifica iniziale, eseguita prima dell'introduzione o della sostituzione di un nuovo sistema analitico e a tutte quelle situazioni che hanno evidenziato problemi che mettono in discussione la stabilità del sistema, o quando siano necessari interventi che possono influenzare la stabilità del sistema. I criteri di confronto utilizzati in questa fase sono principalmente statistici e rigorosi. La seconda fase, quella di monitoraggio, dovrebbe essere eseguita periodicamente e solo in seguito alla verifica iniziale, con una tempistica adatta alle esigenze del laboratorio, in relazione alle caratteristiche analitiche del sistema.

Per quanto riguarda la procedura di valutazione, la maggior parte della documentazione consultata prevede l'utilizzo di sistemi statistici, principalmente la regressione lineare secondo i modelli di Passing-Bablok o Deming e il grafico di Bland Altman, allo scopo di rilevare l'assenza di bias proporzionale e di stimarne l'entità, rispettivamente (10,11) o il *range test* come suggerito dal documento CLSI EP31-A-IR (4). I modelli di regressione di Passing-Bablok o Deming e il grafico di Bland Altman presentano il vantaggio di consentire di effettuare la valutazione su un ampio intervallo di misura.

Nel caso di più di due sistemi analitici, sia la verifica sia il monitoraggio sono stati effettuati mediante

l'identificazione di uno strumento di riferimento, verso il quale allineare tutti gli altri.

È da osservare che la valutazione crociata (a due a due) di tutti i sistemi analitici presenti, sperimentata su tre strumenti dell'area ematologia-coagulazione, si è dimostrata una valida procedura alternativa.

La frequenza della verifica e del monitoraggio è stata definita sulla base della stabilità dei sistemi analitici, il carico di lavoro, l'andamento dei risultati di CQI e di VEQ, tenendo in considerazione anche la valutazione dei costi necessari per la realizzazione della procedura.

In accordo a quanto suggerito dai documenti consultati (3-9), il nostro protocollo prevede che la verifica sia sempre effettuata:

- al cambio di strumentazione/sistema analitico;
- in caso di variazione delle procedure analitiche;
- qualora si verificano situazioni che possono far dubitare della stabilità del sistema (ad esempio in caso di ripetute prestazioni non soddisfacenti nella VEQ);
- in presenza di eventi che possono aver inficiato i risultati degli esami;
- in caso di esito negativo del monitoraggio della comparabilità.

Il monitoraggio è effettuato almeno due volte l'anno utilizzando i campioni dei pazienti e, sulla base del volume di richieste dello specifico esame, utilizzando anche i campioni di CQI con tempistica più frequente (mensilmente per elevato volume, almeno al cambio lotto per gli esami a basso volume di richiesta).

Identificazione della tipologia di esami per la verifica della comparabilità dei risultati

Considerando la necessità di definire un flusso operativo che tenesse conto delle differenti tipologie di analisi, è stato necessario individuare un differente percorso operativo sulla base della tipologia della procedura di determinazione (quantitativa o qualitativa).

Determinazioni quantitative

Verifica. La verifica della comparabilità dei risultati, in relazione ai requisiti sopra specificati, viene eseguita mediante una valutazione iniziale tramite il grafico di Bland Altman (considerando come risultato il bias percentuale) su almeno 40 campioni di pazienti, selezionati in modo da coprire tutto l'intervallo di misura clinicamente rilevante, evidenziando inizialmente situazioni di proporzionalità del bias, aiutandosi con la sovrapposizione al grafico Bland Altman della retta di regressione (Figura 1).

Successivamente, solo nel caso di bias proporzionale, o di un bias statisticamente significativo evidenziato dal grafico di Bland Altman, è stata eseguita una valutazione mediante l'analisi di Passing Bablok. In questo caso, si può definire un bias proporzionale quando gli intervalli di confidenza al 95% (95%CI) del coefficiente angolare della regressione non comprendono l'unità, e un bias costante quando i 95%CI

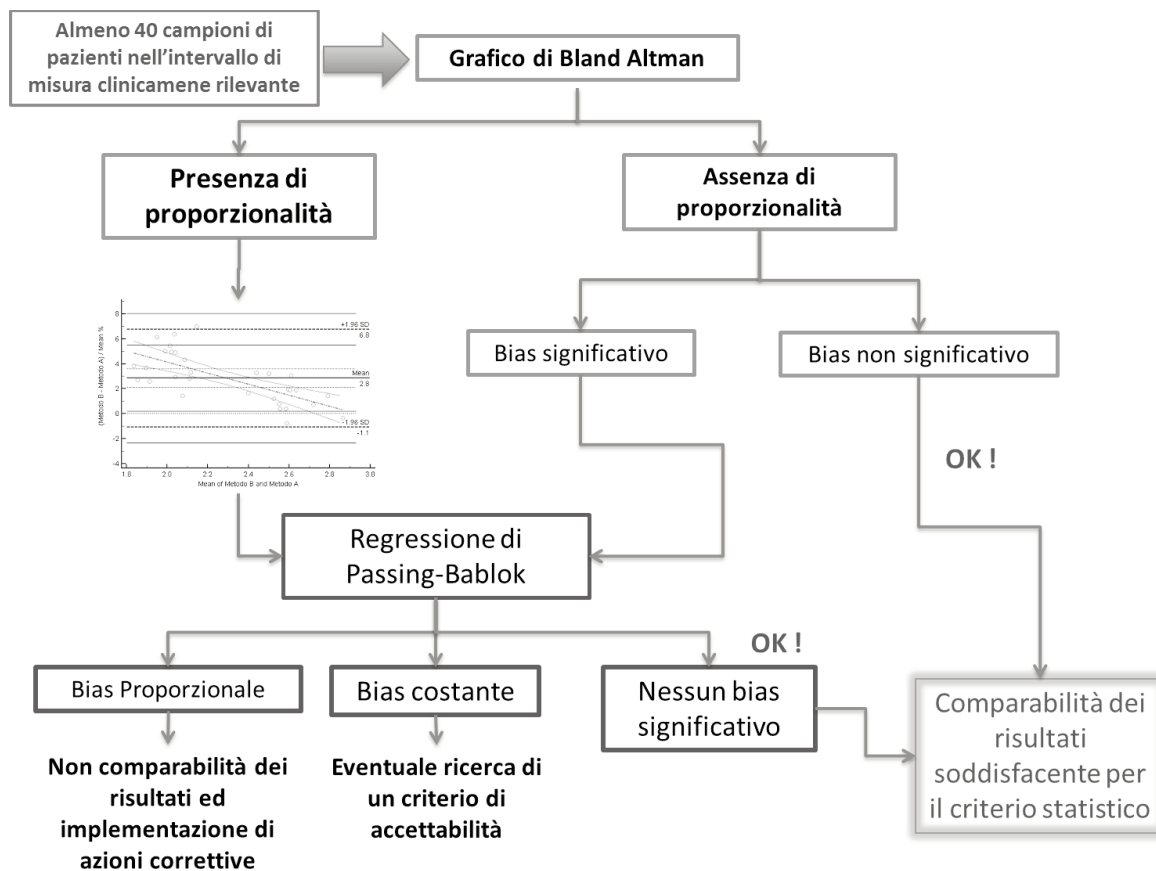


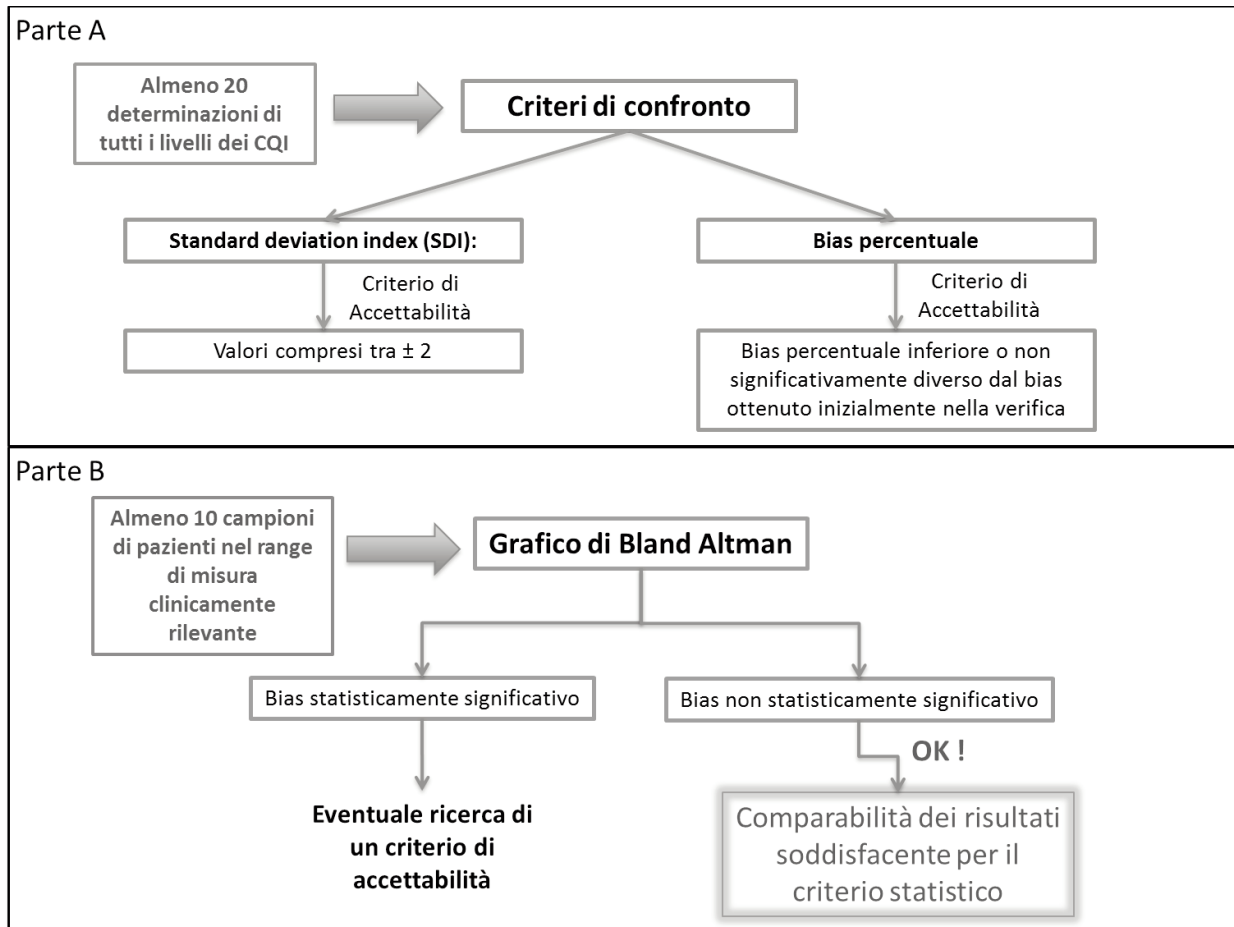
Figura 1
 Diagramma di flusso identificato per la verifica della comparabilità dei risultati utilizzando campioni di pazienti, selezionati in modo da coprire l'intervallo di misura clinicamente significativo. Come illustrato, la presenza di un bias proporzionale può essere valutata con la sovrapposizione al grafico Bland Altman della retta di regressione e/o verificando che il coefficiente angolare sia significativamente diverso da zero.

dell'intercetta non comprendono lo zero. Durante l'analisi di Passing Bablok è stata valutata la linearità tramite il test di Cumsum. Nei casi in cui tra due tecnologie differenti si evidenzia una situazione di non linearità dall'analisi di Passing Bablok e dal relativo esame di Cumsum, i metodi sono stati valutati anche con una analisi polinomiale, utilizzando procedure adeguate allo scopo, come quelle suggerite nel documento CLSI EP06-A (12).

Monitoraggio. La comparabilità dei risultati viene valutata utilizzando un numero di 20 campioni, comunque non <10 nel caso di scarso numero di campioni disponibili (ad esempio nel caso di esami rari) purché siano indicativi dell'intervallo di misura clinicamente rilevante. In questo caso, essendo stata già stata esclusa la possibilità di avere un bias proporzionale durante la fase di verifica iniziale, l'analisi di Passing Bablok non risulta necessaria (Figura 2).

Una seconda modalità introdotta per il monitoraggio della comparabilità dei risultati, prevede l'utilizzo dei valori di almeno 20 determinazioni dei livelli disponibili del CQI, eseguite in condizioni stabili del sistema. In questo caso, l'utilizzo dei risultati del CQI è ammesso nel

caso di sistemi analitici gemelli. Questa modalità, considerata la dotazione di strumenti software per la gestione dei risultati del CQI, [in particolare nel nostro laboratorio è utilizzato il sistema Unity Real Time™ ver 2.4.3.002 (Bio-Rad laboratories, Hercules, CA, USA)], risulta di facile utilizzo e permette di tenere sotto controllo con elevata frequenza la comparabilità dei risultati. Utilizzando il sistema Unity Real Time™, l'accettabilità della comparabilità dei risultati è valutata sulla base dell'indice di deviazione standard (*standard deviation index*, SDI), calcolato rispetto al valore medio dei risultati dei CQI dei diversi strumenti. Il criterio di accettabilità adottato nel nostro flusso operativo prevede un SDI compreso tra ± 2 . In alcune circostanze è stato anche utilizzato un bias medio percentuale, che deve risultare inferiore al bias definito inizialmente accettabile per la verifica della comparabilità dei risultati. Tuttavia, quando sono stati utilizzati i campioni di CQI per il monitoraggio della comparabilità dei risultati, è stata comunque programmata una valutazione con almeno 10 campioni di pazienti, seppur con frequenza temporale più dilazionata, e definita sulla base del carico di lavoro, e comunque non inferiore a due volte l'anno (Figura 2).

**Figura 2**

Flusso di lavoro per il monitoraggio della comparabilità dei risultati. Parte A: modalità operativa che utilizza i materiali di controllo di qualità interno (CQI); Parte B: modalità operativa che utilizza i campioni dei pazienti.

Criteri di accettabilità. Una volta definiti gli strumenti necessari a determinare un eventuale scostamento statisticamente significativo tra i sistemi analitici (grafico di Bland Altman e regressione di Passing Bablok), è stato necessario definire gli eventuali criteri di accettabilità per il bias identificato (13-16). Da un esame della letteratura, sono stati identificati i seguenti tre criteri utilizzabili allo scopo di definire il bias identificato come accettabile: criterio clinico (in base alle linee guida e raccomandazioni di società scientifiche) (13-15); criterio della variabilità biologica [il bias percentuale calcolato deve essere inferiore a 0,33 moltiplicato il coefficiente di variazione intra individuale (CVI) ricavato dalle fonti esistenti sulla variabilità biologica] (14-20); stato dell'arte delle prestazioni relative al sistema diagnostico in uso (14, 15).

Esempi di applicazione. Nella Figura 3 è riportato un esempio della verifica della comparabilità dei risultati per la determinazione della troponina T durante un cambio di metodo sul sistema analitico Roche Cobas 6000, e601 (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) da troponina T hs a troponina T hs STAT. In questo caso, il grafico di

Bland Altman non evidenzia né un bias statisticamente significativo ($p=0,0817$) né la presenza di una tendenza di proporzionalità, come confermato successivamente dall'analisi di Passing Bablok (95%CI del coefficiente angolare: 0,9898-1,0145; 95%CI dell'intercetta: -0,6091-0,09102).

Nella Figura 4 è rappresentato un esempio di monitoraggio della comparabilità dei risultati del calcio tra i due sistemi analitici Roche Cobas e Abbott Architect (Abbott Diagnostics, Lake Forest, IL, U.S. In questo caso il bias ottenuto (-0,6%), benché statisticamente significativo ($p < 0,01$), è stato valutato come accettabile adottando il criterio della variabilità biologica ($0,33 \times CVI = 0,33 \times 2,1 = 0,69\%$).

Determinazioni qualitative

Verifica. In analogia con la verifica dei metodi quantitativi, la verifica della comparabilità per i metodi qualitativi ha incluso la valutazione di almeno 40 campioni di pazienti. La procedura adottata è quella identificata nel documento CLSI EP12-A2 (21). Nella selezione dei campioni particolare attenzione è stata

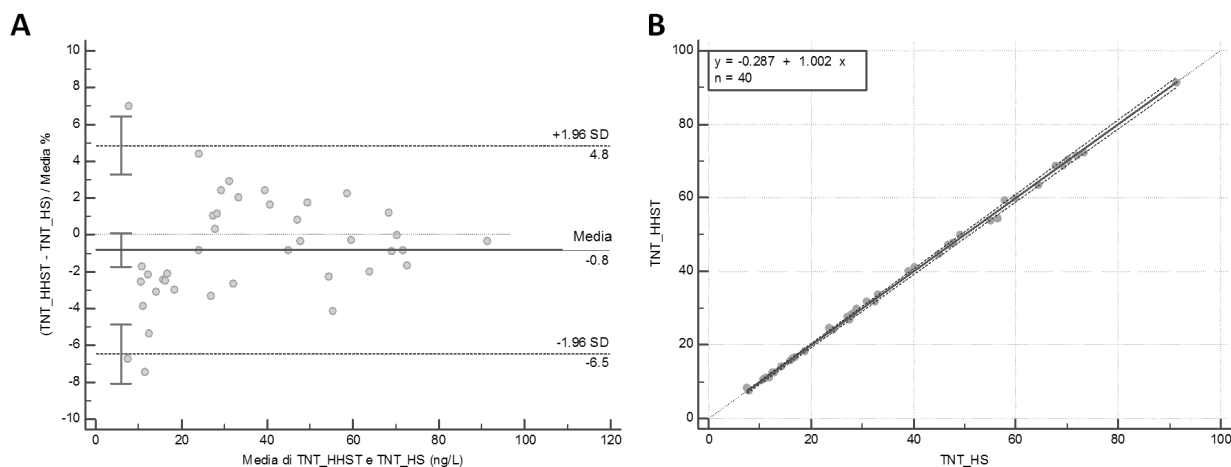
**Figura 3**

Grafico di Bland Altman (A) e di Passing Bablok (B) ottenuti confrontando i risultati per il metodo troponina Ths in dismissione (TNT_HS) (Roche Cobas 6000, e601) e il metodo troponina ThsSTAT di nuova introduzione (TNT_HHST) (Roche Cobas 6000, e601).

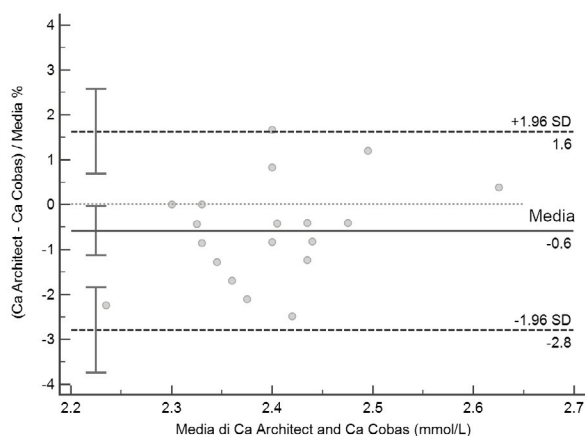
**Figura 4**

Grafico di Bland Altman ottenuto confrontando i risultati della determinazione del calcio (Ca) per i metodi Abbott Architect c8000 e Roche Cobas 6000, e601 su dieci determinazioni in campioni di pazienti.

prestata alla tipologia dei campioni: almeno 10 campioni positivi, nel caso di procedure d'esame ad esito prevalentemente negativo, o almeno 10 campioni negativi per le procedure d'esame ad esito prevalentemente positivo. Successivamente si è proceduto al calcolo della percentuale complessiva di concordanza, sommando il numero di campioni positivi con entrambi i metodi con il numero di campioni negativi con entrambi i metodi, dividendo per il numero totale di campioni e infine moltiplicando per cento (21).

Monitoraggio. Il monitoraggio della comparabilità è stato effettuato utilizzando 20 campioni di pazienti, o comunque non meno di 10 campioni nel caso di scarso numero di campioni disponibili. Anche in questo caso, la selezione dei campioni ha incluso almeno 2 campioni positivi nel caso di procedure d'esame ad esito prevalentemente negativo, o negativi per procedure d'esame ad esito prevalentemente positivo. Nei casi in

cui non siano disponibili almeno 2 campioni di pazienti positivi o negativi, sono stati utilizzati i materiali di CQI.

Criteri di accettabilità. Il grado di concordanza da considerare soddisfacente per definire una effettiva concordanza dei risultati è del 100% sia nel caso della verifica sia del monitoraggio.

Esempi di applicazione. Un esempio illustrativo è quello del monitoraggio dell'allineamento delle due strumentazioni ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystem, CA, USA) per l'analisi della genetica del gene *MTHFR*, polimorfismo 677C-T. In questo caso sono stati determinate le varianti alleliche in 23 soggetti sui due strumenti, con differente configurazione analitica. Per entrambi gli strumenti, i risultati dimostrano: 10 omozigoti *wild type* (C/C), 9 eterozigoti (C/T) e 4 omozigoti mutati (T/T), con una concordanza complessiva del 100%.

Sperimentazione della procedura operativa

La procedura descritta è stata applicata a 151 esami eseguiti in regime di routine di cui 130 eseguiti su sistemi analitici con tecnologia uguale (strumenti gemelli) e 21 con tecnologia differente. Complessivamente, 128 esami erano eseguiti con metodologia quantitativa e 23 con metodologia qualitativa.

DISCUSSIONE

I dati ottenuti dimostrano che la procedura operativa descritta è applicabile ad un elevato numero di esami, soddisfacendo così le esigenze di verifica della comparabilità dei risultati per tutti gli esami per i quali questa si rende necessaria. Infatti, tutti gli esami eseguiti su più di uno strumento/sistema analitico possono essere tenuti sotto controllo con le modalità operative riportate. Le maggiori problematiche riscontrate dall'applicazione della procedura sono state principalmente la selezione di campioni idonei a coprire un ampio intervallo di misura per più di un analita e le difficoltà organizzative per effettuare, contestualmente e nei tempi di stabilità degli analiti, la determinazione dei campioni su strumentazioni dislocate in sedi diverse.

La definizione di una procedura operativa, conforme ai requisiti della norma di accreditamento ISO 15189:2012, e ai documenti scientifici emessi da autorevoli organizzazioni, risulta necessaria per stimolare i laboratori all'applicazione di modalità operative che garantiscano l'affidabilità dei risultati a beneficio del paziente.

Le modalità operative proposte in questo lavoro, rappresentando l'esperienza di un laboratorio e contestualizzate nella specifica organizzazione, hanno lo scopo di stimolare la discussione nel mondo dei professionisti ed incoraggiare esperienze e contributi di altri laboratori. Il fine ultimo è contribuire alla realizzazione di un documento di consenso che possa essere applicato in realtà diverse per obiettivi ed organizzazione. Inoltre, il flusso operativo proposto rappresenta solo la prima fase del percorso che deve essere completato con la descrizione delle necessarie azioni da intraprendere nel caso non sia possibile raggiungere la comparabilità dei risultati.

CONCLUSIONE

Il nucleo di un sistema di gestione per la qualità, conforme a requisiti di accreditamento, è rappresentato dalla consapevolezza dei professionisti di laboratorio della necessità di fornire evidenza che tutte le modalità operative adottate rispettino quanto indicato dalla buona pratica di laboratorio con il fine ultimo di portare beneficio al paziente. La definizione di documenti di consenso e/o linee guida emesse da società scientifiche rappresenta uno strumento efficace per armonizzare le pratiche nel rispetto di alti livelli di qualità e per garantirne l'applicazione.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM) 200:2012. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), 3rd edition 2008 version with minor corrections.
2. ISO15189:2012 Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence, International Organization for Standardization, 2012.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples. 3rd edition. CLSI EP09c. CLSI: Wayne, PA, 2018.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Verification of comparability of patient results within one health care system. CLSI EP31-A-IR. CLSI: Wayne, PA, 2012.
5. Vidali M, Tronchin M, Dittadi R. Protocollo per la comparazione di due metodi analitici di laboratorio. *Biochim Clin* 2016;40:129-42.
6. Goossens K, Van Uytendange K, Thienpont LM. Trueness and comparability assessment of widely used assays for 5 common enzymes and 3 electrolytes. *Clin Chim Acta* 2015;442:44-5.
7. Ichihara K, Ozarda Y, Klee G, et al. Utility of a panel of sera for the alignment of test results in the worldwide multicenter study on reference values. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1007-25.
8. Koerbin G, Tate JR, Ryan J, et al. Bias Assessment of general chemistry analytes using commutable samples. *Clin Biochem Rev* 2014;35:203-11.
9. Calleja J. Parallel processing and maintaining adequate alignment between instruments and methods. *Clin Biochem Rev* 2008;29:S71-7.
10. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999;8:135-60.
11. Passing H, Bablok. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:709-20.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach, CLSI EP06-A. 1st ed. 2003. CLSI: Wayne, PA, 2012.
13. Horvath AR, Bossuyt PMM, Sandberg S, et al. Setting analytical performance specifications based on outcome studies – is it possible? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:841-8.
14. Ceriotti F, Fernandez-Calle P, Klee GG, et al. Criteria for assigning laboratory measurands to models for analytical performance specifications defined in the 1st EFLM Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:189-94.
15. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clin Chem and Lab Med. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:833-5.
16. Petersen PH, Fraser CG, Westgard JO, et al. Analytical goal-setting for monitoring patients when two analytical

- methods are used. Clin Chem 1992;38:2256-60.
17. Carobene A, Røraas T, Sølviik UØ, et al. Biological Variation Estimates Obtained from 91 Healthy Study Participants for 9 Enzymes in Serum. Clin Chem 2017;63:1141-50.
 18. Carobene A, Marino I, Coşkun A, et al. The EuBIVAS Project: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Serum Creatinine Using Enzymatic and Alkaline Picrate Methods and Implications for Monitoring. Clin Chem 2017;63:1527-36.
 19. Aarsand AK, Díaz-Garzón J, Fernandez-Calle P, et al. The EuBIVAS: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Electrolytes, Lipids, Urea, Uric Acid, Total Protein, Total Bilirubin, Direct Bilirubin, and Glucose. Clin Chem 2018;64:1380-93.
 20. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (ultimo accesso Gennaio 2019).
 21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline-Second Edition. CLSI EP12-A2. CLSI:Wayne, PA, 2008.

Analisi di laboratorio in un Punto di Primo Intervento: l'esperienza di sei anni di Point-of-Care Testing

Gianmatteo Micca¹, Giovanna Patrucco²

¹S.C.I. Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera S. Croce e Carle di Cuneo

²Direttivo SIBioC Piemonte, componente Gruppo di Studio SIBioC Point-of-care testing

ABSTRACT

Diagnostic test in a First Aid Point Service: a six years Point-of-Care Testing experience. For many years laboratory medicine services have been focused on reorganization interventions aimed at improving efficiency, in order to respond to new care needs and to reduce costs. In some situations, when the centralized laboratory is not able to guarantee the service with an adequate timeliness, a Point-of-Care Testing system designed for the clinical management of critically ill patients could be the solution. These systems can guarantee the immediate availability of diagnostic tests for diagnosis, monitoring and therapy, both for critical ill patients and for the continuity of health-care. In this paper a six years' experience of a Point-of-Care Testing implementation and management is described in a First Aid point service, in a particular territorial health-network created to guarantee continuity between the reference laboratory and the local hospitals.

INTRODUZIONE

La Medicina di Laboratorio italiana è stata oggetto negli ultimi anni di interventi di riorganizzazione che, a livello delle singole regioni, sono risultati disomogenei e privi di un comune disegno organico che garantissero la corretta risposta ai bisogni assistenziali ed allo sviluppo della qualità complessiva dell'assistenza sanitaria. Già a partire dal 2009, per le regioni in piano di rientro, tra cui il Piemonte, fu predisposto un documento di indirizzo a livello nazionale (1) che, nel rispetto delle autonomie delle Regioni, indicava un percorso di pianificazione anche per la Medicina di Laboratorio. Le soluzioni proposte dovevano garantire la qualità della diagnostica ed evitare che i processi di riorganizzazione avvenissero sulla base di esclusive considerazioni di carattere economico, facendo in modo che si tenesse conto anche delle indicazioni di tipo tecnico-professionale fornite dalla comunità scientifica. Tale percorso di riorganizzazione passava attraverso il consolidamento massimo di tutte le diagnostiche "trasportabili e differibili", mentre la decentralizzazione, doveva garantire la "risposta rapida" e l'emergenza. Nei modelli proposti, gli esami decentrati rappresentano un aspetto organizzativo della Medicina di Laboratorio da considerarsi integrativo e non alternativo, nell'ambito di

una rete di servizio complessiva. I sistemi sanitari devono infatti garantire servizi che siano sicuri, efficaci, centrati sui pazienti, tempestivi, efficienti anche in termini economici, ed infine equi. (2)

Per i servizi di laboratorio, questo significa garantire la stessa qualità analitica su tutto il territorio servito, rispetto a omogenee specifiche di qualità; offrire un repertorio di esami idoneo alle diagnosi e alle cure delle sedi in cui tali esami sono richiesti; garantire tempi di risposta idonei alle cure; essere sostenibili economicamente, garantendo nel contempo che ogni cittadino abbia lo stesso livello di assistenza, indipendentemente da ogni fattore esterno, sia esso territoriale, economico, e così via.

La centralizzazione dei laboratori, che punta soprattutto agli obiettivi di economicità e standardizzazione, determina tuttavia situazioni in cui la tempestività può non essere sufficiente per un paziente critico, oppure non essere un'efficace soluzione organizzativa anche in contesti di "non urgenza" ma con attività ridotte, dove ragioni economiche non consentano la presenza di un servizio di laboratorio tradizionale anche se di piccole dimensioni. Tali sono ad esempio strutture con attività di ricovero non dotate di reparti di terapia intensiva e con pronto soccorso di solo primo intervento, talora con servizio attivo solo per 12 ore al

Corrispondenza a: Gianmatteo Micca, S.C.I. Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera S. Croce e Carle di Cuneo.
Telefono: 0171641858, E-mail: micca.g@ospedale.cuneo.it

Ricevuto: 20.01.2019

Revisionato: 21.02.2019

Accettato: 22.02.2019

Pubblicato on-line: 16.04.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.022

giorno (3). In questo contesto, dove un pannello minimo di analisi può essere eseguito in modo decentrato e da personale di norma non specificamente professionalizzato, una soluzione di *Point-of-Care Testing* (POCT) può rispondere adeguatamente al bisogno di efficacia.

La realtà del servizio preso in considerazione e descritto in questo lavoro, presentava le caratteristiche tipiche di un punto di cura dove le modalità di esecuzione al di fuori delle strutture di un laboratorio centrale trovano la loro frequente applicazione: la dimensione particolare, epidemiologica e quantitativa del bisogno; la tipologia dei parametri analitici richiesti; la necessità di immediata disponibilità dell'esame, in quanto funzionale ad una diagnosi o a una terapia tempestiva; la definizione condivisa con i clinici degli esami o del pannello di esami eseguibili. Tutto ciò con l'obiettivo fondamentale del mantenimento della qualità, dell'assistenza, dell'anticipazione di una terapia, dell'ottimizzazione della cura del paziente (4).

Nel presente lavoro vengono presentate le azioni condotte nell'attuazione di un modello di rete territoriale, creato per garantire continuità tra laboratorio di riferimento e ospedale di territorio, nonché un bilancio di un'esperienza di sei anni di attività.

Nello specifico, era stato richiesto di assicurare al Punto di Primo Intervento (PPI) operativo nelle 24 ore presso il Presidio Ospedaliero della Valle Belbo, dal 2017 "Comunità Assistenziale a Valenza Sanitaria (CAVS)" di Nizza Monferrato, una tempistica di refertazione degli esami di laboratorio compatibile con la necessità assistenziale. Risultava infatti operativamente ed economicamente disfunzionale l'invio dei campioni presso il Laboratorio di riferimento del Presidio Ospedaliero di Asti.

È stata quindi eseguita una analisi attenta sull'effettiva necessità di attivare un sistema analitico decentrato, in stretta condivisione con la realtà interessata, identificando i parametri analitici da prevedere sulla base delle reali esigenze cliniche e delle prevenibili patologie trattate, individuando gli spazi dove collocare gli analizzatori, le connessioni necessarie (alimentazione, rete) e definendo le responsabilità del personale coinvolto.

Nel percorso individuato, le norme UNI EN ISO 15189 e ISO 22870 hanno costituito un riferimento importante (5,6).

DESCRIZIONE DEL PROGETTO

Il PPI, la cui attività esclude la gestione dei codici rossi dirottati al Dipartimento di Emergenza Urgenza e Accettazione (DEA) del Presidio Ospedaliero di Asti, manifestava la necessità di disporre, in tempi compatibili con la diagnosi e la cura dei pazienti, del supporto di laboratorio non più presente in quanto consolidato sul Laboratorio Centrale del Presidio Ospedaliero di Asti. La spedizione dei campioni per l'esecuzione degli esami richiesti risultava tecnicamente ed organizzativamente non compatibile con le tempistiche e la frequenza dei

trasporti, anche in considerazione della presenza di una struttura sanitaria operativa nelle 24 ore.

L'analisi delle possibilità effettive di trasporto sono molto spesso trascurate nelle scelte di centralizzazione degli esami di laboratorio. Nel caso descritto, sul territorio è presente un'unica arteria stradale di collegamento, tra la città di Nizza Monferrato, che ospita il PPI, e la città di Asti dove è presente il Presidio Ospedaliero di riferimento, lungo un percorso di 25 chilometri che attraversa numerosi centri urbani. Tale criticità rende improponibile l'utilizzo di una navetta sia per le tempistiche di trasporto, ma anche per la frequenza non preventivabile delle richieste. Inoltre, il bacino di utenza dell'area Asti Sud, di circa 40.000 abitanti, necessitava del mantenimento dell'operatività della struttura di PPI attiva nelle 24 ore.

Nell'impossibilità di mantenere attivo un laboratorio a risposta rapida, la scelta operativa si è spostata sui POCT. Il Direttore di Laboratorio, nel ruolo di responsabile anche per le attività di diagnostica decentrata, sia da un punto di vista funzionale che organizzativo, ha definito una "scheda di progetto" che prevedeva la condivisione di tutte le scelte tecniche ed operative con il personale che avrebbe utilizzato i POCT, con la definizione puntuale dei compiti e delle responsabilità.

La predisposizione, pubblicazione ed espletamento della procedura di gara, nel corso dell'anno 2012, ha richiesto circa sei mesi, preceduta da una attività di analisi dei bisogni, d'intesa con i referenti del PPI e con il personale infermieristico che sarebbe stato coinvolto nell'attività di gestione operativa sui POCT. Il capitolato prevedeva l'obbligo da parte della ditta aggiudicataria di attivare corsi di formazione per gli operatori coinvolti nell'utilizzo degli strumenti sia routinario (personale infermieristico) che manutentivo (tecnico sanitario di laboratorio biomedico, TSLB, e dirigente del laboratorio di riferimento). L'addestramento del personale infermieristico è stato effettuato direttamente dalla ditta aggiudicataria con il supporto del personale TSLB che contestualmente è stato addestrato sull'attività manutentiva, sulla gestione delle calibrazioni e dei controlli di qualità interni (CQI), attività in carico al laboratorio di riferimento. Si è stabilita una calendarizzazione dell'attività manutentiva su tre interventi settimanali (lunedì – mercoledì – venerdì) al fine di assicurare un adeguato supporto ed un costante controllo sulla affidabilità analitica. Contestualmente è stata attivata una connessione con il sistema informativo di laboratorio (LIS) del laboratorio di riferimento attraverso un middleware dedicato, tale da assicurare il controllo remoto dei POCT, comprensivo della gestione dei CQI, gestiti e registrati sugli analizzatori POCT per almeno un anno. Tale attività, in capo ai dirigenti del laboratorio di riferimento, viene eseguita sistematicamente nel corso dell'attività lavorativa e prevede sessioni di verifica e validazione clinica nel corso della giornata. Le procedure e le istruzioni operative sono state predisposte con il consenso di tutti gli operatori coinvolti ed è stato previsto e pianificato un

programma di riaddestramento con cadenza annuale, per tutto il personale addetto alla gestione dei POCT. Volutamente e tenacemente è stata data grande rilevanza all'addestramento e al tutoraggio permanente, poiché gli operatori che avrebbero utilizzato gli analizzatori, non erano professionalmente formati per l'esecuzione di esami di laboratorio (7). Il capitolato prevedeva la fornitura di analizzatori da banco con produttività adeguata al carico di lavoro previsto. Le specifiche tecniche vincolanti sono indicate nella Tabella 1. Era anche ben chiaro l'impatto economico degli esami effettuati su sistemi POCT, che risulta essere maggiore degli stessi eseguiti su tradizionali analizzatori di laboratorio; questo aspetto si evidenzia anche in letteratura, dove si segnala la necessità di considerare anche i numerosi costi "nascosti", quali i reagenti per la validazione degli strumenti, i materiali per il controllo di qualità, il costo dei tecnici di laboratorio impiegati a supporto di garanzia della qualità per i POCT e il personale dei sistemi informativo/informatico a sostegno del funzionamento delle piattaforme di connettività POCT (8). I parametri analitici previsti sulla base delle reali esigenze cliniche e delle patologie trattate nel contesto del progetto sono elencati nella Tabella 2.

Poiché la connettività tra i sistemi informatici è una componente indispensabile per l'implementazione di un POCT, è stato inserito nel capitolato tecnico l'interfacciamento con il LIS del laboratorio di riferimento. Tale richiesta è imprescindibile per assicurare la tracciabilità dal prelievo alla storicizzazione nel referto del laboratorio e nel *repository* aziendale. Le caratteristiche del software gestionale richiesto sono elencate nella Tabella 3.

La formazione del personale che opera sui POCT, caposaldo per garantire il buon funzionamento di ogni

sistema diagnostico, è stata specificatamente prevista nel capitolato tecnico. In particolare è stato chiesto alla ditta aggiudicataria di organizzare e gestire corsi di addestramento, a vario livello di complessità, che prevedessero la corretta operatività e l'utilizzo dei sistemi POCT, l'interpretazione dei segnali visivi strumentali, dei messaggi di errore e l'eventuale gestione di criticità risolvibili. La consapevolezza del rischio di errori conseguenti l'utilizzo di analizzatori da parte di operatori professionalmente non formati su sistemi analitici di laboratorio, descritto anche in letteratura (9), ha reso più incisiva la richiesta di *re-training* e tutoraggio del personale e la contestuale specifica formazione dei TBLS a garanzia della manutenzione periodica degli strumenti POCT. Per la costruzione di questo percorso che poneva in grande rilevanza il piano del controllo della qualità, sono state di supporto le linee guida CLSI EP23-A (10).

Elementi qualificanti del progetto erano la disponibilità di analizzatori POCT con caratteristiche tali da minimizzare l'operatività umana, avere la tracciabilità dal prelievo alla produzione di risultati, la confrontabilità dei risultati con il laboratorio di riferimento e l'integrazione informatica con il LIS.

I sistemi analitici costituenti il POCT sono:

- analizzatore emocromocitometrico a cinque parametri con campionamento con perforazione del tappo da provetta tipo sottovuoto, identificazione positiva del campione, reagenti a cartuccia, programma di autocontrollo con pulizia automatica dell'ago, gestione e memorizzazione dei CQI;
- strumento per esami di coagulazione con identificazione dei campioni tramite codice a barre, con ridotta manualità, utilizzo di sangue intero/citratato da provetta tappata, calibrazione

Tabella 1

Le specifiche tecniche

- Sistemi analitici compatti, di piccola dimensione, con minima produzione di reflui
- Reagenti, soluzioni e consumabili preferibilmente configurati in cartucce facilmente sostituibili
- Confrontabilità del dato analitico con il laboratorio di riferimento
- Ridotte o assenti attività pre-analitiche (centrifugazione, stappatura, campionamento, diluizione, miscelazione)
- Ottimale la possibilità di operare su provetta tappata con campionamento a perforazione o similare
- Massima semplicità d'uso
- Minimo rischio biologico per l'operatore
- Esecuzione automatica delle calibrazioni
- Disponibilità e tracciabilità di un Controllo Interno di Qualità
- Controllo e gestione in remoto dal laboratorio analisi di riferimento con possibilità di interventi di blocco a fronte di interventi correttivi non risolutivi
- Tracciabilità dell'operatore
- Tracciabilità del dato analitico con storicizzazione dei *file-log* analizzatore (risultati paziente, calibrazioni, controlli di qualità, messaggi di sistema)
- Storicizzazione dei referti e sicurezza dei dati sensibili
- Sicurezza per l'operatore in relazione al rischio biologico

Tabella 2*Il pannello analitico*

- Emocromo con formula (tre o cinque parametri)
- Tempo di protrombina (INR)
- Parametri di chimica clinica: acido urico, alanina amino transferasi, amilasi, aspartato amino transferasi, bilirubina totale, glucosio, calcio, creatinina, proteine totali, urea)
- Troponina I
- D-Dimero
- Proteina C reattiva
- Esame chimico-fisico urine
- β HCG

Tabella 3*Caratteristiche del software gestionale*

- Integrazione con l'applicativo utilizzato per generare le richieste per i pazienti
- Invio della programmazione degli esami agli analizzatori POCT
- Tracciabilità della identità dell'operatore
- Tracciabilità della identità del paziente
- Disponibilità di una interfaccia remota che fornisca, in tempo reale, tutte le informazioni relative agli analizzatori connessi
- Possibilità di eseguire interventi, in remoto, per risolvere eventuali criticità, e, se necessario, bloccare l'esecuzione di parametri analitici fuori controllo
- Assicurazione della refertazione locale nelle 24 ore
- Assicurazione della storicizzazione del referto validato clinicamente e firmato, nel data base del laboratorio e nel repository aziendale

automatica per lotto, risultati espressi in secondi e INR, gestione e memorizzazione dei CQI;

- emogasanalizzatore con CO-ossimetro ed elettroliti con automatismo operatore indipendente, con utilizzo di sangue intero da siringa o capillare, possibilità di misura degli elettroliti (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++}), sistema analitico a cartucce, identificazione positiva del campione tramite lettore di codice a barre integrato, CQI gestito dal software strumentale;
- strumento per chimica clinica totalmente automatico, con reagenti pronti all'uso, esecuzione contemporanea di 10 parametri (acido urico, alanina amino transferasi, amilasi, aspartato amino transferasi, bilirubina totale, urea, calcio, creatinina, glucosio, proteine totali), identificazione dei campioni tramite codice a barre, utilizzo di sangue intero con campionamento da provetta tappata, calibrazione automatica per lotto, gestione e memorizzazione dei CQI eseguiti;
- strumento per marcatori di danno miocardico totalmente automatico, con utilizzo di sangue intero da provetta tappata con campionamento a perforazione del tappo, identificazione dei campioni tramite codice a barre, reagenti pronti all'uso, possibilità di esecuzione del singolo parametro, calibrazione automatica per lotto, gestione e memorizzazione dei CQI.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Governo clinico e responsabilità

Governare il processo analitico-diagnostico significa integrare tutte le fasi che costituiscono il percorso analitico, ponendo il laboratorio nella condizione di assicurare, in tempo reale, il controllo delle strumentazioni decentrate, mantenendo il rischio clinico a un livello basso e clinicamente accettabile.

Nella realizzazione della *governance* clinica dei POCT, le raccomandazioni italiane e internazionali suggeriscono il coinvolgimento di tutti gli attori coinvolti, in un gruppo multidisciplinare (comitato direttivo multidisciplinare). Nell'analisi dei bisogni e delle possibili soluzioni per l'esperienza qui presentata, le valutazioni e le possibili soluzioni sono state discusse con i responsabili del PPI e con il personale che sarebbe stato coinvolto nel progetto: direzione amministrativa e sanitaria, direzione dei servizi coinvolti, laboratorio e PPI, personale tecnico di laboratorio e personale infermieristico, responsabili dei servizi tecnici e informativi, approvvigionamenti e controllo di gestione (7).

Nella modifica di un assetto organizzativo di diagnostica *in vitro*, verso la gestione decentralizzata della fase analitica, le analisi e le scelte conseguenti sono state guidate dalla valutazione dei benefici, rispetto ai rischi, in particolare al rischio clinico.

Rischio clinico

La valutazione del rischio clinico mira a identificare processi e situazioni che possono causare danni o disagi imputabili, anche se in modo non volontario, alle cure mediche prestate durante un periodo di degenza e/o cura che causano un prolungamento della degenza stessa, un peggioramento delle condizioni di salute o la morte. Per un POCT, tale valutazione può iniziare mappando il processo dell'esame, per individuare punti deboli e passaggi che potrebbero generare errori, sapendo che lo studio dell'errore rappresenta un momento centrale nel miglioramento della qualità stessa. Gli strumenti e le azioni che si sono messe in atto per mantenere il rischio clinico a livelli comparabili con gli esami eseguiti presso il laboratorio centrale sono molteplici:

- definizione di un ambito limitato e definito di analisi necessarie;
- scelta di strumentazioni semplici, sicure e il più possibile automatiche (assenza o scarsa numerosità di manutenzioni, semplicità d'uso e rifornimento, calibrizioni e controlli automatici, blocco automatico dei risultati per problemi tecnici, e così via);
- ridotte possibilità di contatto con il materiale biologico da parte dell'operatore;
- identificazione positiva dei campioni;
- connettività per la registrazione, tracciabilità e controllo remoto continuo;
- strutturazione dei controlli di qualità obbligatori, automatici e auto-validanti;
- formazione del personale;
- certificazione delle competenze necessarie acquisite e delle responsabilità;
- definizione di procedure operative, per le fasi pre-analitiche, analitiche e post analitiche, comprese le manutenzioni.

Alcuni punti sono stati descritti precedentemente. Di seguito si focalizzano alcuni elementi chiave per il successo di una realizzazione POCT nell'ambito delle riorganizzazioni territoriali regionali della sanità.

Connettività

Se la prima strategia per prevenire l'errore è la riduzione della complessità con l'automazione delle funzioni, altrettanto importante è l'ottimizzazione dei processi informativi (11). La disponibilità di un *software* che permetta la visualizzazione di tutte le strumentazioni e, per ognuna di queste, di tutte le informazioni (calibrizioni, controlli, messaggi e stato delle operazioni) con possibilità di bloccare parzialmente o totalmente l'analizzatore in presenza di problematiche che possano generare risultati non affidabili, ha permesso di raggiungere l'obiettivo della tracciabilità del processo analitico nella sua totalità. Nel nostro progetto è previsto l'utilizzo dell'interfaccia informatica gestionale del DEA per la richiesta degli esami, l'identificazione del campione mediante codice a barre, l'identificazione dell'operatore, il controllo sistematico degli analizzatori POCT da parte di un operatore del laboratorio, il

controllo in remoto dei sistemi analitici POCT da parte del laboratorio di riferimento, l'immediata disponibilità dei risultati validati tecnicamente e la validazione clinica dei risultati stessi. La storicizzazione delle cartelle e la loro disponibilità nel *repository* aziendale consente e assicura la distinzione dei risultati provenienti dal POCT da quelli prodotti dal laboratorio centrale in sintonia con quanto definito dai requisiti della ISO 22870 (6).

Controllo della qualità analitica

Come per le analisi eseguite nei laboratori centrali, anche in POCT il controllo della qualità analitica mira a: stabilire e monitorare l'esattezza e la precisione del sistema, garantendone l'operatività entro livelli definiti; a verificare che l'analisi sia correttamente eseguita; verificare la conservazione e idoneità dei materiali di consumo; offrire una conferma operativa nel caso di risultati critici o inattesi; stimare lo scostamento (*bias*) verso altri sistemi analitici e verso la metodica di riferimento del laboratorio centralizzato. La semplicità di esecuzione associata alla obbligatorietà dell'esecuzione dei controlli di qualità, pena il non funzionamento delle strumentazioni, sono elementi obbligatori per utilizzatori non specificamente formati in medicina di laboratorio. La connettività, la tracciabilità, la supervisione e il controllo remoto sono stati elementi necessari ma anche strumenti di aiuto e di sicurezza, nella formazione e addestramento per personale coinvolto.

Formazione e addestramento

L'addestramento ha coinvolto tutto il personale infermieristico abilitato all'impiego degli strumenti POCT attraverso sessioni di base (all'atto dell'installazione della strumentazione), e sessioni di approfondimento. Molteplici sono gli argomenti che sono stati inclusi nella formazione: istruzioni sulla sicurezza e principi di funzionamento degli strumenti POCT, uso e limiti dell'impiego delle analisi POCT, interpretazione dei risultati, dei messaggi di errore e loro risoluzioni, procedure per la calibrizzazione e l'analisi dei controlli di qualità, tenuta della documentazione, preparazione del paziente, raccolta del campione, registrazione dei risultati. Importante è stato il coinvolgimento dell'azienda aggiudicataria dell'appalto, già previsto in sede di stesura del capitolato. L'azienda aggiudicataria ha curato anche la formazione dei TSLB che svolgono funzione di supervisori ed è stata parte attiva anche per la definizione delle specifiche istruzioni operative. Inoltre, ha avuto e continua ad avere un ruolo determinante nel curare l'aggiornamento continuo, anche in relazione alle innovazioni dei dispositivi e all'introduzione di nuove tecnologie.

Validazione dei risultati

Per le necessità di tempestività delle risposte e di decentralizzazione dell'analisi, la validazione dei risultati si fonda sull'autovalidazione, basata sulla verifica automatica del buon funzionamento degli strumenti e dei materiali, nonché sul controllo di qualità interno. La

connettività consente un supporto remoto, sia per la risoluzione dei problemi tecnici, sia per la gestione degli esami che non hanno superato le griglie di autovalutazione in presenza di allarmi strumentali.

Manutenzione

Le manutenzioni preventive sono a cura dei tecnici del laboratorio che periodicamente e alle scadenze previste, svolgono funzione di supervisori e mantengono gli strumenti in efficienza. Essi verificano anche l'allineamento dei risultati con i risultati prodotti dal laboratorio centrale. Anche gli approvvigionamenti dei reagenti e dei materiali sono gestiti dal laboratorio centrale, per la garanzia della continuità dei servizi, delle scorte e delle scadenze. L'azienda fornitrice garantisce le manutenzioni straordinarie e gli interventi di riparazione per fermi strumentali non gestibili in autonomia.

Responsabilità finale

La responsabilità finale rimane in capo alla direzione del laboratorio. Nell'ambito di attività diagnostiche *in vitro*, inserite nei percorsi diagnostico-terapeutici dei pazienti, per conoscenze, competenze e specialità, ogni processo analitico deve essere ricondotto alla responsabilità della medicina di laboratorio. Soprattutto in questi anni di riorganizzazioni delle reti sanitarie, anche altre aree cliniche stanno sempre più perdendo i confini territoriali del singolo ospedale, del reparto, del sanitario curante. I modelli per intensità di cure organizzano le attività sulla criticità paziente, ottimizzando al tempo le risorse (12,13). Per i laboratori,

la neutralità del sito diagnostico è sempre più attuale e i confini del "laboratorio centrale" sono oggi da riconoscersi in ogni area di cura (14).

Il governo della fase post-analitica

La diagnostica decentrata ha risposto alla esigenza primaria di rendere compatibile la disponibilità degli esami richiesti in un contesto territoriale incompatibile con l'invio al laboratorio di riferimento, che richiederebbe la disponibilità nell'arco delle 24 ore di una navetta con tempistiche (per il solo trasporto) mediamente superiori ai 30 minuti. Inoltre l'integrazione degli analizzatori POCT con il LIS del laboratorio e con la rete del reparto costituisce l'elemento cardine che assicura il ritorno automatico del risultato, nello stato "validato tecnicamente", visibile e stampabile nella cartella paziente, la validazione clinica contestuale alla firma del referto differita da parte del dirigente del laboratorio di riferimento, la storicizzazione nel data-base e la disponibilità nel *repository* aziendale. La tempestiva disponibilità dei risultati, in particolar modo dei valori critici, al clinico del PPI è garanzia di assistenza e di sicurezza del paziente (15).

Numero di determinazioni e costi

Il costo delle determinazioni su analizzatori POCT è significativamente più elevato delle stesse eseguiti su sistemi analitici di grande produzione, sia per la tecnologia strumentale che necessita di sistemi con un maggiore livello di autocontrollo, che per la ridotta produttività dei sistemi stessi (Tabella 4 e 5). Tali maggiori oneri sono compensati dal vantaggio

Tabella 4

Volumi di attività nell'anno 2017

Parametri analitici	Esami refertati (N)
- Profilo emogasanalisi completo	600
- Troponina T	1.115
- D-Dimero	495
- Proteina C reattiva	1.170
- Tempo di protrombina (INR)	1.125
- Emocromo	1.840
- Profilo chimica clinica	1.530 (15.300 analiti singoli)
- Esame chimico-fisico urine	185

Tabella 5

Spesa anno 2017. I costi non tengono conto del personale e degli oneri di struttura

Determinazioni refertate anno 2017	€	21.830
- Reagenti, controlli e calibratori	€	53.795,50
- Noleggio, gestione connessione informatica e assistenza tecnica	€	4.680,00
- Spesa totale anno 2017	€	58.475,50
- Costo medio test	€	2,68

organizzativo che comporta rilevanti risparmi sulla tempestività della diagnosi e della cura quando l'impatto dei trasporti dei campioni biologici al laboratorio di riferimento sarebbe incompatibile con le tempistiche nella produzione dei dati, la frequenza delle spedizioni, ed il costo stesso della logistica.

CONCLUSIONI

Nonostante la forte pressione a sostegno dei sistemi POCT per migliorare le cure dei pazienti, riducendo tempi e semplificando percorsi, non esistono in letteratura molte evidenze che ne dimostrino un reale vantaggio, in termini di miglioramento dell'outcome. Pecoraro et al. (16) mostrano che solo il 13% degli studi sull'argomento hanno valutato esiti importanti con misure attendibili. Tuttavia, pur essendo un obiettivo minore, l'aiuto che i POCT possono dare per il mantenimento degli standard di qualità necessari alle cure, sembra invece essere interessante e efficace. L'esperienza del PPI nel Presidio Ospedaliero Piemontese della Valle Belbo di Nizza Monferrato ha dato soluzione alla necessità di fornire un tempestivo supporto diagnostico non compatibile con le tempistiche necessarie per eseguire le determinazioni nel laboratorio di riferimento presso il Presidio Ospedaliero Cardinal Massaia di Asti e non risolvibile diversamente. Il controllo in remoto di tutti i POCT decentrati, la sistematica attività di verifica assicurata periodicamente, in loco, con l'intervento di un tecnico di laboratorio specificamente addestrato, il re-training periodico ed il tutoraggio degli operatori assicurano una adeguata affidabilità del dato analitico prodotto, mantenendo sotto controllo il rischio clinico. Le valutazioni rischio-beneficio competono alle direzioni strategiche, ma nei vincoli imposti dalle riorganizzazioni, le soluzioni POCT possono essere di aiuto, se governate clinicamente in una visione complessiva e olistica della cura del paziente.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Agenzia Nazionale per i Servizi sanitari regionali (AGE.NA.S).Linee di Indirizzo per la Riorganizzazione dei Servizi di Medicina di Laboratorio nel Servizio Sanitario Nazionale. Marzo 2009. <http://www.agenas.it/innovazione-hta-e-dispositivi-medici/linee-di-indirizzo-per-la-riorganizzazione-dei-servizi-di-medicina-di-laboratorio-nel-servizio-sanitario-nazionale> (ultimo accesso: febbraio 2019)
2. Institute of Medicine. Committee on Quality of Health Care in America. Editors Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS. To Err is Human: building a safer health system. National Academies Press, Washington; 2000. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK225182/> (ultimo accesso: febbraio 2019)
3. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, suppl. al n. 37-13.09.2007. Deliberazione della Giunta Regionale n. 19-6647 del 03.08.2007. Riorganizzazione e razionalizzazione delle attività di laboratorio analisi. Prime indicazioni alle Aziende Sanitarie Regionali
4. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte n. 23-10.06.2010. Determinazione Direzione Sanità n. 199 del 29.03.2010. Approvazione modalità e criteri per le attività analitiche eseguite con tecnologia POCT (Point of care testing) in ambito ospedaliero..
5. UNI EN ISO 15189:2013. Laboratori medici. Requisiti riguardanti la qualità e la competenza. International Organization for Standardization: Geneva, 2012.
6. UNI EN ISO 22870:2017. Analisi decentrate (Point-of-care testing, POCT). Requisiti per la qualità e la competenza. International Organization for Standardization: Geneva, 2017.
7. Di Serio F, Trenti T, Carraro P. Raccomandazioni per l'implementazione e la gestione del "point-of-care testing" (POCT). *Biochim.Clin.* 2011; 35:242-52.
8. Shaw Julie LV. Practical challenges related to point of care testing. *Pract Lab Med.* 2016;4:22-9.
9. O'Kane M. J. Quality error rates in Point-of- Care testing. *Clin Chem.* 2011;57:1267-71.
10. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Laboratory quality control based on risk management; approved guideline, 1st ed. CLSI document EP23A. CLSI:Wayne, PA, 2016.
11. James HN. Risk management for point-of-care testing. *EJIFCC* 2014;25:154-61.
12. Chesi G, Boni F. Ospedali e modelli organizzativi per intensità di cure: il punto di vista dell'internista. *Italian Journal of Medicine*, 2012;6:63-71.
13. Guarinoni MG, Motta PC, Petrucci C, et al. Progressive patient care model and its application into hospital organization: a narrative review. *Prof Inferm* 2013;66:205-14.
14. Plebani M. Quality in laboratory medicine: 50 years on. *Clin Biochem* 2017;50:101-4.
15. Piva E, Sciacovelli L, Pelloso M, Plebani M. Performance specifications of critical results management. *Clin Biochem.* 2017;50:617-21.
16. Pecoraro V, Germagnoli L, Banfi G. Point-of-care testing: where is the evidence? A systematic survey. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:313-26.

La fase pre-analitica dei campioni provenienti dal Pronto Soccorso: impatto della introduzione di un impianto di posta pneumatica nel miglioramento del tempo di risposta

Vania Polesello¹, Ruggero Dittadi¹, Haleh Afshar¹, Giulia Bassan¹, Mara Rosada², Luca Del Ninno³, Paolo Carraro¹

¹Medicina di Laboratorio, Ospedale dell'Angelo, Azienda ULSS 3 Serenissima, Mestre Venezia

²Pronto Soccorso, Ospedale dell'Angelo, Azienda ULSS 3 Serenissima, Mestre Venezia

³Direzione Amministrativa, Ospedale dell'Angelo, Azienda ULSS 3 Serenissima, Mestre Venezia

ABSTRACT

Improving pre-analytical laboratory turnaround time for the emergency department: outcomes of a pneumatic tube system introduction.

Background: the pre-analytical phase of the stat tests requested by the Emergency Department (ED) has been rarely studied in relation to the containment of the laboratory turnaround time (TAT).

Methods: through a pre-analytical workflow analysis in a large ED with "Lean" methodology, some improvements have been activated, including the installation of a pneumatic tube system (PTS).

Results: significant improvement of TATs (23 minutes at 90th percentile) and also of length of stay (LOS) of ED patients (53 minutes at 90th percentile) has been documented. The plasma concentrations of a number of analytes measured in samples transported manually and by PTS were very similar (lactic dehydrogenase excluded), demonstrating that PTS does not alter the integrity of the samples.

Conclusions: compared to manual transportation, the use of this PTS significantly reduced transport time and also improved some pre-analytical flow phases within the ED. The system is suitable for the measurement of most of the analytes commonly requested for ED patients.

INTRODUZIONE

Presso il Pronto Soccorso (PS) il tempo necessario per ottenere i risultati degli esami di laboratorio è particolarmente importante per diverse ragioni: nei pazienti critici per garantire un intervento tempestivo, nei pazienti meno critici per una migliore gestione del paziente. In questo modo si possono favorire dimissioni o ricoveri più rapidi e globalmente si ottimizza l'organizzazione della struttura, riducendo l'affollamento del reparto velocizzando il flusso dei pazienti. Il calcolo ed il monitoraggio del tempo di risposta del laboratorio (*Turn-Around Time*, TAT) è un importante indicatore di qualità del processo di laboratorio e della sua efficienza (1). La sua prima definizione è stata proposta da Lundberg con il *brain-to-brain loop* (2) come un ciclo di nove passaggi dalla richiesta del medico fino alla decisione clinica conseguente al referto del laboratorio.

Per diversi anni questo concetto è stato discusso e ha trovato un'applicazione meglio definita attraverso i documenti di consenso pubblicati da IFCC (3, 4). I laboratori determinano di norma solo la componente intra-laboratorio di questo tempo, quale monitoraggio dell'efficienza del servizio d'urgenza. Tuttavia, il tempo impiegato per il prelievo ed il trasporto dei campioni è un tempo rilevante e spesso comprimibile. L'introduzione di un impianto di posta pneumatica (*Pneumatic Tube System*, PTS) rappresenta un'opzione utile a questo scopo (5).

In realtà, il monitoraggio del TAT come indicatore del servizio d'urgenza è rilevante solo se inteso nella sua completezza, dal prelievo al referto, con tutte le relative variabili. Un indicatore tipico di efficienza del PS è rappresentato dal tempo di permanenza del paziente fino al suo ricovero o alla sua dimissione (*Length of Stay*, LOS) ed un suo contenimento è anche un obiettivo per

Corrispondenza a: Paolo Carraro, Medicina di Laboratorio, Ospedale dell'Angelo, via Paccagnella 11, Mestre Venezia. Tel 041 9657542; E-mail paolo.carraro@aulss3.veneto.it

Ricevuto: 25.01.2019

Revisionato: 05.03.2019

Accettato: 01.04.2019

Pubblicato on-line: 16.04.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.036

ridurre l'affollamento delle sale d'attesa. Un recente studio multicentrico ha dimostrato una relazione diretta tra il TAT del laboratorio e il LOS: in particolare una diminuzione media di un minuto del TAT è risultato associato ad una riduzione media del LOS di 50 secondi (6). Comunque, il LOS del PS dipende anche da molte altre variabili, quali la gravità del paziente e la necessità di ricorrere ad esami per immagini, consulenze specialistiche ed altre diagnostiche; quindi gli interventi per ridurre il TAT del laboratorio possono avere ricadute solo indirette sul LOS.

L'installazione di un impianto di PTS in sostituzione del trasporto manuale dei campioni è considerata un'automazione di una componente della fase pre-analitica (7) che può determinare una riduzione del TAT del laboratorio (8, 5). E' anche noto che, in taluni casi i sistemi PTS possono influire sull'integrità del campione di sangue, in particolare per alcuni analiti sensibili allo stress meccanico e alle variazioni di pressione dell'aria. Una recente revisione sistematica e metanalisi ha riscontrato alterazioni significative relativamente ai risultati di pochi parametri biochimici: potassio, lattato deidrogenasi, aspartato aminotransferasi, seppure queste non risultino clinicamente rilevanti (9). Altri esami sensibili al trasporto pneumatico sono l'aggregazione piastrinica e la tromboelastometria che non sono di norma richiesti in un contesto di PS (10). Anche le pressioni parziali dei gas possono essere alterate da variazioni di pressione interne all'impianto, in particolare se il campione inviato è un tubo capillare da paziente neonato (11). Per queste motivazioni, alcuni autori raccomandano un'accurata messa a punto del PTS in ogni ospedale in modo da assicurare la qualità del campione trasportato ed evitare l'emolisi meccanica (9), anche utilizzando un dispositivo che, inserito nel posto delle provette, registri gli scuotimenti ricevuti.

In questo studio viene riportata un'analisi dell'intero flusso di lavoro pre-analitico in PS a partire dal prelievo, dall'identificazione ed accettazione informatica, fino al trasporto del campione e al suo arrivo in laboratorio con metodologia Lean, applicata sia prima che dopo l'installazione del PTS. Gli esiti studiati sono la variazione di TAT pre-analitico, il LOS dei pazienti in PS, la stabilità dei campioni nello specifico impianto.

METODI

Il PS dell'Ospedale dell'Angelo di Mestre (Venezia) riceve pazienti di ogni età e patologia; nel 2017 sono stati effettuati circa 92.000 accessi. Nello studio è stata effettuata una valutazione dei flussi in un campione casuale di soggetti nel primo semestre del 2017 in confronto con analogo campione del primo semestre 2018. Nella valutazione del LOS sono stati invece considerati tutti i casi presentatisi nei due semestri, esclusi i pazienti di età inferiore a 15 anni che utilizzano un percorso diverso, quelli con una permanenza superiore a 24 ore perché trattenuti per un periodo di osservazione esteso, quelli con richiesta di esame urine

che possono mostrare tempi di attesa più lunghi.

Modalità di trasporto

Il PS si trova fisicamente nello stesso edificio del laboratorio alla distanza di un piano e circa 80 metri di corridoio.

Fino a tutto l'anno 2017 il personale infermieristico proveniente sia dall'area verde che dall'area critica del PS raccoglieva le provette in una postazione centrale dove un addetto al trasporto dei campioni transitava con frequenza compresa tra i 20 e i 30 minuti o immediatamente in caso di emergenze, confezionava un idoneo contenitore ed a piedi raggiungeva il laboratorio. Due ricercatori hanno preventivamente studiato nel dettaglio questi percorsi seguendo strettamente gli operatori del PS cronometrando e registrando tutte le fasi in 142 casi, in diversi giorni ed in diversi orari della giornata nell'arco di un mese. Sono state così identificate diverse fasi del processo dal prelievo fino all'arrivo in laboratorio. Sulla base delle informazioni raccolte, secondo la metodologia Lean, è stata costruita una *Value Stream Map* che identifica in particolare le fasi di parcheggio temporaneo e di attesa prive di valore aggiunto. Da queste osservazioni è derivata la scelta di installare un PTS tra i due reparti.

Ripetendo la stessa metodologia sono stati rilevati i tempi dettagliati delle fasi di trasporto successivamente all'intervento, in 173 casi campionati in un mese per un calcolo dell'impatto del sistema sul TAT pre-analitico, misurato con la mediana ed il 90° percentile dei tempi.

Intervento

Dopo attenta valutazione di diverse tipologie di impianto, la scelta è caduta su un sistema monodirezionale, specifico per dipartimenti d'emergenza, con diametro interno di 2,5 cm e lunghezza di 60 metri, che non necessita di contenitori secondari da confezionare e che spedisce una provetta per volta in rapida successione (TEMPUS600@TIMEDICO, fornito da EOS s.r.l., Padova, Italy).

Il PTS è stato anche fornito di un sistema informatico di tracciatura delle provette mediante lettura del codice in partenza e all'arrivo. Questo per ottenere un riscontro sugli orari delle spedizioni che talora sono oggetto di contestazioni.

La stazione di invio è stata posizionata nella sede più prossima agli ambulatori e all'area critica e sono state eliminate le superfici di appoggio dei campioni ed i portaprovette. Il sistema è operativo dal gennaio 2018.

Valutazione dell'integrità del campione

Come raccomandato in alcuni studi (12, 13) è stato valutato se il campione che giunge in laboratorio presenta risultati biochimici non significativamente diversi se trasportato con il PTS in confronto al trasferimento manuale. Sono stati verificati inizialmente i dati ottenuti su 49 casi clinici per i quali era necessario il

prelievo di due campioni simultanei in litio-eparina per gli esami assistenziali, uno inviato con PTS ed uno condotto manualmente al laboratorio da uno dei ricercatori. Nel caso di un indice di siero relativo all'emolisi superiore a 0 nel campione trasportato manualmente, la coppia di campioni veniva preventivamente esclusa dallo studio. La scelta degli analiti ha riguardato quelli maggiormente interessati da fenomeni di micro-emolisi: alanina aminotransferasi (ALT), amilasi pancreatica, aspartato aminotransferasi (AST), bilirubina totale, creatinina, lattato deidrogenasi (LDH), potassio; tutte le determinazioni sono state effettuate su plasma con metodiche di routine (AU5800, Beckman Coulter S.p.A. Cassina de' Pecchi, Milano). La scelta dei parametri è stata basata su precedenti prove di sensibilità alla micro-emolisi (9, 10, 13, 14). Sulla base di questi primi risultati si è proceduto ad integrare la numerosità campionaria in particolare per potassio e LDH fino ad un totale di 130 casi. Questo è stato ottenuto con la stessa metodologia valutando coppie di provette trasportate al laboratorio con le due modalità sopra descritte. Delle coppie di risultati ottenuti è stata valutata la media, la media delle percentuali dei bias con i rispettivi intervalli di confidenza al 95% (IC95%), il confronto delle differenze percentuali con il bias ammissibile (considerando di riferimento il trasporto manuale, quindi "PTS – a mano") e l'errore totale ammissibile (ETa) sulla base di recenti informazioni di letteratura sulle specifiche variabilità biologiche (15, 16, 17).

Nella registrazione e gestione delle informazioni cliniche e dei risultati è stata rispettata ed applicata la dichiarazione di Helsinki del 1975, come emendata nel 1996.

Impatto dell'intervento sul LOS dei pazienti in PS

Sono stati confrontati i dati di LOS del primo semestre del 2017 con quelli corrispondenti del 2018, includendo tutti i casi ad esclusione dei soggetti di età inferiore a 15 anni (in quanto inviati in reparto pediatrico) e quelli avviati al reparto di osservazione breve a causa della condizione clinica. Sono stati considerati quindi tutti i soggetti che potevano aver avuto richieste, oltre che di esami di laboratorio, anche di diagnostica per immagini, consulenze varie, o anche nessun esame aggiuntivo. Sono stati calcolati la mediana e il 90° percentile di questi tempi quali indicatori del LOS di PS, oltre al range interquartile. La numerosità di casi considerati è stata di 29.780 nel primo semestre 2017 e 32.773 nel 2018. Per rafforzare l'ipotesi che sia stato il miglioramento del laboratorio ad influire sul LOS, abbiamo anche calcolato lo stesso parametro limitatamente ai casi che includevano i soli esami di laboratorio senza nessuna altra diagnostica o consulenza; di conseguenza un numero di casi nettamente inferiore (3.772 nel 2017 e 3.908 nel 2018).

Valutazione statistica

I dati sono stati gestiti con il software Microsoft Excel 2010 e con il programma MedCalc © Software, Version 7.4.2.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) I confronti con l' ETa sono stati effettuati utilizzando le differenze percentuali tra il campione trasportato a mano (considerato come riferimento) e quello trasportato utilizzando il PTS. Per i confronti fra i tempi di attesa è stato utilizzato il test non parametrico Mann-Whitney.

RISULTATI

Il rilievo dei tempi caso per caso nei due periodi prima e dopo l'intervento, ha consentito l'identificazione di più fasi: prelievo dei campioni di sangue, attesa per l'etichettatura (inserimento della richiesta e stampa delle etichette), attesa per il trasporto, trasporto. La fase di accettazione informatica infatti avviene prima del prelievo nei pazienti in condizioni cliniche non gravi, mentre avviene dopo il prelievo quando in area critica viene incannulata una via venosa quale prima manovra dopo il triage. I tempi cronometrati in ogni fase sono riportati nella Tabella 1 e mostrano un miglioramento post intervento di 19 e 26 minuti rispettivamente come mediana e 90° percentile. Ogni singola fase infatti risulta più rapida, ad esclusione del prelievo.

I risultati della valutazione di integrità dei campioni di sangue, attraverso il confronto delle coppie di risultati ottenuti con le due modalità di trasporto, mostrano valori medi delle differenze delle due determinazioni strettamente allineati, con bias medio e relativi intervalli di confidenza accettabili in confronto con il bias stimato sulla variabilità biologica (Tabella 2). LDH è il solo analita risultato critico, in quanto le differenze fra i due tipi di trasporto superano frequentemente i limiti dell'intervallo di ETa. Di LDH e di potassio vengono rappresentati in Figura 1 i dati puntiformi delle differenze e la frequenza di superamento dell'intervallo di ETa: nel caso del potassio i dati complessivi superano l'ETa nel 14,6% dei casi (19/130), mentre per LDH i casi che superano ETa sono il 33,1% (43/130). Questi dati peraltro confermano gli studi precedenti che segnalano una forte sensibilità di LDH alle sollecitazioni meccaniche del sangue, con incrementi di concentrazione (9).

Il calcolo del LOS complessivo per tutti i 29.780 casi considerati prima dell'intervento mostra una mediana di 2 ore e 28 minuti ed un 90° percentile di 6 ore e 38 minuti. Dopo l'intervento (32.773 casi) questi tempi si sono ridotti a 2 ore e 24 minuti e 5 ore e 38 minuti, rispettivamente. Considerando i pazienti che hanno avuto solo richieste di esami di laboratorio ed escludendo tutti gli altri casi, il vantaggio è risultato maggiore nel confronto delle mediane attestandosi a 21 minuti (Tabella 3). In ambedue le casistiche le differenze sono risultate statisticamente significative (Mann-Whitney test $p < 0,001$).

Tabella 1

Confronto dei tempi impiegati nelle diverse fasi pre-analitiche prima (pre intervento) e dopo (post intervento) l'introduzione dell'impianto di posta pneumatica, espresse in minuti e secondi (mm:ss), sulla base delle misurazioni effettuate dai ricercatori direttamente in pronto soccorso.

		Prelievo di sangue	Attesa etichettatura	Attesa trasporto	Trasporto	Totale	Miglioramento
Pre Intervento	25° percentile	1:40	1:00	7:00	1:45	16:00	
(142 casi) mm:ss	Mediana	02:00	03:00	12:00	02:00	23:30	-
	75° percentile	03:15	05:00	19:15	02:10	32:30	-
	90° percentile	04:18	25:12	27:18	02:55	43:24	-
Post Intervento	25° percentile	0:43	0:31	0:16	0:25	2:27	13:33
(173 casi) mm:ss	Mediana	01:00	01:00	00:32	00:25	04:27	19:03
	75° percentile	02:30	03:00	01:53	00:25	09:16	23:14
	90° percentile	05:00	07:40	03:58	00:25	17:18	26:06

Tabella 2

Concentrazione media di alcuni parametri biochimici plasmatici determinati su coppie di provette trasportate a mano e con l'impianto di posta pneumatica (PTS): scostamento medio percentuale (con Intervalli di Confidenza al 95%) rispetto a quello ammissibile e rispetto all'errore totale ammissibile (15; 16; 17).

Analita	Coppie n	Concentrazione media Invio a mano	Concentrazione media Invio PTS	Bias % (IC95%)	Differenza IC95%	ETa (%)	Casi al di fuori dell' ETa
ALT (U/L)	49	22,3	22,2	0,14 (-1,11 / 1,39)	-7,05/9,54	14,4	0
Amilasi Pancreatica (U/L)	49	31,9	31,6	-0,78 (-1,24 / -0,32)	-3,69/2,02	11,6	0
AST (U/L)	49	24,7	24,9	1,25 (0,22 / 2,28)	-5,67/6,53	13,4	0
Bilirubina totale (µmol/L)	49	12,1	12,1	-0,42 (-1,2 / 0,36)	-6,36/3,36	28,3	0
Creatinina (µmol/L)	49	77,8	78,7	1,84 (1,39 / 2,29)	-1,17/4,45	6,4	0
LDH (U/L)	130	213,5	221,3	3,74 (2,37 / 5,1)	-11,2 / 22,2	7,7	43
Potassio (mmol/L)	130	4,14	4,13	-0,31 (-0,78 / 0,16)	-5,17/ 5,78	4,7	19

PTS, impianto di posta pneumatica; IC95%, intervallo di confidenza al 95%; ETa, errore totale ammissibile; ALT, alanina aminotransferasi; AST, aspartato aminotransferasi; LDH, lattato deidrogenasi

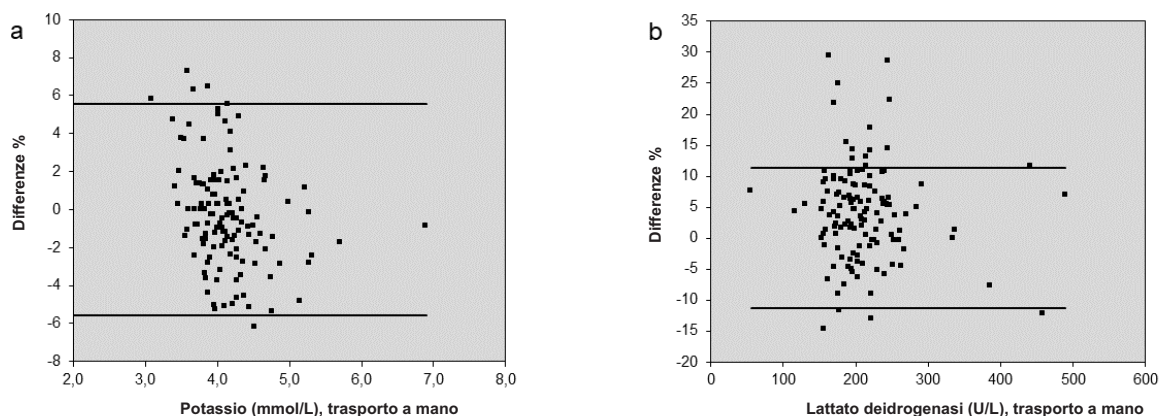
**Figura 1**

Grafico bias-plot che confronta le differenze di coppie di dati ottenuti con il trasporto a mano (riferimento) e quello mediante impianto di posta pneumatica in rapporto all'area (linee continue) interna all'Errore Totale ammissibile specifico per quel parametro. Nel riquadro a) il confronto per lattato deidrogenasi mostra un bias medio di 43 punti che superano l'accettabilità statistica; in b) analogo confronto per il potassio con 19 punti esterni all'intervallo di Errore Totale ammissibile del 4,7%.

Tabella 3

Tempo di permanenza in pronto soccorso (LOS) nel I semestre 2017 (pre-intervento) e nel I semestre 2018 (post intervento), espresso come mediana e 90° percentile in ore e minuti (hh:mm). Confronto tra tutti i casi registrati, indipendentemente dalle indagini diagnostiche richieste e, colonne a destra, i casi che richiedevano solo esami di laboratorio.

	LOS (tutti i casi)			LOS (pazienti che hanno richiesto solo esami di laboratorio)		
	Pre Intervento	Post Intervento	Tempo Risparmiato	Pre Intervento	Post Intervento	Tempo Risparmiato
n	29 780	32 773		3 772	3 908	
25° percentile hh:mm	1:20	1:16	0:04	1:41	1:24	0:17
Mediana hh:mm	2:28	2:24	0:04	2:30	2:09	0:21
75° percentile hh:mm	4:18	3:51	0:27	4:07	3:36	0:31
90° percentile hh:mm	6:38	5:38	0:53	7:09	6:19	0:50

DISCUSSIONE

Con questo lavoro abbiamo identificato le fasi che compongono il TAT pre-analitico extra laboratorio, dalla richiesta di esami fino alla consegna delle provette. È stato quindi implementato il sistema di trasporto Tempus 600, e l'intervento ha permesso un significativo miglioramento in particolare nelle fasi di attesa: prima dell'etichettatura delle provette e prima della spedizione. Quest'ultimo miglioramento era effettivamente prevedibile anche attraverso un calcolo teorico, ma è stato assicurato dal fatto che l'operatore (generalmente un infermiere) che ha completato le fasi di prelievo non necessita più di un passaggio di consegne ad altro operatore per il trasporto; inoltre la semplicità del processo di spedizione rende più agevole l'invio

immediato piuttosto che la ricerca di un'area di parcheggio. Abbiamo registrato un miglioramento anche della prima fase di attesa, per l'identificazione delle provette, con nostra sorpresa in quanto questa non aveva subito cambiamenti organizzativi a seguito dell'intervento. Secondo la nostra opinione potrebbe aver beneficiato di due fattori: dell'operatore unico e della maggiore sensibilizzazione degli operatori ottenuta attraverso lo studio di queste fasi. In effetti lo snellimento del flusso dei pazienti ha prodotto un immediato vantaggio per le diverse figure professionali, producendo una maggiore motivazione nel limitare i potenziali ritardi.

Per quanto attiene all'integrità del campione ci siamo soffermati su alcuni analiti biochimici sui quali già altri studi avevano focalizzato l'attenzione, in particolare con tipologie di posta pneumatica più tradizionali, dove la

provetta ha margini di movimento anche all'interno dei bossoli di spedizione oltre che all'interno del tubo. Non abbiamo considerato esami quali la tromboelastometria, l'aggregazione piastrinica, e l'emogasanalisi che sono esami decentrati presso i reparti di cura, né gli esami di coagulazione ed ematologici. Questi ultimi due casi possono rappresentare una limitazione di questo studio, seppure ci siano già evidenze in letteratura di buona integrità del campione (10,13). Sostanzialmente con lo studio applicato alla nostra specifica installazione abbiamo potuto confermare che per LDH si possono verificare problemi di accuratezza che superano la variabilità biologica, sia come frequenza di superamento di ETa che come bias medio con evidente sovrastima nel trasporto PTS; pertanto ne raccomandiamo il trasporto manuale. I dati relativi alla determinazione di potassio hanno mostrato una variabilità nel confronto tra le due modalità di trasporto, sia nel senso della sovrastima che della sottostima. Si tratta di risultati che necessitano di un approfondimento ulteriore relativo alle diverse variabili delle fasi pre-analitiche. Il bias è però risultato contenuto ed accettabile rispetto alla variabilità biologica ed anzi in controtendenza rispetto alla potenziale emolisi che veniva prevenuta. Per questa ragione si può ritenere il sistema PTS idoneo anche per questa determinazione.

Il miglioramento del LOS rappresenta un importante esito clinico favorevole del nostro studio. Alla distanza di un anno non erano stati sviluppati cambiamenti significativi dell'organizzazione del PS: il numero di ambulatori di visita sono rimasti gli stessi, il numero di medici addetti al PS è rimasto invariato, il numero di accessi invece è moderatamente aumentato. Solo il percorso per gli esami radiologici ha subito cambiamenti minori. Proprio per assegnare questo miglioramento di LOS con più sicurezza al ridotto TAT di laboratorio, è stato calcolato il LOS dei casi che non necessitavano di ulteriori indagini diagnostiche: da questi dati abbiamo ottenuto conferma della nostra ipotesi.

CONCLUSIONI

La nostra esperienza dimostra che l'implementazione di questo particolare PTS consente di accelerare il percorso diagnostico e di velocizzare il flusso dei pazienti all'interno del PS, in confronto con la precedente organizzazione che prevedeva il trasporto manuale. Questo risultato è stato ottenuto senza condizionare la qualità delle prestazioni di laboratorio, con poche eccezioni per analisi richieste più raramente, che vanno recapitate a mano in laboratorio.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Negri M, Carraro P, Caenaro Get al. External quality assessment of stat test intralaboratory turnaround times. pilot study from the members of the working group for the standardization and promotion of turnaround time control under the auspices of the Comitato Italiano per la Standardizzazione dei Metodi Ematologici e di Laboratorio. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 867-70.
- Lundberg GD. Acting on significant laboratory results. *JAMA* 1981;245:1762-3
- Plebani M, Lippi G. Closing the brain-to-brain loop in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1131-3.
- Sciacovelli L, Panteghini M, Lippi G et al. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: a consensus statement on behalf of the IFCC Working Group "Laboratory Error and Patient Safety" and EFLM Task and Finish Group "Performance specifications for the extra-analytical phases". *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1478-88.
- Fernandes CM, Worster A, Eva K et al. Pneumatic tube delivery system for blood samples reduces turnaround times without affecting sample quality. *J Emerg Nurs* 2006;32:139-43.
- Kaushik N, Khangulov VS, O'Hara M et al. Reduction in laboratory turnaround time decreases emergency room length of stay. *Open Access Emerg Med* 2018;10:37-45.
- Bet VM, Marazzi MG, Vianello E et al. Posta pneumatica: evoluzione della fase pre-analitica nei Servizi di Medicina di Laboratorio; aspetti organizzativi e gestionali. *Riv Ital Med Lab* 2015;11:165-70.
- Steindel SJ, Howanitz PJ. Physician satisfaction and emergency department laboratory test turnaround time: observations based on College of American Pathologists Q-Probes studies. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:863-71.
- Kapoula GV, Kontou PI, Bagos PG. The impact of pneumatic tube system on routine laboratory parameters: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1834-44.
- Suchsland J, Winter T, Greiser A, et al. Extending laboratory automation to the wards: effect of an innovative pneumatic tube system on diagnostic samples and transport time. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:225-30.
- Pupek A, Matthewson B, Whitman E et al. Comparison of pneumatic tube system with manual transport for routine chemistry, hematology, coagulation and blood gas tests. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55:1537-44.
- Nybo M, Lund ME, Titlestad K et al. Blood sample transportation by pneumatic transportation systems: a systematic literature review. *Clin Chem* 2018; 64:782-90.
- Lee AJ, Suh HS, Jeon CH et al. Effects of one directional pneumatic tube system on routine hematology and chemistry parameters; A validation study at a tertiary care hospital. *Pract Lab Med* 2017;9:12-7.
- Andersen IB, Mogensen N, Brandslund I. Stability of biochemical components in blood samples transported by Tempus600/Sysmex GLP Robot Reception System. *J Appl Lab Med* 2017;1:376-86.
- Carobene A, Røraas T, Sølviik UØ et al. Biological variation estimates obtained from 91 healthy study participants for 9 enzymes in serum. *Clin Chem* 2017;63:1141-50.
- Carobene A, Marino I, Coşkun A et al. The EuBIVAS Project: within- and between-subject biological variation data for serum creatinine using enzymatic and alkaline picrate methods and implications for monitoring. *Clin Chem*. 2017; 63:1527-36.
- Aarsand AK, Díaz-Garzón J, Fernandez-Calle P et al. The EuBIVAS: within- and between- subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direct bilirubin, and glucose. *Clin Chem*. 2018; 64:1380-93. *Lab Med* 2014;52:313-26.

Laboratorio clinico: non sempre più grande è migliore

Mario Plebani

Dipartimento Strutturale Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale Università di Padova

Traduzione a cura di Martina Zaninotto (Padova)

ABSTRACT

Clinical laboratories: not always bigger is better. Laboratory services are undergoing substantial consolidation and changes through mechanisms ranging from mergers, acquisitions and outsourcing, primarily based on the expectation towards increasing volumes, improving efficiency, and reducing cost per test. However, in laboratory medicine the relationship between volume and costs is not linear, as numerous variables may influence the comprehensive costs. In particular, the relationship between volumes and costs does not span the entire pattern of clinical laboratories: high costs are associated with low volumes up to a threshold of about one million test per year. Over this threshold, there is no linear association between volumes and costs, as the laboratory organization rather than test volumes affects the final costs more significantly. Available evidence collected in the last decades, namely data on laboratory errors and associated diagnostic errors and risk for patient harm emphasizes the need for a paradigmatic shift: from a focus on volumes and efficiency to a patient-centered vision restoring the nature of laboratory services as an integral part of the diagnostic and therapy process. In particular, the vulnerability of extra-analytical phases and the lack of reliable quality specifications in pre- and post-analytical steps do not allow an improvement in the ultimate laboratory information. Process and outcome quality indicators have been proposed as effective tools to measure and improve laboratory services by stimulating a competition based on intra- and extra-analytical performance specifications, intermediate outcomes and customer satisfaction. Rather than competing with economic value, clinical laboratories should adopt a strategy based on a set of harmonized quality indicators and performance specifications, active laboratory stewardship, and improved patient safety.

INTRODUZIONE

I servizi di Medicina di Laboratorio nel mondo vengono sottoposti a sostanziali processi di consolidamento attraverso meccanismi di fusione, acquisizioni, esternalizzazione delle attività, con il principale obiettivo di migliorare l'efficienza, aumentare i volumi di produzione e ridurre il costo per esame (1). Tuttavia, vi è una insufficiente valutazione dei rischi che questi cambiamenti possono avere sulla qualità dei servizi e sulla sicurezza per il paziente. Scopo di questo lavoro è discutere i dati disponibili sui processi di consolidamento dei laboratori e sulle attività di esternalizzazione.

RELAZIONE TRA VOLUMI ED ESITI NEI SISTEMI DI CURA

La motivazione più stringente utilizzata per promuovere il consolidamento dei laboratori, è che le fusioni possono migliorare gli esiti attraverso l'aumento dei volumi. Tuttavia, nella relazione tra volumi ed esiti dovrebbero essere presi in considerazione numerosi aspetti. In medicina, infatti, tale relazione varia significativamente in funzione delle condizioni e degli esiti considerati, con i maggiori vantaggi rilevati per un ristretto numero di interventi chirurgici tecnicamente difficili quali l'esofagectomia e la pancreatectomia. In tutte le altre condizioni, i vantaggi legati ai volumi sono

Questo articolo è la traduzione di "Clinical Laboratory: bigger is not always better" Diagnosis (Berlin) 2018;5:41-6, con il permesso dell'Editore

Ricevuto: 23.05.2018

Accettato: 23.05.2018

Pubblicato on-line: 15.11.2018

DOI: 10.19186/BC_2018.66

meno evidenti e la relazione volume-esiti non è solitamente lineare (2). Un aspetto che sta emergendo, evidenza come la relazione volume-esiti possa semplicemente essere un surrogato di altri processi, quali ad esempio la disponibilità di sistemi specifici *in situ* per riconoscere e gestire efficacemente la complessità. Nel corso di una revisione di dati presenti in letteratura, Tsai e Jha suggeriscono che il miglioramento della qualità nel servizio di cura dovrebbe essere perseguito attraverso un miglioramento dei processi che creano migliori esiti per i pazienti e affermano che *“pensare di creare qualità aumentando i volumi può essere un fenomeno confondente la causa con l'effetto”* (3). Un importante studio condotto più di dieci anni fa, ha evidenziato che il numero di resezioni intestinali eseguite in ospedale, era un migliore predittore di mortalità dopo pancreatoduodenectomia piuttosto che il numero stesso di pancreatoduodenectomie eseguite, suggerendo che il rapporto volume-esiti è un po' più complicato della convinzione che *“la pratica rende perfetti”* (4). Sfortunatamente, l'illuminata visione di Michael Porter che *“il sistema di cura deve spostarsi dal volume dei servizi rilasciati, al valore creato per i pazienti”* dove il termine valore è definito come *“gli esiti raggiunti in relazione ai costi”* (5), è tuttora poco applicata nella pratica clinica. Il progredire di questa visione è lento ed incerto, soprattutto perché le misure degli esiti rimangono limitate, non standardizzate ed orientate allo stato clinico e non funzionale (6). Tuttavia, lo spostamento dai volumi al valore, misurato attraverso indicatori affidabili di esito, rappresenta un passo avanti decisivo nell'accelerare l'adozione dell'indicatore “miglioramento del valore” nei sistemi di cura. Attualmente, la trasformazione da volume a valore non è più solo teorica e richiede una accurata quantificazione di costi ed esiti a livello del singolo paziente (7).

RELAZIONE VOLUME-ESITI IN MEDICINA DI LABORATORIO

In medicina di laboratorio, è stato dimostrato che la relazione tra volume e costi non è lineare e che numerose variabili influenzano il costo finale per esame (8). In particolare, la relazione tra volumi e costi non si applica a tutte le tipologie di laboratori clinici: alti costi sono associati a bassi volumi fino ad un limite di circa 1 milione di esami/anno. Al di sopra di questo limite, questa relazione non è più lineare perché l'organizzazione del laboratorio, piuttosto che il volume, influenza significativamente i costi finali. L'organizzazione del laboratorio, la complessità della struttura principale (per esempio centri universitari, centri di cura primari, secondari o terziari), differenti complessità cliniche ed il rapporto tra pazienti ricoverati ed ambulatoriali, oltre che specifici problemi gestionali, comportano significative ricadute sull'efficienza e dovrebbero essere tenuti in grande considerazione nella programmazione delle riorganizzazioni dei servizi di laboratorio all'interno del sistema sanitario (8). Un altro studio, condotto in una diversa area geografica (Taiwan), conferma che l'aumento dei volumi non è sufficiente per raggiungere l'efficienza perché, in una situazione sempre più competitiva, diviene necessario aumentare il livello di qualità e la specializzazione del repertorio degli esami eseguiti per mantenere posizioni di eccellenza (9). Inoltre, la relazione tra costi e prezzi pagati ai laboratori clinici, è una problematica molto controversa perché non vi sono dati basati sull'evidenza. In ogni caso, i prezzi per gli esami di laboratorio variano moltissimo sia all'interno di una nazione che tra nazioni diverse. Negli Stati Uniti, ad esempio, esiste una vasta gamma di prezzi per i dieci più comuni esami di laboratorio, come riportato nella Tabella 1. I dati riportati si riferiscono al

Tabella 1

Distribuzione dei prezzi pagati da Safeway in vari laboratori nel 2010 per i dieci esami diagnostici più comunemente utilizzati (da riferimento 10, modificata)

Test di Laboratorio	Percentile, \$		
	5 th	50 th	95 th
<i>Pannello</i>			
Metabolico di base	5,75	17,15	126,44
Profilo biochimico generale	20,58	23,88	121,86
Metabolico allargato	7,18	15,98	132,48
Lipidico	8,85	11,73	74,92
Funzionalità epatica	5,56	11,32	85,14
Ferro	4,40	4,71	58,47
PSA totale	12,50	13,36	88,75
Tiroxina libera	6,13	8,19	64,00
Tirotropina	11,42	28,53	101,70
Acido urico	3,07	3,47	30,60

PSA, antigene prostatico specifico.

2010 e rappresentano la distribuzione dei prezzi pagati per esame da una catena di supermercati (Safeway) a differenti laboratori. Per tutti i dieci esami considerati, il prezzo al 95° percentile supera quello al 5° percentile di un fattore pari a 10; il prezzo per gli esami prescritti più comunemente, il pannello metabolico di base, varia da \$5,75 a \$126,44, con il prezzo più alto che supera di ben 22 volte il prezzo più basso. Dati simili sono stati riportati anche da differenti compagnie assicurative nel North Carolina prima della definizione del prezzo di riferimento (10). In molte nazioni, l'adozione del sistema dei cosiddetti raggruppamenti omogenei di diagnosi (diagnosis-related group, DRG), progettato per rimborsare i costi dell'intero periodo di ospedalizzazione in base alla diagnosi, supera il tradizionale tipo di rimborso tariffa-per singolo servizio, che si basa, per il laboratorio clinico, sul rimborso di tutti gli esami di laboratorio eseguiti, considerati singolarmente. Il sistema tariffa-per-singolo servizio, infatti, viene sempre più considerato un ostacolo al raggiungimento di cure efficaci, efficienti e coordinate (11). Tuttavia, esso è il sistema maggiormente utilizzato per il rimborso delle attività dei laboratori clinici per pazienti ricoverati, anche se la modalità di pagamento a pacchetto (BP), potrebbe essere utile per coordinare tutti i servizi necessari per una singola, programmata, attività di cura del paziente (12). La modalità di pagamento descritta può essere comprensiva di attività diagnostiche e terapeutiche, che comprendono attività di laboratorio, di anatomia patologica e di chirurgia come pure il monitoraggio ad intervalli di tempo regolari (13). È stato suggerito di introdurre un rimborso globale per ogni episodio di cura allo scopo di ridurre le richieste di esami e di servizi non necessari, di valorizzare il coordinamento e l'efficienza come pure di limitare le possibili variazioni nel pagamento di cure continuative per pazienti con malattie croniche (14). Il BP potrebbe comunque influenzare fortemente le attività dei servizi di laboratorio, spostando l'attenzione da volumi e costi per esami, all'efficienza delle informazioni di laboratorio nel miglioramento dei processi diagnostici e terapeutici, come pure degli esiti clinici ed economici. Questo approccio potrebbe, a sua volta, supportare gli sforzi per migliorare l'appropriatezza nella richiesta di esami di laboratorio, allontanando quella visione di economia distorta che ha costretto i laboratori a seguire il modello di produzione industriale. Sicuramente, questa modalità di pagamento può confermare che l'esame di laboratorio deve essere considerato parte dei processi diagnostici e terapeutici, precludendo quindi il rischio di identificare i dati di laboratorio come un prodotto da comprare al prezzo più basso ("commodity"). In medicina di laboratorio, quindi, le evidenze disponibili dimostrano che la relazione tra volume e costi non è lineare, perché ci sono numerose variabili che influenzano il costo finale dell'esame. Inoltre, dati raccolti nel nostro laboratorio dimostrano che i costi diretti (strumenti, reagenti, consumabili e personale) rappresentano circa il 50% dei costi totali, e che i costi generali indiretti, tra cui quelli del personale amministrativo, dell'operatività della struttura, del

sistema informativo aziendale ("information technology") e dei contratti di manutenzione ammontano a quasi il 40% del totale. Anche quando i costi totali sono compresi nel calcolo, la redditività di un laboratorio di medie dimensioni, rimane superiore al 200% (15). Se i volumi non sono rappresentativi dei costi, più intrigante e controversa è la relazione tra volume e qualità.

RELAZIONE VOLUME-QUALITÀ IN MEDICINA DI LABORATORIO

La qualità in medicina di laboratorio è una questione senza fine, definibile proprio come un'opera incompiuta. Dopo l'attenzione sugli indicatori di qualità analitica e di efficienza, grazie alle evidenze raccolte sulle criticità presenti nelle fasi extra-analitiche e sulla necessità di orientarsi verso un approccio maggiormente orientato al paziente, si sono moltiplicati gli sforzi verso indicatori di qualità totale, efficacia clinica ed esiti sul paziente con particolare enfasi sul beneficio creato sul paziente dal valore definito come "*esiti ottenuti in relazione ai costi*" (16). Come abbiamo già avuto modo di sottolineare, "*la qualità in medicina di laboratorio deve essere definita come la garanzia che ciascuna delle fasi che costituiscono il processo totale della richiesta di un esame di laboratorio, sia eseguita correttamente assicurando quindi decisioni valide ed efficaci per la cura del paziente*" (17). In aggiunta, i laboratori clinici dovrebbero anche fornire le evidenze del valore nell'ambito del percorso test-terapia, come pure nel miglioramento degli esiti clinici e della sicurezza del paziente (15). La qualità in medicina di laboratorio possiede quindi due dimensioni che non possono essere più separate. La dimensione interna attuata e monitorata all'interno del laboratorio allo scopo di garantire efficienza, che si basa sull'accuratezza e affidabilità dei risultati analitici, sulla tempestività nella loro produzione e comunicazione e, infine, sulle attività intraprese per contenere i costi. La dimensione esterna è assicurata dall'accuratezza diagnostica, dal valore nel percorso test-terapia, dagli effetti sugli esiti clinici ed economici e, infine, dalla sicurezza del paziente. Infatti, l'efficacia di un esame dipende non solamente dal fatto che i risultati vengano forniti secondo specifici standard (quali accuratezza, tempestività e congruità dei costi), ma anche utilizzati in maniera appropriata e tempestiva in modo da assicurare esiti apprezzabili e misurabili (18).

Benché non siano disponibili dati solidi, basati sull'evidenza, che dimostrino la relazione tra volumi differenti e qualità dei servizi di laboratorio, sono state descritte alcune esperienze di esternalizzazione dalle quali sono pervenute interessanti lezioni. L'esternalizzazione dei servizi, come potenziale strumento di riduzione dei costi, è iniziata con attività non cliniche, quali ristorazione e lavanderia, ma è stata estesa a servizi medici quali farmacia, radiologia e laboratorio clinico (19). L'obiettivo principale di esternalizzare le attività di laboratorio è diminuire il costo per esame grazie agli enormi volumi garantiti da grandi compagnie multinazionali. Alcuni studi hanno esaminato

la questione dell'esternalizzazione dei laboratori clinici fornendo dati su vantaggi e criticità (20,21). In particolare, alcune esperienze effettuate in centri accademici degli Stati Uniti, sono state valutate attraverso l'invio online di questionari anonimi. I risultati ottenuti dimostrano che:

- nel tempo, i vantaggi economici si riducono rispetto all'atteso perché la diminuzione dei costi, garantita da un prezzo per esame inizialmente favorevole, era seguita, negli anni successivi, da un aumento dei prezzi;
- la mancanza di incentivi in base al controllo sull'utilizzo degli esami, comporta eccessivi invii ed eccessivi costi, a causa di richieste facilitate ed incontrollate;
- la parte del laboratorio che gestisce esami a risposta rapida, registra un incremento del carico di lavoro che tuttavia, agli amministratori dell'ospedale non risulta evidente;
- la mancanza di soddisfazione del clinico sia per l'inadeguato tempo di risposta ("turnaround time") che per la mancanza di una consulenza professionale sia nella richiesta degli esami che nell'interpretazione dei risultati;
- l'inconsistenza e la non riproducibilità dei risultati in ambiti quali patologia molecolare, citometria a flusso e microbiologia, che determinano una cura del paziente di scarsa qualità (22). In aggiunta, sono stati descritti altri importanti effetti negativi, in particolare sui programmi educazionali, sulla difficoltà di organizzare conferenze dipartimentali come pure sulle attività di insegnamento.

Gli errori medici che sono stati descritti come conseguenza dell'esternalizzazione dei servizi di laboratorio e di radiologia sono determinati da inappropriato tempo di risposta dei risultati, da campioni degradati, da esami sbagliati e da problemi legati al trasporto dei campioni (23,24). Altri articoli descrivono possibili conseguenze negative legate al trasferimento dei servizi di laboratorio verso siti geograficamente lontani perché potrebbero crearsi interruzioni nelle comunicazioni ed un mancato raggiungimento degli obiettivi educazionali, soprattutto in ospedali in cui vengono svolti programmi residenziali e di docenza (25).

VERSO UNA VALUTAZIONE DEI SERVIZI DI LABORATORIO BASATA SUGLI ESITI

Lo stato dell'arte in medicina di laboratorio, evidenzia da un lato un enorme miglioramento nell'automazione, nella produttività, e nei flussi operativi e dall'altro le criticità delle fasi extra-analitiche, l'associazione tra errori nella richiesta e nell'interpretazione degli esami con conseguenti errori diagnostici e le evidenze, sempre più numerose, dei potenziali rischi per la sicurezza del paziente dovuti a un numero eccessivo e inappropriato di richieste (26, 27). In realtà, l'attenzione sugli indicatori interni di qualità analitica, efficienza e costo per esame, porta a sottovalutare il valore dei servizi di laboratorio nel miglioramento degli esiti sul paziente e sulla salute della popolazione. Infatti, benché sia stato ribadito che "il

valore di un esame di laboratorio dovrebbe essere valutato non solo in base alle sue prestazioni analitiche o cliniche, ma anche in base al suo impatto sulla gestione del paziente, dal momento che la qualità degli esiti sul paziente costituisce il solo, vero indicatore della qualità di un esame" (28), l'associazione tra qualità di laboratorio ed esiti sul paziente risulta piuttosto elusiva perché gli esiti clinici riflettono le attività combinate di medici, infermieri, professionisti di laboratorio e radiologia, di altri professionisti sanitari come pure del paziente (29). Nel passato, tuttavia, alcuni indirizzi di ricerca hanno messo in evidenza aspetti di fondamentale importanza per fornire migliori servizi di laboratorio. Primo, la qualità del processo di laboratorio inizia e finisce al di fuori del laboratorio e quindi le misure di qualità vanno estese a tutte le fasi del processo sia antecedenti alla fase analitica (fase pre-pre-analitica) che successive alla produzione del referto (fase post-post-analitica) (30,31). Secondo, una idonea gestione delle risorse può migliorare la cura del paziente assicurando che gli esami corretti siano eseguiti con tempistiche appropriate, ed evitando la richiesta di esami non necessari. Alla fine del processo, l'obiettivo dovrebbe essere raggiungere una appropriata interpretazione ed un idoneo utilizzo dell'esame, come descritto nella Figura 1.

Una fase fondamentale delle attività gestionali della medicina di laboratorio, conseguenza degli interventi per migliorare la richiesta degli esami e l'interpretazione del risultato, è l'identificazione di indicatori di qualità affidabili, al fine di monitorare tutte le fasi del processo, in particolare le fasi extra-analitiche. Il monitoraggio degli indicatori di qualità del processo si è dimostrato un efficace strumento per migliorare le prestazioni di laboratorio, evidenziando una significativa riduzione del tasso di errori (34). L'identificazione di un gruppo di indicatori di qualità armonizzati, che valutino tutte le fasi del processo e la definizione delle relative specifiche di prestazione (35,36), rappresenta il passaggio fondamentale verso il più rilevante aspetto della qualità dei servizi di laboratorio: la valutazione centrata sul paziente. Tuttavia, sono state recentemente proposte alcune misure globali del valore degli esami di laboratorio, e in particolare:

- estensione del concetto di tempo di risposta dell'esame al concetto di tempo-diagnosi, dal momento che l'inizio di un processo di cura di elevata qualità dipende principalmente dall'aver effettuato una diagnosi corretta;
- estensione di accuratezza del risultato refertato ad accuratezza diagnostica, poiché un'accurata diagnosi è un prerequisito per una decisione sul trattamento ottimale che spesso si basa o è confermata dall'informazione di laboratorio;
- aggiunta di un nuovo esito intermedio che è la completezza diagnostica, poiché l'informazione di laboratorio può rivelare non solamente la causa della condizione del paziente, ma anche i fattori concomitanti (per esempio fattori genetici), che possono influenzare la scelta della terapia (29).

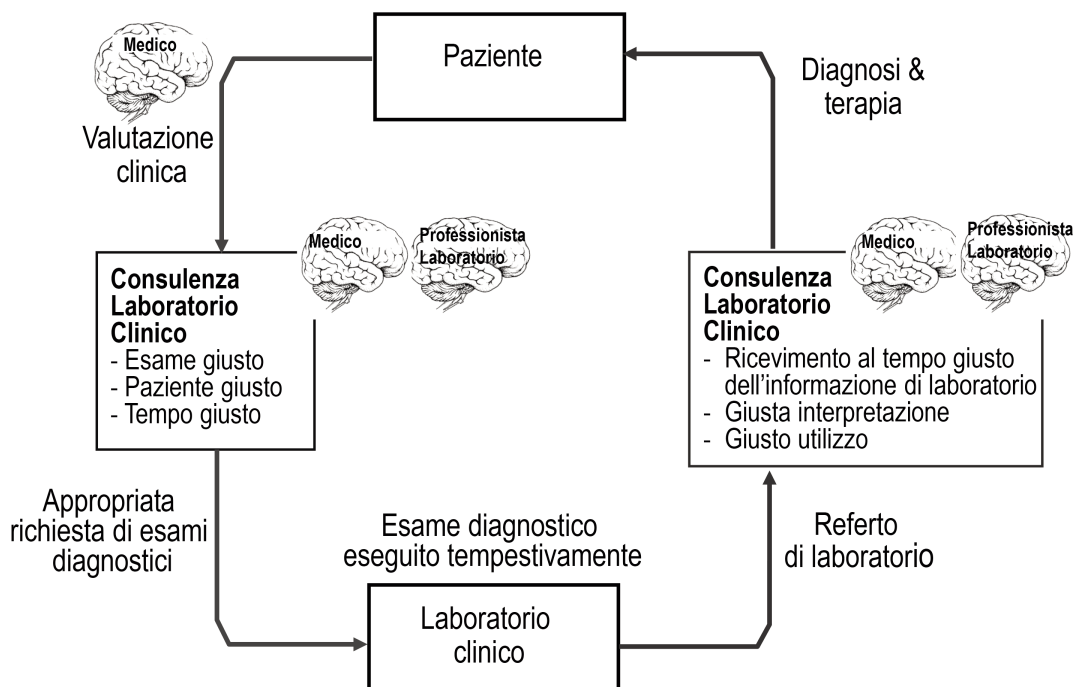


Figura 1

Attività di gestione e consulenza nel laboratorio clinico (da riferimento 18, modificato).

CONCLUSIONI

Negli ultimi anni, la medicina di laboratorio ha subito variazioni straordinarie, ma la configurazione dei laboratori clinici è ancora in evoluzione. In particolare, i dati sugli errori di laboratorio, sugli errori diagnostici associati e sul rischio di danni per il paziente (37,38) mettono in evidenza la necessità di un cambiamento paradigmatico: dall'attenzione sull'aspetto volumi ed efficienza ad una visione centrata sul paziente, che ripristina la natura dei servizi di laboratorio come parte integrante del processo diagnostico e terapeutico. Gli indicatori di qualità del processo e degli esiti sono efficaci strumenti per misurare e migliorare i servizi di laboratorio, stimolando una competizione basata sulle specifiche di prestazione nelle fasi intra ed extra-analitiche, sugli esiti intermedi e sulla soddisfazione del paziente. Alcuni motori interni ed esterni di questo cambiamento paradigmatico sono già stati descritti (18) e si basano sulla rivalutazione dell'interfaccia clinica-laboratorio, per ridurre il rischio di ridondante o insufficiente richiesta di esami, sulla ricerca di una più appropriata interpretazione ed utilizzo delle informazioni di laboratorio nel contesto clinico e su migliori esiti clinici ed economici. Alcuni anni fa era stata progettata una strategia per superare le inefficienze nelle attività dei servizi di laboratorio proprie di quel momento storico. Tale strategia era orientata ad una attività di cura integrata e multidisciplinare nella quale l'appropriatezza della richiesta e dell'interpretazione degli esami svolgeva un ruolo centrale nel garantire efficienza ed efficacia (39). Dopo sette anni, si sono accumulate

significative evidenze che confermano questa visione e sono ora disponibili molti dati e numerosi strumenti per trasformare una speranza in realtà. È tempo di concludere che *"benedetti sono coloro che non hanno visto e hanno creduto"* (Giovanni 19:29).

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Plebani M. The changing face of clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:711-7.
2. Livingston EH, Cao J. Procedure volume as a predictor of surgical outcomes. *JAMA* 2010;304:95-7.
3. Tsai TC, Jha AK. Hospital consolidation, competition, and quality: is bigger necessarily better? *JAMA* 2014;312:29-30.
4. Jha AK. Back to the future: volume as a quality metric. *JAMA* 2015;314:214-5.
5. Porter ME. What is value in health care? *N Engl J Med* 2010;363:2477-81.
6. Porter ME, Larsson S, Lee TH. Standardizing patient outcomes measurement. *N Engl J Med* 2016;374:504-6.
7. Lee VS, Kawamoto K, Hess R, et al. Implementation of a value-driven outcomes program to identify high variability in clinical costs and outcomes and association with reduced cost and improved quality. *JAMA* 2016;316:1061-72.
8. Barletta G, Zaninotto M, Faggian D, et al. Shop for quality or quantity? Volumes and costs in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:295-301.
9. Su BG, Chen SF, Yeh SH, et al. Cost evaluation of clinical

- laboratory in Taiwan's National Health System by using activity-based costing. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1753-8.
10. Robinson JC, Whaley C, Brown TT. Association of reference pricing for diagnostic laboratory testing with changes in patient choices, prices, and total spending for diagnostic tests. *JAMA Intern Med* 2016;176:1353-9.
 11. Institute of Medicine. Rewarding provider performance: aligning incentives in Medicare. Washington, DC: National Academies Press, 2006.
 12. Plebani M. Clinical laboratories: production industry or medical services? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:995-1004.
 13. Herzlinger RE, Schleicher SM, Mullangi S. Health care delivery innovations that integrate care? Yes!: But integrating what? *JAMA* 2016;315:1109-10.
 14. Davis K. Paying for care episodes and care coordination. *N Engl J Med* 2007;356:1166-8.
 15. Lippi G, Plebani M. The add value of laboratory diagnostics: the many reasons why decision-makers should actually care. *J Lab Precis Med* 2017;12:1-4.
 16. Plebani M. Analytical quality: an unfinished journey. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:357-9.
 17. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev* 2012;33:85-8.
 18. Plebani M. Quality and future of clinical laboratories: the Vico's whole cyclical theory of the recurring cycles. *Clin Chem Lab Med*. 2018 doi: 10.1515/cclm-2018-0009.
 19. Lee J. Evaluating lab outsourcing. Hospitals seek savings but have to consider quality, service and staff issues. *Mod Healthc* 2014;44:22-4.
 20. Feiberg B, Kaden PA. Pros and cons of outsourcing laboratory services. *J Oncol Pract* 2006;2:162-3.
 21. Forsman RW. Joint venture versus outreach: a financial analysis of case studies. *Clin Leadersh Manag Rev* 2001;15:217-21.
 22. Mrak RE, Parslow TG, Tomaszewski JE. Outsourcing of academic clinical laboratories: experiences and lessons from the association of pathology chairs laboratory outsourcing survey. *Acad Pathol* 2018;5:1-5.
 23. Chasin BS, Elliott SP, Klotz SA. Medical errors arising from outsourcing laboratory and radiology services. *Am J Med* 2007;120:819.e9-11.
 24. Poon EG, Gandhi TK, Sequist TD, et al. "I wish I had seen this test result earlier!": Dissatisfaction with test result management systems in primary care. *Arch Intern Med* 2004;164:2223-8.
 25. Procop GW, Winn W. Outsourcing microbiology and offsite laboratories. Implications on patient care, cost savings, and graduate medical education. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:623-4.
 26. Plebani M. Laboratory-associated and diagnostic errors: a neglected link. *Diagnosis* 2014;1:89-94.
 27. Plebani M. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. *Ann Clin Biochem* 2010;47:101-10.
 28. Plebani M. Charting the course of medical laboratories in a changing environment. *Clin Chim Acta* 2002;319:87-100.
 29. Epner PL. Appraising laboratory quality and value: what's missing? *Clin Biochem* 2017;50:622-4.
 30. Plebani M. Towards a new paradigm in laboratory medicine: the five rights. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1881-91.
 31. Meier AF, Badrick TC, Sikaris KA. What's to be done about laboratory quality? Process indicators, laboratory stewardship, the outcomes problem, risk assessment, and economic value: responding to contemporary global challenges. *Am J Clin Pathol* 2018;149:186-96.
 32. Messacar K, Parker SK, Todd JK, et al. Implementation of rapid molecular infectious disease diagnostics: the role of diagnostic and antimicrobial stewardship. *J Clin Microbiol* 2017;55:715-23.
 33. Dickerson JA, Fletcher AH, Procop G, et al. Transforming laboratory utilization review into laboratory stewardship: guidelines by the PLUGS National Committee for Laboratory Stewardship. *J Appl Lab Med* 2017;2:259-68.
 34. Plebani M, Laposata M, Lundberg GD. The brain-to-brain loop concept for laboratory testing 40 years after its introduction. *Am J Clin Pathol*. 2011;136:829-33.
 35. Meier FA, Souers RJ, Howanitz PJ, et al. Seven Q-Tracks monitors of laboratory quality drive general performance improvement: experience from the College of American Pathologists Q-Tracks program 1999-2011. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139:762-75.
 36. Sciacovelli L, Panteghini M, Lippi G, et al. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: a consensus statement on behalf of the IFCC Working Group "Laboratory Error and Patient Safety" and EFLM Task and Finish Group "Performance specifications for the extra-analytical phases". *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1478-88.
 37. Plebani M. EFLM Task Force on Performance Specifications for the extra-analytical phases. Performance specifications for the extra-analytical phases of laboratory testing: Why and how. *Clin Biochem* 2017;50:550-554.
 38. Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin Chem Lab Med* 2006;44:750-9.
 39. Plebani M, Lippi G. Improving diagnosis and reducing diagnostic errors: the next frontier of laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1117-8.
 40. Plebani M, Lippi G. Is laboratory medicine a dying profession? Blessed are those who have not seen and yet have believed. *Clin Biochem* 2010;43:939-41.

Gli esami Urgenti nel consolidamento dei laboratori: analisi decentrate, “Point-of-Care and Near-Patient testing”

Mario Plebani

Dipartimento Strutturale Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova

ABSTRACT

Urgent testing and laboratory consolidation: Extra-laboratory, Point-of-care and Near-Patient testing. Urgent tests requesting is variable across different institutions in the same country and at international level. The percentage of urgent testing has been found to be about 33% in Italy, but only some of these tests are really related to clinical needs. Various reports are available to document the growth of extra-laboratory testing, otherwise referred to as near patient, bedside or Point-of-Care testing (POCT). The key objective of extra-laboratory testing, particularly POCT, is to generate a result quickly so that appropriate treatment can be implemented rapidly, but few data are available to demonstrate an effective improvement in operational and clinical outcomes. This paper sets out the requirements for delivering an effective extra-laboratory testing by reviewing the data of the literature as well as the performance specifications for assuring quality and patient safety.

INTRODUZIONE

“Lungo il transito dell'apparente dualità”, come canta Franco Battiato, è l'incipit di questo lavoro sulla convivenza di due modelli organizzativi, opposti e diversi, dell'organizzazione dei laboratori clinici: il consolidamento sempre più spinto, a fronte dello sviluppo delle analisi decentrate. Come nella sfida fra Davide e Golia, risulta ancor oggi difficile pronosticare chi risulterà vincitore, anche perché è sempre più difficile definire cosa sia l'esame “urgente” in medicina di laboratorio, quale sia il reale tempo di risposta utile dal punto di vista clinico e, conseguentemente, come si possa assicurare un'informazione di laboratorio rapida ma altrettanto accurata ed affidabile. Di certo, da un lato gli sviluppi tecnologici permettono di abbattere le barriere di separazione fra esami in urgenza ed in elezione, dall'altro l'urgenza in medicina è molto più complessa di quanto si potesse ritenere, vista l'evoluzione della pratica clinica, la tipologia di situazioni che richiedono esami “urgenti” e che, ovviamente, non sono solo limitate ai pazienti che accedono al pronto soccorso ma, per esempio, a riacutizzazione/peggioramento di pazienti ospedalizzati, pratiche di espianto e trapianto d'organo, e monitoraggio di pazienti critici.

PREVALENZA ED INCIDENZA DELL'ESAME URGENTE

I dati disponibili dimostrano che gli esami “urgenti” rappresentano circa il 33% dell'attività dei laboratori clinici del Paese (1) e che vi è ampia eterogeneità del menù di esami disponibili con questa modalità operativa, ed assoluta carenza di armonizzazione fra laboratori operanti anche in realtà cliniche simili (2). In questo lavoro si cita anche un'esperienza spagnola che dimostra ampia dispersione nei laboratori di quel Paese non solo della percentuale di esami urgenti in rapporto a quelli in elezione, ma anche della loro tipologia (3). Appare evidente dall'analisi di questi dati che “l'esame urgente” è in realtà una combinazione di urgenza clinica reale ed urgenza organizzativa, legata a problemi strutturali di alcune istituzioni o inosservanza di procedure operative (ad esempio, dimenticanza nella richiesta di esami in elezione e successiva richiesta in urgenza per tamponare la situazione). Peraltro, le motivazioni e la tipologia di esami realmente urgenti trova scarsa attenzione nella letteratura scientifica. Tuttavia, nei pazienti con accesso al pronto soccorso per problematiche internistiche, a dispetto della diversità della presentazione clinica, si è visto che il 90% per ricevere una diagnosi corretta necessita di esami di

Corrispondenza a: Mario Plebani, Dipartimento Strutturale Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Università di Padova
Via Giustiniani, 2 - 35128 Padova. Tel 0498212792; E-mail: mario.plebani@unipd.it

Ricevuto: 15.10.2018

Revisionato: 26.10.2018

Accettato: 30.10.2018

Publicato on-line: 14.03.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.011

laboratorio di base assieme ad anamnesi ed esame obiettivo (4). Questo approccio consentiva a tre pazienti su quattro (347 su 442 ammissioni consecutive) di ricevere una diagnosi corretta, mentre nei casi residui erano necessarie altre indagini diagnostiche (*imaging*) ed esami di laboratorio più complessi (ad esempio troponina cardiaca). Un altro lavoro, che prende in esame gli esami urgenti più frequentemente oggetto di determinazione in *Point-of-Care testing* (POCT) in tre ospedali metropolitani australiani, evidenzia la prevalenza di richieste, in aggiunta al glucosio, ed in ordine decrescente, di emogasanalisi, emoglobina glicata (HbA1c), troponina, tempo di coagulazione attivato e chetoni (5). In contesti più ampi, ed in particolare nella medicina praticata nei Paesi a basso- e medio-sviluppo, l'urgenza intesa come introduzione di POCT è vista come strumento utile per aumentare l'accesso alla diagnostica di diabete, anemia, gravidanza, HIV, e malaria, in realtà nelle quali non vi è disponibilità di strutture di laboratorio clinico tradizionale per carenza di infrastrutture, tecnici qualificati, e fornitura stabile di elettricità (6). In sintesi, non vi è armonizzazione né consenso su quale sia l'esame di laboratorio "urgente"; solo per pochissimi parametri vi è un' indicazione del tempo di risposta clinicamente utile, e

pochissimi, oltre che dati, sono i lavori scientifici pubblicati (7). Uno degli studi fondamentali su questo tema, oltre a mettere in evidenza quanto già ricordato, sottolinea il disallineamento fra i tempi di risposta che i laboratoristi ritengono validi e le aspettative dei clinici, che sono sempre e fortemente superiori (8). In questo lavoro, i coniugi Howanitz mettono in evidenza che la tempestività di risposta è un progetto strategico che non si esaurisce nella fase analitica e nello sviluppo di strumentazione che consenta di abbreviare il tempo di risposta (TAT) analitico, ma deve estendersi alle fasi pre- e post-analitiche.

ANALISI DECENTRATE

La necessità di erogare esami di laboratorio al di fuori del laboratorio centralizzato è andata via via aumentando sia per le modifiche del sistema sanitario, ma soprattutto per il riconoscimento dell'esigenza di un modello di medicina meno frammentato e più centrato sul paziente e sui bisogni di salute. In molte situazioni, e non solo nell'urgenza clinica, l'erogazione di servizi di laboratorio tradizionale spesso sconnessa dai percorsi di diagnosi e cura del paziente, ed isolata dal contesto clinico, ha posto le basi per la proposta di analisi da

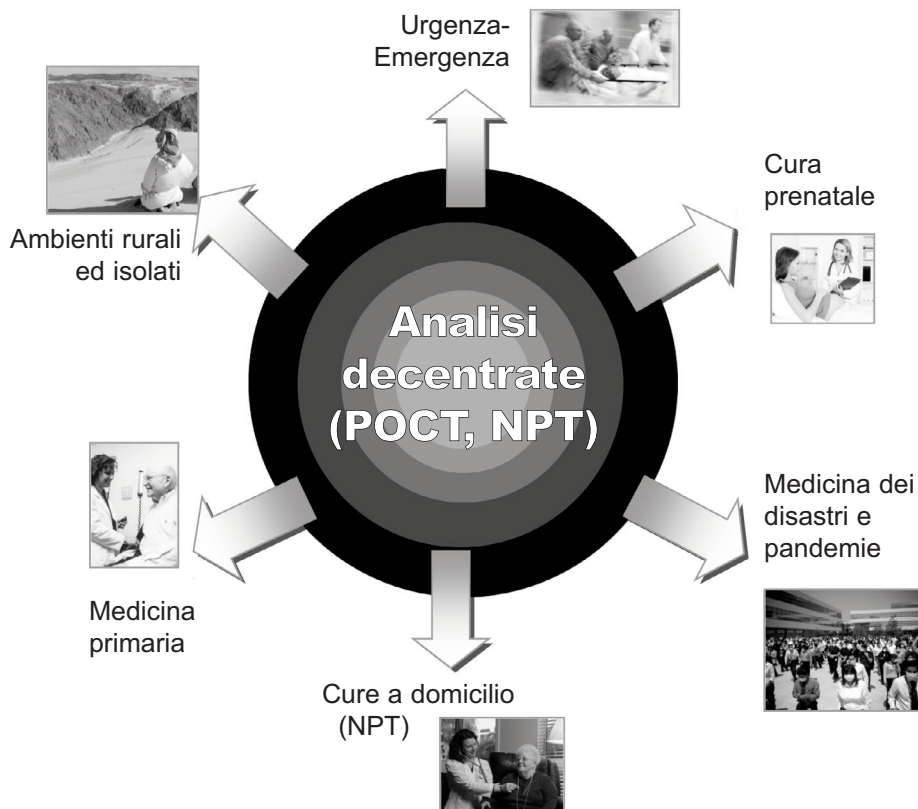


Figura 1
 Principali ambiti di utilizzo delle analisi decentrate.
 POCT, point of care testing; NPT, near patient testing

effettuare al letto o comunque vicino al paziente (*near patient testing*) (9). Il prototipo di questa tipologia di esami, è certamente la determinazione del glucosio nel caso del diabete, ma può essere ampliato a tutte le malattie croniche che richiedono frequenti accessi all'esame di laboratorio. Ed infatti, il secondo grande esempio è la determinazione del tempo di protrombina (INR) nel paziente che assume anticoagulanti. Nel 2010, il mercato globale per POCT era arrivato a 13,4 miliardi di dollari con una crescita proiettata al 2016 fino a 16,5 miliardi, grazie soprattutto alle richieste di glucosio, emogasanalisi e HbA1c, ma con ampie differenze geografiche (10). Nei Paesi europei, il POCT viene utilizzato in modo prevalente e superiore agli USA in ambito ospedaliero, mentre in quest'ultimo Paese permane la tradizione di esami fatti negli ambulatori del medico. In Australia, sebbene l'approccio al POCT sia stato abbastanza cauto, si è dimostrato un'eccellente soluzione per rispondere ai bisogni dei pazienti che vivono in aree rurali e isolate, e questa utilizzazione può essere proposta in altre situazioni simili.

La Figura 1 mostra i principali ambiti di utilizzo delle analisi decentrate, mentre la Tabella 1 evidenzia i vantaggi potenziali delle analisi decentrate.

Le previsioni sono di un ulteriore sviluppo delle analisi decentrate e al di fuori dei laboratori convenzionali sia per la necessità di erogare un servizio in prossimità del paziente, sia per l'enorme evoluzione e sofisticazione degli strumenti e delle tecnologie, e sia infine per il progressivo fenomeno del consolidamento dei laboratori clinici che ha assunto in alcune realtà dimensioni e significati tali da rendere indispensabile un vero e proprio mercato parallelo delle analisi urgenti. La creazione di mega-laboratori che raccolgono campioni provenienti non solo da ambiti ambulatoriali estesi, ma anche da vari ospedali, rende indispensabile trattenere all'interno degli stessi, visto che ormai sono dedicati quasi totalmente alla cura dell'acuto, esami da erogare con risposta immediata o comunque molto rapida. Tutto

questo anche se ormai le tecnologie utilizzate nei laboratori clinici ospedalieri possono, con ridotto numero di personale e piena utilizzazione delle potenzialità, aggiungere agli esami urgenti anche quelli in elezione con sicuri risparmi per il sistema nel suo complesso (11).

Ed i risultati?

Dopo circa 20 anni di ricerche in risposta alla domanda se il POCT, oltre alla riduzione del TAT, determini migliori esiti, la risposta di un Editoriale molto interessante è inequivocabilmente "dipende" (12). Dipende dal misurando (analita), dal sistema diagnostico, dalle motivazioni della richiesta e dal contesto nel quale viene utilizzato il POCT. Nella medicina primaria, vi sono esperienze positive di utilizzo del POCT per esami di biochimica clinica di base, HbA1c, e pannello lipidico, che hanno dimostrato miglioramenti in vari aspetti sia organizzativi che clinici, ed in particolare una riduzione di secondi accessi dovuti a risultati di laboratorio non normali (13). Nell'emergenza, ed in particolare in dipartimenti di emergenza sovraffollati, il ricorso al POCT ha dimostrato di essere uno strumento idoneo a minimizzare il tempo di inizio della terapia (*time-to-treatment*) e migliorare gli esiti clinici, ma solo se introdotto modificando i flussi operativi, la logistica e l'organizzazione complessiva (14). Tuttavia, gli esiti attesi in termine di riduzione delle attese in pronto soccorso, delle durate di degenza, e ancor più degli esiti di salute (mortalità e morbilità) non sono dimostrati con sicurezza in molti studi pubblicati e spesso sono contraddittori (15, 16).

Assicurare la qualità nelle analisi decentrate

Assicurare qualità nelle analisi decentrate, anche a fronte dello straordinario sviluppo tecnologico e di connettività delle strumentazioni e dei sistemi diagnostici decentrati, può sembrare una "*mission impossible*". In

Tabella 1

Potenziati vantaggi delle analisi decentrate

Esiti	Esempi
Processo decisionale-clinico più rapido	Intossicazione acuta da farmaci/droghe, dolore toracico, sepsi
Inizio più rapido delle terapie	Intossicazione acuta da farmaci/droghe, sepsi
Miglior aderenza alla terapia	Diabete
Ridotta incidenza di complicanze	Diabete, sepsi
Ottimizzazione della terapia (più rapida)	Pazienti anticoagulati
Ridotti tempi di ricovero/riammissione	Parotidectomia, scompenso cardiaco
Riduzione errori pre- e post-analitici	Identificazione del campione, refertazione
Soddisfazione del paziente	Percorsi snelli, ridotto accesso all'ospedale

Tabella 2*Assicurazione di qualità delle analisi decentrate*

Condizioni favorevoli l'errore	Possibili soluzioni
Scarsa competenza degli operatori	Formazione
Non aderenza alle procedure operative	Formazione/accreditamento
Mancato controllo funzionalità strumenti	Controllo in remoto da parte del personale di laboratorio
Risultati non affidabili	Controllo di qualità
Disponibilità immediata dei risultati	Validazione
Utilizzo immediato dei risultati	Educazione dei clinici sui limiti delle tecnologie

realtà, l'assicurazione di qualità di questa tipologia di esami di laboratorio è tanto più necessaria anche rispetto alle tradizionali analisi erogate dai laboratori tradizionali ed in elezione, per una serie di motivazioni che appaiono nella Tabella 2. In un lavoro che ha fatto storia, già nel 2005 Meier e Jones avevano descritto i principali rischi delle analisi eseguite in POCT, distinguendo le possibili fonti di errore dai fattori di amplificazione. Le principali fonti di errore, che derivano da esperienze concrete e lavori della letteratura, sono risultate l'incompetenza degli operatori, la mancata aderenza alle procedure operative e l'utilizzo non controllato di strumentazioni e reagenti. Altrettanto importanti sono, però, i fattori di amplificazione, e cioè una scarsa regolamentazione, la disponibilità immediata di risultati che vengono utilizzati per altrettante immediate decisioni terapeutiche (17). Le soluzioni ipotizzate dagli autori spaziano dalla richiesta di maggior regolamentazione di queste analisi, necessità di formazione degli operatori, controllo della funzionalità dei sistemi diagnostici e monitoraggio delle richieste, dell'identificazione del paziente e dell'integrità dei campioni e dei referti. Un lavoro successivo, analizzando tutte le fasi dell'esame decentrato ha messo in evidenza che la loro introduzione, se non all'interno di una strategia accurata, non è in grado di ridurre il rischio di errore se non in poche fasi dell'esame ed anzi può aumentare i rischi per il paziente in molte altre fasi (18). Le soluzioni proposte sono molteplici. Sicuramente, si è dimostrato che la formazione gioca un ruolo fondamentale. Anche nell'autocontrollo del paziente diabetico con la determinazione a domicilio della glicemia, si è osservato un miglioramento significativo solo nel caso in cui i pazienti avessero ricevuto una formazione da parte di personale del laboratorio (19). Dal punto di vista prettamente analitico, si è precisato che le caratteristiche di prestazione delle analisi decentrate dovrebbero essere le stesse delle analisi erogate dai laboratori tradizionali (20). Tuttavia, questa affermazione è stata rivista introducendo un concetto fondamentale, ossia che le prestazioni analitiche devono essere tarate rispetto all'obiettivo clinico. Ciò significa, ad esempio, che nel caso di una richiesta di glicemia a

scopo diagnostico, le prestazioni analitiche sono molto più rigide e ristrette rispetto al caso in cui la richiesta dello stesso esame avvenga con l'obiettivo del monitoraggio della malattia e della terapia associata (21). Anche in questo caso, quindi, il richiamo è al ciclo dell'esame di laboratorio, alla motivazione della richiesta e quindi della gestione del risultato a fini diagnostico-terapeutici.

Di certo, per una serie di analisi decentrate, specie in POCT, è ormai dimostrato che la qualità analitica è assolutamente rispettosa delle specifiche di qualità stabilite in base agli esiti attesi o alla variabilità biologica. Ad esempio, non solo per l'emogasanalisi tradizionale, ma anche per la determinazione della ionemia con strumenti POCT, i risultati analitici sono sicuramente accurati ed affidabili, ed in alcune situazioni, ad esempio per la potassiemia, riducono il rischio di errore da interferenze e problematiche di matrice del campione, che sono presenti nei metodi adottati in alcuni analizzatori (22, 23). È altrettanto vero che altri lavori della letteratura mettono in evidenza che in alcuni sistemi POCT i risultati anche per questi analiti semplici non correlano con quelli del laboratorio tradizionale e sottolineano come il contesto nel quale vengono utilizzati, e le procedure operative pre- ed intra-analitiche, possano generare risultati molto diversi anche con lo stesso sistema (24, 25). Per altri misurandi ed in particolare nel caso di un biomarcatore assai critico ed essenziale per la diagnosi e la cura delle sindrome coronarica acuta, e cioè la troponina cardiaca, finora non esiste un metodo POCT con caratteristiche di prestazione analitica paragonabile a quello dei metodi ad elevata sensibilità (26). Solo recentemente è stato pubblicato un lavoro nel quale si dimostra che un nuovo sistema POCT presenta caratteristiche di prestazione correlate con i metodi ad elevata sensibilità (27).

CONCLUSIONI

Vi è sicura evidenza che le analisi decentrate ed eseguibili vicino al paziente rispondano ai bisogni clinici e ad una cura più centrata sul paziente. Vi è altrettanta evidenza che le analisi decentrate non siano sostitutive

ma semmai integrative rispetto ai servizi di laboratorio tradizionali. E vi è altrettanta evidenza che spesso le analisi decentrate siano state introdotte, specie nel caso di POCT, per pressioni delle Aziende della diagnostica *in vitro*, disfunzioni organizzative dei laboratori tradizionali ed altri fattori, più che per reali bisogni clinici. Di certo, anche se gli sviluppi tecnologici in termini di affidabilità analitica, connettività con i sistemi informatici di laboratorio (LIS) e di ospedale siano sempre più evidenti, il rischio di errore è elevato per problemi legati alla scarsa preparazione degli operatori, per la mancanza di barriere fra disponibilità del risultato ed azione clinica, per insufficienti procedure di controllo ed assicurazione di qualità. Un'ulteriore evidenza della necessità di una *governance* da parte dei professionisti del laboratorio clinico è data dai risultati di un lavoro condotto in una serie di farmacie che adottano strumenti per analisi decentrate e nel quale si evince che, a fronte di risultati analitici abbastanza accurati, sono presenti importanti e significative problematiche nelle fasi pre- e post-analitica (28). SIBioC ha già da tempo pubblicato raccomandazioni per la implementazione e gestione delle analisi in POCT (29), ma sono necessari ulteriori studi e lavori per rivisitare l'argomento ed aggiornare le raccomandazioni alla luce dei progressi tecnologici, dell'evoluzione dell'organizzazione dei sistemi sanitari e delle esigenze cliniche. Il messaggio fondamentale è che la riduzione del tempo di risposta, che le analisi decentrate possono garantire, non deve compromettere la qualità dell'informazione e la sicurezza per il paziente. La letteratura corrente, ed in particolare l'enfasi sulla necessità di ridurre l'errore diagnostico, ribadisce la necessità che l'analisi di laboratorio sia un momento essenziale, ma valido solo se integrato ed inserito nei percorsi diagnostico-terapeutici e che i professionisti del laboratorio clinico devono essere parte del team diagnostico (30). Di certo, l'organizzazione dei laboratori clinici va rivista alla luce della provata evidenza che bisogna passare da modelli basati su volumi, produttività, diminuzione del costo per esame e rapidità di risposta ad una gestione che valorizzi l'efficacia, il valore dell'analisi di laboratorio nel contesto dei percorsi diagnostico-terapeutici, la qualità, la capacità di migliorare gli esiti clinici e la sicurezza per il paziente (31).

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Lippi G, Mattiuzzi C, Plebani M. Stat testing utilization in clinical laboratories. National survey of Italian Society of Clinical Biochemistry and Molecular Biology (SIBioC). *Clin Chem Lab Med* 2014;52:e79-84.
- Lippi G, Panteghini M, Bernardini S, et al. Laboratory testing in the emergency department: an Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC) and Academy of Emergency Medicine and Care (AcEMC) consensus report. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1655-9.
- Salinas M, Lòpez-Garrigòs M, Uris J. Differences in laboratory requesting patterns in emergency departments in. *Ann Clin Biochem* 2013;50:353-9.
- Paley L, Zornitzki T, Cohen J. Utility of clinical examination in the diagnosis of emergency department patients admitted to the department of medicine of an academic hospital. *Arch Intern Med* 2011;171:1394-6.
- Sharp L, Farrance I, Greaves RF. The application of glucose point of care testing in three metropolitan hospitals. *Pathology* 2016;48:51-9.
- Jani IV, Peter TF. How point-of-care testing could drive innovation in global health. *N Engl J Med* 2013;368:2319-24.
- Steindel SJ. Timeliness of clinical laboratory tests. *Arch Pathol Lab Med* 1995;119:918-923.
- Howanitz JH, Howanitz PJ. Laboratory results. Timeliness as a quality attribute and strategy. *Am J Clin Pathol* 2001;116:311-5.
- St John A, Price CP. Existing and emerging technologies for Point-of-Care Testing. *Clin Biochem Rev* 2014;35:155-67.
- Abel G. Current status and future prospects of point-of-care testing around the globe. *Expert Rev Mol Diagn* 2015;15:853-5.
- Plebani M, Lippi G. Is laboratory medicine a dying profession? Blessed are those who have not seen and yet have believed. *Clin Biochem* 2010;43:939-41.
- Rainey PM, Ulibarri M. Point-of-care testing. Is faster better? *Am J Clin Pathol* 2014;142:582-3.
- Crocker JB, Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski N. Implementation of point-of-care testing in an ambulatory practice of an academic medical center. *Am J Clin Pathol* 2014;142:640-6.
- Rooney KD, Schilling UM. Point-of-care testing in the overcrowded emergency department--can it make a difference? *Crit Care* 2014;18:692.
- Kendall J, Reeves B, Clancy M. Point of care testing: randomised controlled trial of clinical outcome. *BMJ* 1998;316:1052-7.
- Pecoraro V, Germagnoli L, Banfi G. Point-of-care testing: where is the evidence? A systematic survey. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:313-24.
- Meier FA, Jones BA. Point-of-care testing error: sources and amplifiers, taxonomy, prevention strategies, and detection monitors. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:1262-7.
- Plebani M. Does POCT reduce the risk of error in laboratory testing? *Clin Chim Acta* 2009;404:59-64.
- Kristensen GB, Nerhus K, Thue G, et al. Standardized evaluation of instruments for self-monitoring of blood glucose by patients and a technologist. *Clin Chem* 2004;50:1068-71.
- Fraser CG. Optimal analytical performance for point of care testing. *Clin Chim Acta* 2001;307:37-43.
- Plebani M. Quality specifications: self pleasure for clinical laboratories or added value for patient management? *Clin Chem Lab Med* 2007;45:462-6.
- Hawkins RC. Poor knowledge and faulty thinking regarding hemolysis and potassium elevation. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:216-20.
- Cikgoz SB, Genc AB, Sipahi S, et al. Agreement of serum potassium measured by blood gas and biochemistry analyzer in patients with moderate to severe hyperkalemia. *Am J Emerg Med* 2016;34:794-7.
- Gavala A, Myrianthefs P. Comparison of point-of-care versus central laboratory measurement of hematocrit, hemoglobin, and electrolyte concentrations. *Heart Lung* 2017; 46:246-50.

25. Auvet A, Espitalier F, Grammatico-Guillon L, et al. Preanalytical conditions of point-of-care testing in the intensive care unit are decisive for analysis reliability. *Ann Intensive Care* 2016;6:57.
26. Palamalai V, Murakami MM, Apple FS. Diagnostic performance of four point of care cardiac troponin I assays to rule in and rule out acute myocardial infarction. *Clin Biochem* 2013;46:1631-5
27. Venge P, van Lippen L, Blaschke S, et al. Equal clinical performance of a novel point-of-care cardiac troponin I (cTnI) assay with a commonly used high-sensitivity cTnI assay. *Clin Chim Acta* 2017;469:119-25.
28. Zaninotto M, Miolo G, Guiotto A, et al. Quality performance of laboratory testing in pharmacies: a collaborative evaluation. *Clin Chem Lab Med* 2016 ;54:1745-51.
29. Di Serio F, Trenti T, Carraro P. Gruppo di Studio SIBioC "Point-of-care testing" Raccomandazioni per l'implementazione e la gestione del "point-of-care testing" (POCT). *Biochim Clin* 2011;35:242-52.
30. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Improving Diagnosis in Health Care*. Washington, DC: The National Academies Press, 2015.
31. Plebani M. Laboratorio Clinico: non sempre più grande è migliore. *Biochim Clin* 2018 doi 10.19186/BC_2018.063

La valutazione delle prestazioni analitiche dei laboratori mediante programmi di valutazione esterna di qualità: una analisi multifattoriale

Sandra Secchiero, Laura Sciacovelli, Massimo Baldon, Mario Plebani

Centro di Ricerca Biomedica per la Qualità in Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università, Padova

ABSTRACT

The evaluation of laboratories' analytical performance through external quality assessment programs: a multifaceted analysis. The Italian accreditation body, Accredia, requires that clinical laboratories obtained positive analytical performances in the last four External Quality Assessment (EQA) surveys in order to undertake the accreditation with flexible scope (document RT-26).

In addition to the choice of acceptability limits (AL), other factors contribute to define the analytical performance: nature and commutability of control materials, definition of target value (TV), homogeneous group classification, data elaboration, procedures for outliers exclusion.

In this study, the creatinine performances of 106 participants, obtained in the last four surveys of the year 2017 of the Centre of Biomedical Research (CRB) EQA program, have been evaluated using two different AL and TV: the AL proposed by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) and by the Regional Reference Centre of the Azienda Ospedaliera Universitaria "Careggi" of Firenze (Italy) (CRRVEQ); the TV assigned with the reference method (RV) and as consensus value, i.e. median of the results obtained with the same method (AV).

The percentage of laboratories satisfying the RT-26 requisite was different on the basis of the AL and TV considered: with the EFLM-AL, 68.8 % laboratories complied the requisite if AV was used and 60.4% if RV was applied; with the CRRVEQ-AL, 50.0% and 48.1%, respectively.

These data demonstrate that harmonized criteria and procedures for evaluation of EQA results are needed to obtain homogeneous classification of laboratories' performance.

In order to support the laboratory professionals in accreditation processes and, above all, to guarantee their performance reliability, time has come that the Scientific Societies of Laboratory Medicine promote the merging of the different Italian EQA schemes in a consolidated network of EQA providers.

INTRODUZIONE

Dalla lettura dell'interessante lettera all'Editore dei colleghi del Centro di Riferimento Regionale dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi (Firenze) (CRRVEQ), pubblicata nel 2018 su *Biochimica Clinica* (1), riguardante i criteri necessari per richiedere l'accREDITAMENTO ISO 15189:2012 in campo flessibile, emergono due questioni principali. La prima riguarda l'interpretazione dei requisiti del documento RT-26 emesso da Accredia, che richiede al laboratorio evidenza di prestazioni soddisfacenti negli ultimi 4 esercizi di VEQ per poter intraprendere l'accREDITAMENTO

a scopo flessibile (2); la seconda è relativa alla necessità di armonizzare tutti i fattori che concorrono a determinare il giudizio sulle prestazioni analitiche del laboratorio mediante la valutazione dei risultati dei programmi di VEQ.

Scopo di questo contributo è illustrare il punto di vista del Centro di Ricerca Biomedica per la Qualità in Medicina di Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera-Università di Padova (CRB) per quanto riguarda il secondo punto: è sicuramente vero che attualmente non esiste armonizzazione nell'ambito dei limiti di accETTABILITÀ (LA) adottati dai diversi provider e che sarebbe importante raggiungere un'armonizzazione tra

Corrispondenza a: Sandra Secchiero, Centro di Ricerca Biomedica per la Qualità in Medicina di Laboratorio, c/o U.O.C. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Via Nicolò Giustiniani 2, 35128 Padova. Tel 049 8212792, E-mail: sandra.secchiero@aopd.veneto.it

Ricevuto: 22.01.2019

Revisionato: 21.03.2019

Accettato: 27.03.2019

Pubblicato on-line: 16.04.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.035

tutti i provider di programmi di VEQ, sia a livello nazionale (3) che internazionale. Tuttavia, questo aspetto è solo una delle componenti che vanno a determinare il giudizio sulla prestazione analitica (4,5). Altri fattori infatti, altrettanto importanti, influiscono sulla valutazione della prestazione e devono essere tenuti in considerazione, sia dai provider di VEQ per fornire affidabili informazioni che diano indicazione della correttezza delle procedure interne applicate dai laboratori, sia dai laboratori per interpretare correttamente la propria prestazione.

Devono essere considerati in particolare:

- tipologia (matrice) e concentrazione dei materiali di controllo;
- commutabilità dei materiali di controllo;
- criteri e modalità di assegnazione del valore target (VT): valore che può essere ottenuto con procedura di riferimento definita dal *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine* (VR) o essere un valore di consenso (VA);
- modalità di raggruppamento dei risultati per la definizione del VA (indipendentemente dal metodo/sistema diagnostico, oppure per principio metodologico, oppure per sistema diagnostico);
- procedura di elaborazione dei risultati (parametrica o non parametrica, con o senza esclusione dei dati aberranti) per la definizione dei dati statistici (media o mediana, DS o DSrobusta (DSrob)¹, e così via);
- modalità di esclusione dei dati aberranti.

Tutti questi fattori possono influenzare la valutazione della prestazione e dar luogo, nel caso in cui un laboratorio partecipi a programmi di VEQ per lo stesso misurando gestiti da provider differenti, a prestazioni giudicate non soddisfacenti da un provider e soddisfacenti dall'altro (6).

E' intuibile, per esempio, che una prestazione possa risultare soddisfacente se valutata in riferimento a un VA calcolato sui risultati dei laboratori partecipanti che utilizzano lo stesso sistema diagnostico, e insoddisfacente se il VA è calcolato per principio metodologico, o determinato con procedura di riferimento (valore di riferimento, VR), in una situazione in cui il sistema diagnostico non sia adeguatamente tracciabile a questo (cioè non standardizzato).

Viceversa, la valutazione della prestazione può risultare fuorviante se la verifica della commutabilità evidenzia un problema del materiale che genera (o maschera) un bias del sistema diagnostico utilizzato dal laboratorio rispetto al gruppo di riferimento e di questo non viene tenuto conto nell'elaborazione dei risultati.

SIMULAZIONE ESEMPLIFICATIVA

A titolo di esempio, abbiamo confrontato i risultati della valutazione delle prestazioni per la creatinina, applicando i LA basati sulla variabilità biologica, secondo

le recenti indicazioni del gruppo EuBIVAS di EFLM (7), e quelli del CRRVEQ, utilizzando due differenti VT, uno ottenuto con procedura di riferimento (GC-IDMS) e l'altro che rappresenta il VA (mediana) calcolato sui risultati dei laboratori che utilizzano sistemi diagnostici con uguale principio metodologico (metodo enzimatico, enzimatico in chimica secca, metodo al picrato alcalino con e senza compensazione), dopo esclusione dei valori aberranti (valori al di fuori dell'intervallo: mediana \pm 3DSrob).

Sono stati elaborati i risultati dei 106 laboratori che hanno risposto agli ultimi 4 esercizi del programma VEQ del CRB relativi al ciclo dell'anno 2017, per un totale di 8 campioni. I LA suggeriti dal gruppo EuBIVAS della EFLM, sono: 9,6% [errore totale ammissibile (ETa) desiderabile 6,4%] per il metodo enzimatico; 10,7% (ETa desiderabile 7,1%) per il metodo al picrato alcalino. I LA adottati dal CRRVEQ si differenziano sulla base della concentrazione di creatinina e non del metodo utilizzato: 10% per valori $<88,4 \mu\text{mol/L}$; 6,5% per valori $>88,4 \mu\text{mol/L}$ (Tabella 1).

Dalla tabella si evince che il numero di prestazioni non soddisfacenti varia in base ai LA adottati, come giustamente affermato dai colleghi del CRRVEQ, ma anche in relazione al VT (VR o VA). In particolare, la percentuale di prestazioni non soddisfacenti è più alta utilizzando i LA del CRRVEQ, soprattutto per campioni con valori di creatinina $>88,4 \mu\text{mol/L}$ per i quali viene adottato un LA più stringente rispetto a quello proposto da EFLM (6,5% versus 9,6% o 10,7%).

In Tabella 2 è riportato il numero di laboratori che, potrebbero, o non potrebbero, richiedere l'accreditamento in campo flessibile per la creatinina sulla base del requisito riportato nel documento RT-26.

Indipendentemente dal VT scelto (VR o VA), il numero di laboratori che soddisfa il requisito è maggiore quando sono applicati LA più ampi: 59 laboratori con i LA-EFLM e 42 con i LA-CRRVEQ. In questo caso, 28 laboratori con i LA-EFLM e 44 con i LA-CRRVEQ non potrebbero richiedere l'accreditamento in campo flessibile. Tutti i laboratori conformi al RT-26 secondo i LA-CRRVEQ (42) rientrano nel gruppo dei laboratori valutati con i LA-EFLM (Tabella 2A) (59), e tutti i laboratori che non soddisfano RT-26 secondo i LA-EFLM (Tabella 2B) (28) rientrano nel gruppo dei laboratori valutati con i LA-CRRVEQ (44). Infine, dei rimanenti 17 laboratori conformi con i LA-EFLM e dei 16 non conformi con i LA-CRRVEQ, solo 6 sono in comune.

Il numero di laboratori che potrebbero richiedere l'accreditamento in campo flessibile per la creatinina varia se oltre ai LA si prende in considerazione anche il VT. Infatti dei restanti laboratori tra i 106 considerati, e precisamente 19 relativamente ai LA-EFLM e 20 relativamente ai LA-CRRVEQ, 2 laboratori soddisfano il criterio con entrambi i limiti di accettabilità ma solo se si utilizza il VR e 5 se si utilizza il VA (Tabella 2A). Tutti gli altri sono dipendenti sia dai LA che dal VT scelti.

¹DS robusta; DSrob = $[(75^{\circ}\text{percentile}-25^{\circ}\text{percentile})/1,349]$ (8).

Tabella 1

Creatinina: prestazioni non soddisfacenti (%), riscontrate negli ultimi 4 esercizi del Programma di VEQ 2017 del Centro di Ricerca Biomedica.

Campione	VR \pm u, μ mol/L	VA \pm DS, μ mol/L	Prestazioni non soddisfacenti (%)			
			LA EFLM		LA CRRVEQ	
			VR	VA	VR	VA
BS-1	72,3 \pm 0,7	E = 70,7 \pm 2,7 (n=56) E-cs = 63,6 \pm 3,1 (n=11) PA-cc = 70,7 \pm 3,7 (n=24) PA-sc = 71,3 \pm 5,2 (n=30)	9,4	10,4	12,3	12,3
BS-2	221,0 \pm 2,0	E = 216,8 \pm 6,6 (n=56) E-cs = 216,1 \pm 10,7 (n=8) PAcc = 216,6 \pm 13,1 (n=25) PA-sc = 216,6 \pm 11,8 (n=30)	3,8	4,7	14,2	14,2
BS-3	491 \pm 5,0	E = 499,2 \pm 14,9 (n=54) E-cs = 509,0 \pm 36,0 (n=13) PAcc = 477,4 \pm 17,7 (n=25) PA-sc = 486,2 \pm 34,1 (n=33)	8,5	8,5	17,9	22,6
BS-4	75,0 \pm 0,8	E = 71,6 \pm 3,9 (n=56) E-cs = 71,0 \pm 5,8 (n=10) PA-cc = 80,4 \pm 4,2 (n=24) PA-sc = 78,7 \pm 6,5 (n=32)	17,9	14,2	18,9	14,2
BS-5	405 \pm 4,0	E = 405,8 \pm 15,6 (n=59) E-cs = 389,0 \pm 14,7 (n=9) PAcc = 397,8 \pm 16,4 (n=24) PA-sc = 394,6 \pm 26,4 (n=28)	5,7	4,7	13,2	9,4
BS-6	132 \pm 1,0	E = 131,7 \pm 5,2 (n=59) E-cs = 123,8 \pm 12,4 (n=9) PAcc = 133,0 \pm 3,1 (n=22) PA-sc = 131,7 \pm 7,5 (n=27)	5,7	3,8	15,1	14,2
BS-7	78,0 \pm 0,8	E = 76,3 \pm 3,7 (n=62) E-cs = 70,7 \pm 4,8 (n=11) PA-cc = 73,2 \pm 5,4 (n=22) PA-sc = 74,3 \pm 5,7 (n=30)	17,0	12,3	18,9	12,3
BS-8	127 \pm 1,0	E = 124,6 \pm 3,2 (n=60) E-cs = 120,5 \pm 11,3 (n=10) PAcc = 126,4 \pm 4,6 (n=21) PA-sc = 128,2 \pm 7,2 (n=29)	3,8	3,8	12,3	11,3

VR, valore target ottenuto con procedura di riferimento; u, incertezza di misura; VA, valore di consenso calcolato per principio metodologico; E, metodo enzimatico; E-cs, metodo enzimatico in chimica secca; PA-cc, metodo al picrato alcalino con compensazione; PA-sc, metodo al picrato alcalino senza compensazione.

Riassumendo, con i LA-EFLM, 73 laboratori (68,8%) potrebbero richiedere l'accreditamento in campo flessibile se il provider utilizza il VA e 64 (60,4%) se utilizza il VR; con i LA-CRRVEQ la numerosità dei laboratori arruolabili per l'accreditamento sarebbe 53 (50,0%) e 51 laboratori (48%,1) rispettivamente.

DISCUSSIONE e CONCLUSIONI

Analogamente agli Autori della lettera all'Editore (1), riteniamo pertanto sia indispensabile l'armonizzazione dei LA adottati dai diversi provider (9-11), ma anche che

questo non sia sufficiente per garantire un giudizio congruente tra i diversi programmi di VEQ. Infatti dovrebbero anche essere utilizzati gli stessi materiali di controllo, in cui la commutabilità sia dichiarata per evitare che problemi di standardizzazione siano attribuiti ad errate procedure interne del laboratorio, e per assicurare che i livelli di concentrazione siano rappresentativi dell'utilizzo clinico.

I dati riportati in Tabella 2 dimostrano che sulla base del VT e dei LA scelti, pur mantenendo gli stessi criteri di elaborazione dati, la percentuale di prestazioni non

Tabella 2

Numero di laboratori che potrebbero richiedere l'accreditamento in campo flessibile per la creatinina: A) laboratori che soddisfano il requisito RT-26; B) laboratori che non soddisfano il requisito RT-26

		LA EFLM		LA CRRVEQ	
A		59		42	
		17	42	↔	
		6*+11			
		VR	VA	VR	VA
		5	14	9	11
		2 [§] +3	5 [^] +9	2 [§] +7	5 [^] +6
		14	5	11	9
		VR	VA	VR	VA
B		28		44	
		↔		28	16
				6*+10	
		LA EFLM		LA CRRVEQ	

* Laboratori che soddisfano il requisito con i LA dell'EFLM e non con i LA del CRRVEQ.

§ Laboratori che soddisfano il requisito con il VR, indipendentemente dai LA

^ Laboratori che soddisfano il requisito con il VA, indipendentemente dai LA

soddisfacenti varia. I coordinatori dei programmi di VEQ devono attentamente valutare quale sia il criterio migliore da adottare sulla base della commutabilità dei materiali di controllo, dei livelli di concentrazione e della distribuzione dei risultati (gaussiana o non gaussiana), in modo da dare evidenza indiscutibile di quale sia il contributo delle procedure interne del laboratorio e quale delle caratteristiche prestazionali del sistema diagnostico, alla prestazione analitica che ne deriva (12,13).

Ed è proprio su questo punto che l'interpretazione del requisito riportato nel documento di Accredia RT-26 deve focalizzarsi.

In un contesto in cui il consolidamento dei laboratori da una parte ed il tentativo di contenere i costi dall'altra, porta ad un minor numero di partecipanti iscritti per ciascun provider, con conseguente difficoltà ad ottenere un'elaborazione statisticamente robusta per ogni gruppo omogeneo (metodo/sistema diagnostico), è doveroso da parte dei provider di VEQ gestiti da professionisti di Medicina di Laboratorio, promuovere programmi di VEQ a livello nazionale, in cui siano garantiti la trasparenza e

l'obiettività dei criteri e delle modalità di gestione adottate.

Una VEQ nazionale permetterebbe di abbattere i costi e contrastare la dilagante espansione di provider per i quali non è garantita la terzietà (richiesta da decreti legislativi oltre che da documenti di consenso delle società scientifiche del settore), ma che hanno il vantaggio di poter offrire i programmi di VEQ a costi concorrenziali. SIBioC, insieme ad altre Società Scientifiche del settore, è chiamata a prendere chiara posizione su questo punto per salvaguardare i livelli di professionalità di uno degli strumenti essenziali per garantire la qualità delle prestazioni dei laboratori clinici.

La collaborazione tra i provider esistenti a livello nazionale permetterebbe inoltre di gestire i singoli programmi nel rispetto di requisiti di più alto valore, per esempio assegnando ai materiali di controllo valori di riferimento per tutti i possibili misurandi per i quali esiste un Sistema di Riferimento.

Solo un valore assegnato ottenuto mediante l'applicazione di procedure di riferimento, da laboratori riconosciuti dal *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM)* (14), permette infatti la valutazione del livello di tracciabilità metrologica delle procedure d'esame utilizzate, ma l'elevato costo per la sua determinazione ha reso difficile al singolo provider la sua applicazione. La collaborazione tra provider permetterebbe di dividere i costi su un più ampio numero di partecipanti.

E' tempo che la parcellizzazione, dovuta a vecchi decreti legislativi (Decreto Craxi-Degan del 1984) venga superata perché non porta alcun beneficio ai partecipanti ai programmi di VEQ, oltre a rendere difficile il compito degli ispettori durante le visite di accreditamento nel discriminare se i criteri e le modalità adottate dai provider di VEQ per la valutazione delle prestazioni analitiche rispecchiano adeguatamente il livello di qualità delle prestazioni.

Concludendo, sebbene pensare in Italia ad un accordo tra i diversi provider per la costituzione di un unico Programma Nazionale per ogni branca della Medicina di Laboratorio possa sembrare una utopia, è ormai diventato impellente che le Società Scientifiche si facciano promotrici di un progetto volto a sostenere i professionisti di laboratorio non solo nei processi di accreditamento ma, soprattutto, nel garantire l'affidabilità delle proprie prestazioni a beneficio del paziente (15).

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Avveduto G, Pezzati P, Quercioli M. I laboratori sono in grado di rispondere ai requisiti previsti dalla norma EN ISO 15189 per la Valutazione Esterna di Qualità? Studio esplorativo sui laboratori toscani per i più comuni

2. misurandi di chimica clinica. *Biochim Clin* 2018;42:347-9. <https://www.accredia.it/documento/rt-26-rev-05-prescrizioni-per-laccreditoamento-con-campo-di-accreditoamento-flessibile/> (ultimo accesso: dicembre 2018).
3. Ricós C, Ramón F, Salas A, et al. Minimum analytical quality specifications of inter-laboratory comparison: agreement among Spanish EQAP organizers. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:455-61.
4. Sciacovelli L, Zardo L, Secchiero S, et al. Quality specifications in EQA schemes: from theory to practice. *Clin Chim Acta* 2004;346:87-97.
5. Ceriotti F, Secchiero S, Sciacovelli L, et al. Linee guida per la gestione dei Programmi di Valutazione Esterna di Qualità. Documento SIBioC. *Biochim Clin* 2011;35:107-26.
6. Carobene A, Franzini C, Ceriotti F. Comparison of the results from two different external quality assessment schemes support the utility of robust quality specifications. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1143-9.
7. Carobene A, Marino I, Coskum A, et al. The EuBivas project within-and between- subject biological variation data for serum creatinine using enzymatic and alkaline picrate methods and implications for monitoring. *Clin Chem* 2017;63:1527-36.
8. Tukey JW. *Exploratory data analysis*. Reading, MA: Addison-Wesley, 1977.
9. Friedecky B, Kratochvila J, Budina M. Why do different EQA schemes have apparently different limits of acceptability? *Clin Chem Lab Med* 2011;49:743-5.
10. Jones GRD. Analytical performance specifications for EQA schemes – need for harmonisation. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:919-24.
11. Jones GRD, Albarede S, Kessler D, et al. Analytical performance specifications for external quality assessment – definitions and descriptions. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:949-55.
12. Topic E, Nikolac N, Panteghini M, et al. How to assess the quality of your analytical method? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1707-18.
13. Sciacovelli L, Secchiero S, Padoan A, et al. External quality assessment programs in the context of ISO 15189 accreditation. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1644-54.
14. Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) database of reference materials and measurement procedures. www.bipm.org/jctlm/ (ultimo accesso: dicembre 2018).
15. Plebani M. Harmonization in Laboratory Medicine: more than clinical chemistry? *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1579–86.

Il contributo dell'automazione alla qualità del consolidamento nei servizi di medicina di laboratorio

Giuseppe Minola

INPECO SA, Novazzano, Switzerland

ABSTRACT

Automation is a sound enabler for clinical laboratory consolidation. Consolidation is a modern phenomenon that is heavily affecting all economic segments and healthcare as well, where the mergers and acquisitions carried out by the big pharma vendors are followed by care providers that are consolidating into big groups. As part of hospitals and institutions, clinical laboratories are impacted by this trend and must deliver more results with fewer resources. On this scenario, automation is a tremendous booster for clinical laboratories, since it can speed up the whole process, offering shorter turnaround times, improving staff motivation, increasing workflow control, reducing footprint. This opinion paper offers a summary of the many advantages provided by the automation of processes in the different steps of the specimen workflow inside the laboratory.

INTRODUZIONE

I costi per la salute costituiscono per tutti i paesi un'elevata quota del prodotto interno lordo, con una media intorno al 10% che raggiunge picchi fino 17-18% negli Stati Uniti, alla continua ricerca di un equilibrio tra numerosità della popolazione assistita e qualità dei servizi resi (1).

A preoccupare è anche la tendenza di questa spesa a un continuo aumento, legata da un lato a fattori demografici, dall'altro a una domanda di salute sempre più informata ed esigente.

Ne deriva la necessità di aumentare l'efficienza del settore, in modo da poter offrire una quantità maggiore di servizi con le medesime, o addirittura minori, risorse ("fare di più con meno"). Questa esigenza ha determinato, a tutti i livelli della catena fornitore-cliente, un processo di consolidamento che ha comportato un accorpamento di strutture per dare luogo a un numero minore di nuove entità di maggiori dimensioni.

Diversi sono i fattori che in linea generale, determinano un aumento di efficienza all'ampliamento di una organizzazione: in primis, si riducono le posizioni di vertice, con una riduzione quindi dei costi del personale, insieme a quelli generali. Inoltre, il potere

negoziale è maggiore quanto più grande è il volume di affari trattati e quindi una struttura consolidata può acquistare prodotti e servizi a condizioni più favorevoli.

Nel solo settore farmaceutico, che rappresenta di gran lunga il maggior costo per i prodotti utilizzati per la salute, il 2018 ha visto oltre 100 acquisizioni per un valore superiore ai 100 miliardi, con una crescita significativa rispetto all'anno precedente (2) e la previsione è che questa tendenza continuerà in futuro, soprattutto con l'acquisizione da parte di gruppi più grandi di realtà giovani, attive nel campo della genetica.

Per quanto riguarda la diagnostica in vitro, che pure è alla base del 70% delle decisioni cliniche, e con un'incidenza estremamente bassa sui costi totali, il processo di consolidamento è in corso ormai da decenni, con il risultato che le prime quattro aziende produttrici di prodotti diagnostici in vitro rappresentano, a livello mondiale, la metà del fatturato totale.

Accanto a questi benefici, è però doveroso aggiungere che il consolidamento può comportare anche effetti meno positivi quali una riduzione di personale e una minor motivazione generata dal cambiamento. Spesso poi i previsti miglioramenti di efficienza si dimostrano inferiori a quelli attesi o, ancora

Corrispondenza a: Giuseppe Minola, VP, Strategic Partnership, Key Accounts Manager, INPECO SA, Via Torracchia 26, 6883 Novazzano, Switzerland, E-mail: giuseppe.minola@inpeco.com

Ricevuto: 18.03.2019

Revisionato: 22.03.2019

Accettato: 01.05.2019

Pubblicato on-line: 23.05.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.045

più frequentemente, vengono ottenuti dopo tempi più lunghi di quelli ipotizzati.

Aggregazione dell'offerta

A fronte di questo consolidamento dell'offerta, anche i fornitori dei servizi di salute (ospedali, centri medici, istituzioni sanitarie) hanno dovuto adeguarsi e avviare un processo di consolidamento, sia per quanto riguarda la degenza che i servizi a pazienti ambulatoriali.

All'estero, soprattutto in Paesi come Stati Uniti, Giappone, Australia e Brasile, il consolidamento dei laboratori ha raggiunto livelli estremi, con la creazione di un numero molto limitato di strutture che processano volumi enormi di campioni, anche superiori a 100 000 campioni al giorno.

Società come Quest o LabCorp producono fatturati superiori ai 10 miliardi, ottenuti anche tramite la gestione di laboratori ospedalieri o fornendo servizi a 360 gradi per specifiche patologie (ad esempio DaVita per pazienti con insufficienza renale). Per contro, i punti di raccolta dei campioni sono in continuo aumento, nella speranza di attirare sempre più clienti.

In Europa il consolidamento ha portato alla creazione di strutture sovranazionali e gruppi come Synlab o Unilabs sono ormai presenti in tutti i principali Paesi, Italia compresa, anche se con dimensioni ancora lontane da quelle statunitensi. Ad esempio Synlab, leader europeo nei servizi di medicina di laboratorio, è presente in 4 continenti e 40 paesi, conta oltre 20 000 dipendenti ed esegue 500 milioni di esami all'anno, con un fatturato di quasi 2 miliardi (3); Unilabs, con strutture in 14 paesi con quasi 200 laboratori e 44 unità di diagnostica in vivo, produce un giro d'affari vicino al miliardo (4).

Interessante l'evoluzione di nazioni come Francia e Regno Unito dove sono state introdotte normative destinate ad aumentare la dimensione minima dei laboratori, anche in questo caso con l'aspettativa di ridurre i costi, incrementando la qualità dei risultati.

In Italia, l'esigenza di un consolidamento dei servizi di medicina di laboratorio è emersa dagli anni '90 (5) e ha trovato chiare indicazioni nella Legge Finanziaria del 2007 (6) che ha demandato alle Regioni la riorganizzazione delle strutture, secondo criteri meglio precisati nel documento approvato dalla Conferenza Stato-Regioni in data 23.03.2011, avente ad oggetto "Criteri per la riorganizzazione delle reti di offerta della diagnostica di laboratorio" contenente il riferimento della soglia minima di efficienza, fissato in 200 000 prestazioni/anno (7).

Non sono mancate comunque iniziative atte a impedire, o almeno rallentare, questo processo, soprattutto in alcune regioni quali Campania, Puglia e Sicilia, che hanno usato a difesa dello status quo elementi come la libera competizione o la salvaguardia dei posti di lavoro (8), in alcuni casi avallate anche da sentenze secondo le quali i maggiori volumi non possono essere considerati garanzia di miglior qualità *per sé* (9).

Nonostante l'ormai ampia casistica disponibile, è difficile trarre indicazioni univoche degli effetti legati al consolidamento a causa dei risultati contrastanti e differenti a seconda dei parametri esaminati (10).

L'AUTOMAZIONE PER I SERVIZI DI MEDICINA DI LABORATORIO

Dal punto di vista dei laboratori clinici, al momento di consolidare in un'unica struttura diverse realtà preesistenti, si pone la necessità di trovare sinergie per riuscire a processare carichi di lavoro maggiori con aumentata efficienza, quindi con una produttività pro-capite e per metro quadro, superiore.

Uno degli strumenti più potenti per raggiungere questo risultato è costituito dall'utilizzo di automazione (intesa sia in termini hardware che software), ormai da anni l'elemento principale di innovazione e modernizzazione di tutti i settori, industriali e dei servizi. Sicuramente i prossimi anni vedranno un'accelerazione in tal senso, spinta da un costo sempre minore dell'automazione e dalla necessità di una maggiore competitività in un mondo che, per gran parte dei mercati, compreso quello della salute, presenterà un'offerta largamente superiore alla domanda e quindi offrirà alla popolazione una scelta sempre più ampia di fornitori di servizi.

Un'ulteriore spinta all'adozione dell'automazione nei servizi di medicina di laboratorio è legata alla carenza di risorse, fenomeno globale (Italia compresa) come dimostrato da uno studio molto recente (11).

In generale, il settore salute è tra quelli più cauti nell'adozione di strumenti di digitalizzazione e automazione (12), anche per la comprensibile prudenza richiesta per gestire aspetti così delicati (la salute delle persone, i dati personali), per la rischiosità di modificare processi consolidati e per la obiettiva complessità degli innumerevoli processi che ruotano intorno a un paziente. E' opportuno spendere alcune parole per chiarire cosa si intende con automazione di laboratorio, considerato che l'utilizzo di strumenti analitici ad elevate prestazioni, in termini di repertorio offerto e produttività, è ormai pressoché totale in tutti i laboratori clinici e costituisce senza dubbio una forma di automazione. Questa opinione tuttavia, riguarda un ulteriore livello di automazione, in grado di svolgere in maniera completamente automatica, senza errori e con tracciabilità totale, le fasi pre- e post-analitiche, dalla identificazione del campione fino alla sua eliminazione, rimuovendo così processi manuali che comportano, per definizione, rischio maggiore di errori e non permettono una tracciabilità del processo.

In epoca di Industria 4.0, che si basa sul dialogo macchina-macchina, la possibilità di alimentare e collegare con un'automazione evoluta diversi analizzatori costituisce senza dubbio una formidabile opportunità.

Ormai dagli anni '80 si sono affacciate sul mercato due tipologie di automazione:

- *Task Targeted Automation* (TTA) riferita a sistemi

in grado di svolgere alcuni passaggi relativi alle fasi pre- e/o post-analitica, lasciando all'operatore il compito di trasferire i campioni dal sistema TTA verso e dagli analizzatori e, successivamente, all'area refrigerata di conservazione.

- **Total Lab Automation (TLA)** che comprende moduli di automazione destinati allo svolgimento delle fasi pre- e post-analitiche e la connessione, fisica e logica, agli analizzatori, permettendo così l'esecuzione dell'intero processo analitico, senza alcuna interruzione e con intervento umano limitato al caricamento dei campioni e allo smaltimento degli stessi, alla fine del processo.

La scelta dell'automazione più adatta alle specifiche esigenze del singolo servizio di medicina di laboratorio dipende ovviamente da molteplici fattori, quali i carichi di lavoro, le dimensioni e l'esperienza del personale e la prevista evoluzione futura, considerato che un sistema di automazione può avere una vita utile fino a 10 anni.

Anche la distribuzione del carico di lavoro giornaliero va considerata, per assicurare che l'automazione sia in grado di supportare i volumi attuali e quelli futuri, anche al momento di picco, garantendo una corsia preferenziale ai campioni più urgenti, fattore questo di particolare rilevanza all'interno delle strutture ospedaliere. Senza dubbio però, nell'ottica dei laboratori che vanno consolidandosi ed ingrandendosi per accogliere sempre più campioni conferiti da centri esterni, le soluzioni di automazione totale permettono indubbi benefici. Tuttavia, è opportuno sottolineare che come ogni cambiamento, l'introduzione di automazione richiede attenzione, condivisione e tenacia per far conoscere al personale le ragioni della scelta e i benefici attesi e ricevere di conseguenza un supporto il più ampio possibile.

Sono esaminati qui di seguito alcuni ambiti operativi sui quali un'automazione estesa può portare tangibili contributi.

Impatto sugli spazi

A livello di macrosistema, un primo beneficio riguarda la logistica, poiché una soluzione TLA permette di ridurre la circolazione di personale all'interno del laboratorio, riducendo la superficie occupata.

Miler et al. nel 2018 hanno descritto l'impatto di un sistema di automazione totale in un Dipartimento di Chimica Clinica di un Ospedale Universitario (13) attraverso l'utilizzo di alcuni indicatori di tipo logistico: la superficie utilizzata è stata ridotta del 20% e concentrata in un unico ambiente; il pannello analitico, in precedenza distribuito su strumenti off-line, è stato consolidato sugli strumenti in linea e incrementato di nuovi analiti; i movimenti effettuati e le distanze percorse dagli operatori all'interno del laboratorio per movimentare i campioni si è ridotto del 31% malgrado un incremento contestuale di attività del 16%; il contatto degli operatori con i campioni biologici si è ridotto del 50%; le diluizioni di campioni eseguite a mano per ripetere, su un diverso strumento, analisi al di fuori dell'intervallo di misura, si

sono annullate perché gestite in completa automazione.

È evidente che nell'ottica di un progetto di consolidamento, il tema dello spazio disponibile non è secondario. Oggi è anche possibile sviluppare l'automazione su diversi piani connessi tra loro: sono infatti disponibili moduli per il trasporto verticale, che consentono la movimentazione dei campioni tra i diversi piani dello stabile, come avviene presso il Memorial Sloan Kettering di New York (14).

Impatto sui tempi di rilascio dei risultati

Nei casi di consolidamenti significativi di servizi di medicina di laboratorio, un ulteriore elemento sul quale l'automazione ha un impatto positivo è il tempo di risposta (*Turn Around Time- TAT*); grazie al fatto che il processo automatizzato è standardizzato e ripetibile. La dispersione dei valori di TAT sarà così significativamente ridotta con un abbattimento degli outliers, permettendo di offrire livelli di servizio sempre garantiti. Diversi sono gli studi che hanno utilizzato questi indicatori; è significativa una esperienza italiana (15), dove il TAT intra-laboratorio è migliorato di alcuni minuti sia per l'attività di routine che per quella in urgenza, e la sua variabilità (tempi oltre 60 minuti) si è ridotta dall'11% al 5%. Il tempo limite di 45 minuti per il TAT della attività in urgenza, stabilito dal laboratorio, è stato pienamente rispettato.

Le automazioni più avanzate sono anche in grado, appena identificato il campione, di verificarne alcune caratteristiche quali volume e eventuale presenza di emolisi, ittero o lipemia. La conoscenza di tali informazioni può rivelarsi fondamentale per correggere subito dopo l'identificazione, il percorso di alcuni campioni; ad esempio se il volume non è sufficiente per produrre le aliquote necessarie o la qualità del campione non idonea alla sua processazione, è possibile prendere sin da subito le decisioni più opportune.

È naturale quindi che i benefici ottenuti saranno tanto maggiori quanto più elevato è il carico di lavoro totale del laboratorio che può essere interamente processato sull'automazione, e quindi tanto maggiore è il numero di specialità connesse.

In una realtà di notevoli dimensioni (16) l'adozione di una TLA con 13 strumenti collegati per chimica clinica, immunometria, emocitometria e coagulazione, ha permesso di incrementare il volume di attività del 25%, raggiungendo i 4 milioni di esami/anno con una percentuale di esami richiesti in urgenza del 30% e un miglioramento del TAT dal prelievo alla validazione del risultato del 40%.

Dati di letteratura confermano che il conferire alla TLA i campioni per il loro trasporto agli analizzatori non ha effetti negativi sulla qualità dei risultati prodotti. In un laboratorio che ha adottato una TLA con 9 linee analitiche collegate per gestire esami di chimica clinica, immunometria, emocitometria e coagulazione, gli autori hanno voluto valutare l'influenza della gestione pre-analitica eseguita in automatico dalla TLA (centrifugazione, trasporto lungo la linea) sui risultati

degli esami di coagulazione (17). L'ipotesi da valutare era il rischio che il trasporto dei campioni centrifugati per lunghi tratti, con passaggi e deviazioni, potesse risospendere il campione e causare alterazione dei risultati degli esami di coagulazione. Sui campioni analizzati nelle due condizioni (TLA versus centrifugazione off-line e carico manuale sullo strumento) è stato osservato uno scostamento negativo dei valori ottenuti dopo TLA rispetto alla preparazione manuale, sempre comunque inferiore all'errore totale accettabile. La conclusione degli autori è che tale scostamento è ammissibile perché la sua entità non è tale da influenzare l'utilizzo clinico del risultato.

Dalle isole di specialità a un sistema integrato

L'adozione dell'automazione nei servizi di medicina di laboratorio offre l'opportunità di rivedere anche la classica organizzazione dello stesso, tipicamente articolata tra settori specialistici di biochimica clinica, microbiologia ed emocitometria. Con le fasi "produttive" svolte dal sistema di automazione, il personale può concentrare le proprie attività sull'esito del processo (il risultato) che deve costituire il centro di attenzione del laboratorio, in grado di trasformare i dati in informazioni di salute che possono indirizzare le decisioni cliniche.

Un'automazione TLA riduce in maniera drastica ogni attività di *sorting*, solitamente molto intensa con un processo manuale, perché in grado di processare selettivamente e inviare agli analizzatori appropriati i campioni di tutte le principali specialità, come chimica clinica, immunochimica, virologia, allergia, coagulazione, emocitometria, microbiologia, biologia molecolare, elettroforesi capillare.

Ciò significa che il laboratorio può caricare in un unico sistema le provette delle varie specialità, delegando alla automazione il processo produttivo in modo da poter concentrare le competenze e le esperienze degli operatori sulla fase di validazione e interpretazione dei risultati.

Ad esempio, in un laboratorio già dotato di TLA per esami di area siero e sangue anticoagulato (emocitometria, emoglobina glicata, velocità di eritrosedimentazione, esami di coagulazione), che esegue 3 milioni di esami/anno, è stato integrato un sistema di automazione (WASP, Copan) dell'analisi batteriologica che esegue la semina, l'incubazione, la lettura delle colture, la preparazione dell'inoculo per identificazione e antibiogramma (18). Dopo l'integrazione nella TLA, la sicurezza nella manipolazione di questi materiali è aumentata e i tempi di refertazione sono migliorati. La TLA, infatti, consente che i campioni batteriologici vengano avviati alla coltura in continuo (24 ore al giorno per 7 giorni alla settimana) dal personale tecnico di turno, anche privo di competenza specifica. I tempi dalla rilevazione di una positività di una coltura, alla identificazione e all'antibiogramma sono di conseguenza diminuiti.

La conservazione di grandi volumi di campioni

Il miglioramento nella gestione dei campioni nelle fasi pre-analitica e analitica ha effetto anche sulla qualità del campione al termine del ciclo, quando questo viene immagazzinato in ambiente refrigerato per eventuali successive analisi. In questa fase finale, i sistemi di automazione portano un fondamentale contributo alla gestione di grandi volumi di campioni grazie ai moduli per la conservazione a temperatura refrigerata, che possono crescere man mano che il bisogno del laboratorio evolve. Nel laboratorio centrale di una clinica ospedaliera è stata valutata la stabilità dei campioni biologici che dopo l'analisi vengono conservati refrigerati per 5 giorni, per un loro eventuale riutilizzo, per eseguire ripetizioni o test riflessi (19). Dopo l'implementazione della TLA i campioni di siero, terminate le analisi, vengono in modo automatico sigillati e indirizzati all'immagazzinamento on-line. La stabilità dei campioni di siero è stata valutata su 27 analiti di chimica clinica: le determinazioni sono state ripetute ad intervalli fino a 120 ore dopo la refrigerazione. Solo un analita (lattico deidrogenasi) ha mostrato una variazione superiore alla variazione totale ammissibile (cioè la differenza critica, che include la variabilità analitica e biologica). La stessa esperienza pre-automazione, con movimentazione e refrigerazione manuale dei campioni, aveva mostrato una variazione nei risultati superiore alla differenza critica in 9 analiti. Gli autori attribuiscono questo miglioramento ai tempi ridotti di permanenza dei campioni a temperatura ambiente e in provette stappate.

Sul mercato sono disponibili archivi di conservazione a partire da 9 000 campioni (gestione ordinaria di un medio laboratorio) che è possibile mettere in linea utilizzando più unità. Recentemente, per soddisfare le esigenze di laboratori con volumi particolarmente elevati, sono state introdotte sul mercato anche soluzioni di *high volume archive* che possono conservare e gestire oltre 500 000 campioni. Queste soluzioni permettono non solo la conservazione dei campioni per un tempo definito dall'operatore, ma soprattutto sono in grado di recuperare e riportare in linea un determinato campione, per qualunque tipo di esigenza (ad esempio per ripetere un esame) entro pochi secondi.

La tracciabilità dal punto zero

Non è sufficiente però esaminare i benefici dell'automazione all'interno del laboratorio analisi, senza considerare che i campioni biologici vengono preparati in luoghi sempre più numerosi e distanti. Parallelamente al consolidamento della processazione dei campioni, si è verificato infatti un aumento continuo dei punti di prelievo e di raccolta del materiale biologico. Anche in Italia ormai è comune trovare un punto prelievi al centro commerciale o alla stazione ferroviaria.

Questa situazione richiede considerazione e misure idonee a garantire una qualità omogenea nei processi di prelievo (identificazione del paziente, tipo di provetta, corretta etichettatura) e ad evitare che il trasporto del campione, su lunghe distanze e in condizioni non

controllate, pregiudichi il risultato finale.

Documenti/linee guida per la corretta esecuzione dei prelievi ed il corretto trattamento dei campioni biologici, al fine di garantire la stabilità degli analiti ivi contenuti fino al momento della determinazione analitica, sono pubblicati da tempo e sono stati oggetto di recenti estensive messe a punto (20, 21).

Nella fase di prelievo sono oggi disponibili diverse soluzioni in grado di garantire una corretta identificazione del paziente e preparazione del campione, e tracciarne da subito esistenza e caratteristiche fino al momento della sua ricezione in laboratorio. In uno studio italiano (22) condotto su una casistica di oltre 15 000 pazienti ambulatoriali, una soluzione adottata dai punti prelievo per l'identificazione dei pazienti, degli analiti richiesti e dei contenitori di prelievo, si è dimostrata in grado di ridurre in maniera significativa il tempo necessario per la preparazione (selezione ed etichettatura provetta) degli oltre 48 000 campioni biologici prelevati, e di garantire la sicurezza e la tracciabilità del campione dal momento del prelievo in poi.

CONCLUSIONI

La vita quotidiana ci ricorda come la tecnologia abbia raggiunto livelli impensabili fino a qualche tempo fa in un numero sempre più elevato di applicazioni: basti pensare al riconoscimento personale che ormai è possibile con un semplice smartphone. Nonostante ciò, l'utilizzo di tecnologie anche comuni è ancora limitato nella maggior parte dei processi relativi alla salute, compresi i servizi di medicina di laboratorio. Una delle barriere è senza dubbio il fatto che tanti attori ruotano attorno alla salute di un individuo, spesso con obiettivi differenti.

I recenti sviluppi delle tecnologie in campo diagnostico e terapeutico e a supporto dell'attività quotidiana ci offrono la formidabile opportunità di offrire una miglior qualità alla vita, dopo averne aumentato la durata, anche grazie a una sempre maggiore integrazione tra i vari attori che operano nel campo della salute e una visione che pone al centro di ogni attività la persona, paziente o soggetto sano.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il dottor Alessandro Marocchi per i suggerimenti e la revisione del testo.

CONFLITTO DI INTERESSI

L'Autore è Vice Presidente di INPECO SA, Collaborazioni Strategiche, Novazzano, Switzerland.

BIBLIOGRAFIA

1. <http://www.oecd.org/health/health-expenditure.htm> (ultimo accesso: aprile 2019).

2. <https://www.thepharmaletter.com/article/the-state-of-pharma-mergers-and-acquisitions-in-2018> (ultimo accesso: aprile 2019).
3. <https://www.synlab.com/en/about/> (ultimo accesso: aprile 2019).
4. <https://unilabs.com/node/1257> (ultimo accesso: aprile 2019).
5. Franzini C, Cattozzo G, Luraschi P, et al. Laboratorio: discussione di un modello organizzativo basato sulla integrazione di tecnologie. *Biochim Clin* 2003;27:239-57.
6. Legge 296/06 (Finanziaria 2007), Art. 1 comma 796 lettera o). <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2007/01/11/07A00183/sg> (ultimo accesso: aprile 2019).
7. Conferenza Stato-Regioni del 23.03.2011 Criteri per la riorganizzazione delle reti di offerta della diagnostica di laboratorio. www.trovanorme.salute.gov.it/normsan-pdf/0000/40324_1.pdf (ultimo accesso: aprile 2019).
8. «Accorpamento» dei laboratori di analisi, a rischio 4 mila posti di lavoro. *Il Mattino*, Napoli, 20 Marzo 2016.
9. Laboratori di analisi cliniche in Sicilia: il Tar annulla l'obbligo di accorpamento: *Giornale di Sicilia*, 22 Agosto 2015.
10. Comparto Sanità.it, 16 Febbraio 2017: I processi di accorpamento delle Aziende Sanitarie Locali. www.compartosanita.it/processi-accorpamento-delle-aziende-sanitarie-locali (ultimo accesso: aprile 2019).
11. Studio ANAAO ASSOMED: La mappa delle carenze di medici specialisti Regione per Regione, 20 Aprile 2019, <https://www.insalutenews.it/in-salute/carenza-di-medici-specialisti-regione-per-regione-studio-anaao-assomed/> (ultimo accesso: aprile 2019).
12. <https://www.mckinsey.com/business-functions/digital-mckinsey/our-insights/four-keys-to-successful-digital-transformations-in-healthcare>. (ultimo accesso: aprile 2019).
13. Miler M, Nikolac Gabaj N, Dukic L, et al. Key performance indicators to measure improvement after implementation of total laboratory automation Abbott Accelerator a3600. *J Med Syst* 2017;42:28.
14. <https://thepathologist.com/inside-the-lab/the-lab-of-the-future-now#> (ultimo accesso: aprile 2019).
15. Angeletti S, De Cesaris M, Hart JG, et al. Laboratory automation and intra-laboratory turnaround time: experience at the University Hospital Campus Bio-Medico of Rome. *J Lab Autom* 2015;20:652-8.
16. Lou AH, Elnenaei MO, Sadek I, et al. Evaluation of the impact of a total automation system in a large core laboratory on turnaround time. *Clin Biochem* 2016;49:1254-8.
17. Da Rin G, Lippi G. Total laboratory automation of routine hemostasis testing. *J Lab Autom* 2014;19:419-22.
18. Da Rin G, Zoppelletto M, Lippi G. Integration of diagnostic microbiology in a model of total laboratory automation. *Lab Med* 2015;47:73-82.
19. Parra-Robert M, Rico-Santana N, Alcaraz-Quiles J, et al. Improvement in the stability of serum samples stored in an automated refrigerated module. *Clin Biochem* 2016;49:1396-8.
20. Simundic AM1, Bölenius K, Cadamuro J, et al. Raccomandazione congiunta EFLM-COLABIOCLI per il prelievo di sangue venoso. *Biochim Clin* 2019;43:BC_2019.012. Pubblicato online il: 15.03.2019
21. Zaninotto M, Brando B, Cenci AM, et al. Raccomandazioni FISMeLab per il trasporto del materiale biologico. *Biochim Clin* 2019;43: BC_2018.070. Pubblicato on-line: 20.12.2018
22. Piva E, Tosato F, Plebani M. Pre-analytical phase: the automated pro-tube device supports quality assurance in the phlebotomy process. *Clin Chim Acta* 2015;451:287-91.

Siero o plasma? Un quesito non nuovo che attende risposte nuove

Mario Plebani¹, Giuseppe Banfi², Sergio Bernardini³, Francesco Bondanini⁴, Laura Conti⁵, Romolo Dorizzi⁶, Fulvio Enrico Ferrara⁷, Rita Mancini⁸, Tommaso Trenti⁹

¹Dipartimento Strutturale Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale Università di Padova

²IRCCS Istituto Ortopedico Galeazzi, Università Vita e Salute San Raffaele, Milano

³Università degli Studi di Tor Vergata, Roma

⁴Unità Operativa Complessa Patologia Clinica Presidio Ospedaliero Sant'Eugenio/CTO ASL Roma 2

⁵IRCCS Istituto Nazionale Tumori Regina Elena Roma

⁶Unità Operativa Patologia Clinica, AUSL della Romagna, Cesena

⁷Direttore Servizio Integrato di Medicina di Laboratorio e Anatomia Patologica, Centro Diagnostico Italiano Spa, Milano

⁸Laboratorio Unico Metropolitano, AUSL Bologna, Bologna

⁹Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Anatomia Patologica Azienda Ospedaliera Universitaria e USL di Modena

ABSTRACT

Serum or plasma? An old question awaiting for new answers. There is a continual debate on what type of sample a clinical laboratory should use. While serum is still considered the gold standard and remains the required sample matrix for some assays, laboratories must consider turn-around time, which is an important metric for laboratory performance and, more importantly, plays a critical role in patient care. In addition, a body of evidence emphasize the choice of plasma samples in order to prevent modifications of some measurands due to the coagulation process and related interferences. Advantages and disadvantages of serum and plasma are discussed on the basis of current literature and evidence. In addition, data are provided on the current utilization of the matrix (serum or plasma) in Italy and in other Countries. Finally, a rationale for a possible shift from serum to plasma is provided.

OBIETTIVI DEL DOCUMENTO

Questo documento si pone l'obiettivo di stimolare e facilitare un percorso di armonizzazione delle matrici biologiche, derivate dal sangue e utilizzate a scopo diagnostico, proponendo il plasma quale matrice d'elezione verso la quale indirizzarsi in modo convinto e in tempi rapidi. A tal fine, vengono sinteticamente illustrati i seguenti argomenti:

- vantaggi della matrice plasmatica;
- vantaggi della matrice sierica;
- situazione nei laboratori clinici europei e italiani rispetto all'uso di plasma e siero per gli esami di chimica clinica;
- rationale per la migrazione da siero a plasma e sintesi delle attuali conoscenze sull'uso della matrice plasmatica in diversi contesti analitici;
- accorgimenti per una corretta gestione del cambio di matrice;
- prime proposte operative.

INTRODUZIONE

La maggior parte degli esami eseguiti dai laboratori clinici è diretta a determinare le concentrazioni di diversi costituenti ematici (misurandi) presenti nella parte liquida del sangue. Se non trattato con opportuni anticoagulanti, il sangue intero *ex vivo* tende a coagulare naturalmente a ragione della rapida trasformazione del fibrinogeno in fibrina (una proteina quest'ultima che, imbrigliando gli elementi corpuscolati presenti nel sangue, concorre giustappunto a formare il coagulo). Attraverso la centrifugazione dei campioni, è possibile separare gli elementi figurati imbrigliati dalla fibrina dalla parte liquida (cioè dal siero) con una resa variabile dal 40% al 50% v/v. Con l'eccezione del fibrinogeno e dei fattori della coagulazione, rimangono così disciolti nel siero tutti i metaboliti prodotti dall'organismo e in particolare le proteine, gli ormoni, i marcatori di lesione, e gli acidi nucleici circolanti.

Per altra via, l'uso di idonei anticoagulanti (cioè di

Corrispondenza a: Mario Plebani, Dipartimento Strutturale Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Università di Padova, Via Giustiniani, 2 - 35128 Padova. Tel. 0498212792; E-mail: mario.plebani@unipd.it

Ricevuto: 05.10.2018

Revisionato: 11.10.2018

Accettato: 12.10.2018

Pubblicato on-line: 26.11.2018

DOI: 10.19186/BC_2018.069

sostanze in grado di bloccare il processo di coagulazione) consente di ottenere per centrifugazione una parte liquida del sangue, detta plasma, che contiene ancora sia il fibrinogeno sia gli altri fattori della coagulazione nella loro forma e composizione originale. Va da sé che, a meno della necessaria presenza dell'anticoagulante (che può, in alcuni casi, interferire con i metodi di misura), il plasma così ottenuto è del tutto simile a quello del tessuto circolante: il che favorisce, dal punto di vista analitico-diagnostico, la massima rappresentatività del campione *in vitro* rispetto allo stato *in vivo* del paziente fonte.

Gli anticoagulanti di più largo impiego nella pratica di laboratorio sono i sali dell'acido etilendiaminotetracetico (EDTA_{K3}, EDTA_{K2}), il sodio citrato tamponato, l'eparina di litio. Altri anticoagulanti (come, ad esempio, il potassio ossalato) sono utilizzati in minor misura per scopi essenzialmente conservativi di alcuni metaboliti e per preservare la qualità del campione sino al momento dell'analisi (stabilizzazione pre-analitica).

I sali di EDTA agiscono da chelanti del calcio e possono legarsi irreversibilmente a molti altri componenti e/o interferire nelle reazioni necessarie alle misure biochimiche delle concentrazioni di alcuni misurandi. Il sodio citrato è un competitore reversibile del legame con il calcio e trova impiego principalmente nei test emocoagulativi, dove le potenzialità coagulative del plasma devono essere prima mantenute e poi riattivate. L'eparina è, invece, un anticoagulante non competitivo, che non agisce sullo ione calcio ma che blocca la coagulazione attraverso la formazione di un complesso eparina-antitrombina III dotato di fortissima attività inibitrice dei fattori della coagulazione X e II. Al netto della dipendenza dalla disponibilità di antitrombina del campione (situazione praticamente sempre realizzata) e della possibile interferenza dello ione con cui l'eparina forma il sale utilizzato come anticoagulante (comunemente il litio), l'eparina interferisce in misura molto inferiore rispetto ad altri anticoagulanti nella maggior parte delle analisi di laboratorio, e il plasma che permette di ottenere è idoneo alla determinazione con molti metodi e per quasi tutti i misurandi.

SIERO O PLASMA?

Il siero, per la facilità con cui si ottiene e per essere stato storicamente utilizzato prima del plasma, si è imposto nel tempo come matrice standard per gli esami di chimica clinica. Di contro, nel passato, i campioni di plasma sono stati utilizzati solo quando si rendeva necessario evitare l'attivazione *in vitro* della cascata coagulativa o erano necessarie tecniche speciali di preservazione e/o conservazione del campione.

Per queste ragioni, legate prevalentemente alla tradizione, il siero rappresenta tuttora la matrice biologica di prima scelta utilizzata in molti laboratori. Il plasma, di contro, presenta diversi vantaggi rispetto al siero e da molti anni è stata valutata con sempre maggior attenzione la possibilità di utilizzarlo nella pratica di laboratorio. Già a partire dagli anni settanta del

secolo scorso, compaiono in letteratura studi sulla intercambiabilità dei risultati di esami ematochimici ottenuti su siero e su plasma (1,2). Negli anni successivi, l'utilizzo del plasma è andato moderatamente crescendo e le prove della possibilità di utilizzarlo nella routine hanno trovato ulteriori conferme (3-6). Nel 1999, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) rilevava un cambiamento di direzione da parte di alcuni laboratori che mostravano di preferire il plasma quale matrice d'elezione per la determinazione dei costituenti extracellulari del sangue in quanto, rispetto al siero, specchio più fedele dello status *in vivo* del paziente. Tuttavia, nonostante l'ampiezza delle prove e delle evidenze sulla possibilità di usare il plasma per la determinazione di molti misurandi (e a dispetto dei dichiarati vantaggi collegati a tale scelta), l'uso di questa matrice biologica, in Europa e nel mondo, non supera ancora oggi il 20% del volume di campioni destinati alla chimica-clinica (seppur con qualche vistosa e importante eccezione).

Ciò che è certo è che l'uso contemporaneo e promiscuo delle due matrici (sierica e plasmatica) pone numerosi dubbi metodologici e andrebbe attentamente evitato. Poiché numerosi costituenti presentano una diversa concentrazione nel plasma e nel siero, i dati provenienti dall'una e dall'altra matrice non possono essere né interpretati, né confrontati se non a rischio di commettere importanti errori di valutazione. Quest'evidenza determina la necessità di un'armonizzazione nell'uso delle matrici biologiche per lo stesso misurando: una necessità che si è fatta oggi più urgente che in passato a ragione dei nuovi assetti organizzativi delle reti di laboratori che, nell'affrontare la crescente complessità dei flussi di campioni e di informazioni, richiedono una profonda e attenta riconsiderazione dei livelli di standardizzazione dei metodi e delle procedure. Il tema in questione, seppur squisitamente tecnico, implica conseguenze che vanno al di là dei confini del laboratorio e che, propagandosi lungo l'intero percorso diagnostico-terapeutico, giungono a interessare l'efficacia delle cure, l'efficienza dei processi e, infine, la sicurezza dei pazienti.

Vantaggi della matrice plasmatica

Per gli analiti (misurandi) determinabili sia nel plasma sia nel siero, l'uso della matrice plasmatica offre alcuni importanti vantaggi.

Risparmio di tempo

I campioni di plasma possono essere centrifugati immediatamente dopo il prelievo. Al contrario, per le determinazioni in siero è necessario attendere almeno 30 minuti affinché si completi la coagulazione e il campione possa essere centrifugato. Centrifugazioni anticipate o campioni con tempi di coagulazione prolungati (ad esempio a causa di terapie anticoagulanti in corso), possono determinare la permanenza di fibrina non consolidata nel siero surnatante e richiedere sia trattamenti di rimozione del coagulo sia eventuali cicli di

ri-centrifugazione del campione, con ulteriore prolungamento dei tempi. Per alcune determinazioni e in molte situazioni cliniche il fattore tempo rappresenta un elemento determinante della qualità diagnostica. Tempi di risposta [“turn around time” (TAT)] brevi sono indispensabili per assicurare interventi terapeutici appropriati, per migliorare gli outcome clinici, per ridurre i tempi di permanenza in pronto soccorso, per ridurre i tempi di degenza e, più in generale, per accrescere l'efficacia e l'efficienza dell'intero sistema sanitario non solo in situazioni di urgenza diagnostica ma anche in elezione (7,8).

Maggiore resa

La centrifugazione di un campione anticoagulato rende circa il 15-20% in più di volume, rispetto al siero. Questo importante aspetto consente di utilizzare provette a volume ridotto, a vantaggio sia della prevenzione di anemizzazioni da prelievi ripetuti (non rare nei contesti ospedalieri, specie nei pazienti con ridotta riserva sanguigna e nei pazienti pediatrici), sia della riduzione dei costi legati allo smaltimento dei rifiuti speciali.

Prevenzione di interferenze indotte da coagulazione

La presenza di filamenti di fibrina nel siero (associati a una coagulazione imperfetta) può portare all'otturazione degli aghi-sonda utilizzati dagli analizzatori per il campionamento, con conseguente possibile impatto sull'attendibilità/validità del dato finale e sull'efficienza del processo analitico (blocco strumentale). In merito, giova ricordare che sono stati descritti in letteratura sporadici errori, in determinazioni immunometriche, causati dalla presenza di microcoaguli (9,10). Il plasma, per sua natura, non contiene filamenti di fibrina.

Prevenzione di influenze indotte da coagulazione

Il processo di coagulazione modifica la concentrazione di numerosi costituenti. Rispetto al plasma, si possono registrare nel siero aumenti delle concentrazioni di alcuni costituenti quali potassio, magnesio, aspartato aminotransferasi, lattato deidrogenasi, enolasi neurone-specifica, zinco. Specularmente si possono osservare riduzioni nelle concentrazioni di altri costituenti (ad esempio glucosio, proteine totali, piastrine) causate dal metabolismo cellulare durante il processo di coagulazione. A ragione della variabilità del meccanismo che li produce, non è possibile porre rimedio a questo tipo di errori attraverso la semplice introduzione di un fattore di correzione: ciò comporta la necessità di ripetere le misure per conferma. Non è raro che un'iperpotassiemia da artefatto pre-analitico conduca all'ospedalizzazione del paziente.

Minore emolisi

L'emolisi in campioni di matrice diversa è tuttora un problema controverso e, in particolare, è ancora in

discussione se il plasma riduca la percentuale di campioni emolizzati rispetto al siero. Di fatto, la concentrazione di emoglobina libera misurata in un campione non selezionato di pazienti ambulatoriali risulta più elevata nel siero che nel plasma (11). Di contro, pare che durante il trasporto con posta pneumatica il siero sia meno soggetto a emolisi rispetto al plasma (12). Ulteriori studi sono necessari per chiarire la questione.

Conservabilità in biobanche

Nonostante numerosi studi, le condizioni ideali per la conservazione di siero e plasma nelle biobanche di materiale biologico umano sono ancora da determinare in modo definitivo. Il plasma è consigliato per i metaboliti in genere, per DNA e RNA circolante associato a tumori in campioni privi di cellule e per RNA mitocondriale, mentre il siero rimane la matrice di preferenza per gli approcci di proteomica e lipidologia (13,14).

Vantaggi della matrice sierica

Per gli analiti (misurandi) determinabili sia nel plasma sia nel siero, l'uso della matrice sierica può offrire i seguenti vantaggi.

Minore contaminazione da elementi cellulari

Dopo centrifugazione, il siero è virtualmente privo di elementi cellulari mentre nel plasma possono residuare un numero non irrilevante di leucociti, eritrociti, piastrine e detriti cellulari aspecifici (15). Nel plasma, infatti, gli elementi cellulari possono non essere completamente rimossi se la centrifugazione non è sufficientemente intensa e prolungata. Inoltre, dopo centrifugazione, le cellule ematiche possono essere facilmente risospese nel surnatante. La permanenza di elementi cellulari nel plasma può provocare la diminuzione di alcuni costituenti come conseguenza del metabolismo cellulare. In aggiunta, l'eventuale congelamento per conservazione del campione può provocare la rottura di queste cellule residue, con possibilità di aumento di emoglobina libera, citochine, recettori e quant'altro. Il congelamento/scongelo può anche aumentare il rischio di attivazione da freddo/caldo dei fattori della coagulazione presenti nel plasma anticoagulato, con conseguente formazione del gel di fibrina nel campione già separato. L'uso di gel separatori riduce, ma non elimina, la presenza di elementi cellulari nel plasma, in quanto durante la centrifugazione i leucociti e le piastrine si posizionano al di sopra del gel separatore (“buffy coat”) e solo gli eritrociti, che si posizionano al di sotto, sono efficacemente separati e isolati dal plasma. Un recente studio sull'utilizzo di una promettente nuova tecnologia di separazione (separatore meccanico non-gel) mostra una significativa riduzione della contaminazione da elementi cellulari nei campioni di plasma ottenuti per centrifugazione (16).

Assenza di anticoagulanti

L'utilizzo di siero non comporta l'aggiunta al sangue di

alcun tipo di anticoagulante, evitando così ogni possibile interferenza indotta da tali sostanze.

Possibilità di utilizzare il campione per l'elettroforesi sieroproteica

L'assenza di fibrinogeno nel siero consente di eseguire un'elettroforesi sieroproteica non disturbata dalla presenza di questa proteina nel tracciato elettroforetico (picco aggiuntivo tra le componenti β e γ).

Infine, l'uso più ampio e consolidato della matrice

sierica ha prodotto nel tempo una maggiore disponibilità di metodi validati su questa matrice (con conseguente maggiore riferibilità/tracciabilità metrologica). Questa situazione, determinata più dalla prassi che da comprovati limiti tecnico-metodologici, sta rapidamente evolvendo e già ad oggi la larga maggioranza dei misurandi può essere determinata sia su siero sia su plasma.

I rispettivi vantaggi e svantaggi dell'uso di plasma o siero sono elencati in Tabella 1.

Tabella 1

Pro e contro nell'uso del plasma e del siero

Variabile	Preferenza	Plasma	Siero
Tempo	Plasma	Centrifugabile immediatamente dopo il prelievo	Anche con utilizzo di attivatori della coagulazione, occorre attendere almeno 30 minuti prima di centrifugare, affinché si formi un coagulo stabile di fibrina
Volumi	Plasma	A parità di ematocrito, la resa del plasma è 15-20% maggiore rispetto al siero	
Interferenze sui campionatori	Plasma		Filamenti di fibrina possono ostruire gli aghi campionatori degli analizzatori
Interferenze da coagulazione	Plasma	Nel congelamento/scongelamento potrebbe attivarsi la coagulazione, con formazione di fibrina e consumo dei fattori. Raro con litio-eparina e sali di EDTA	Aumento di concentrazione di numerosi costituenti: potassio, magnesio, AST, LDH, NSE, zinco. Riduzione nella concentrazione di alcuni costituenti: glucosio, proteine totali, piastrine, come risultato del metabolismo cellulare durante il processo di coagulazione
Emolisi	Plasma		Descritte sporadiche interferenze da fibrina in alcuni immunodosaggi (10,11). A maggior rischio in campioni raccolti da pazienti in terapia anticoagulante
Stabilità del costituente nella provetta primario	Siero	Il metabolismo cellulare risulta maggiormente attivo nel plasma (ad esempio, progressiva maggiore riduzione della concentrazione del glucosio). Le nuove tecnologie di separazione di plasma (separatore non-gel) riducono sensibilmente la concentrazione degli elementi cellulari nel surnatante (16).	
Conservabilità del campione congelato (biobanche)	Plasma	Il plasma è più stabile e, se congelato, conservabile per un tempo indefinito	
Stabilità al trasporto del campione intero	Siero/Plasma	Aumento emolisi	
Stabilità al trasporto del campione centrifugato	Siero/Plasma	I leucociti e le piastrine rimangono sopra il gel dopo centrifugazione. Movimenti delle provette possono risospendere questi elementi. Le nuove tecnologie di separazione di plasma (separatore non-gel) riducono sensibilmente la concentrazione degli elementi cellulari nel surnatante (16).	
Interferenze con il gel separatore	Plasma	Minor rischio di mal posizionamento del gel (o altro materiale) separatore (17,18).	

AST, aspartato aminotransferasi; LDH, lattato deidrogenasi; NSE, enolasi neurone-specifica.

SITUAZIONE NEI LABORATORI CLINICI EUROPEI E ITALIANI RISPETTO ALL'USO DI PLASMA E SIERO PER GLI ESAMI DI CHIMICA CLINICA

Nell'Unione Europea, la diffusione dell'uso del plasma come matrice d'elezione per la chimica clinica varia significativamente da Paese a Paese. I dati documentano che la percentuale di provette per plasma rispetto al numero totale di provette per chimica clinica utilizzate in Europa nel 2016 è del 26%. I Paesi del nord Europa (Finlandia, Svezia, Olanda) mostrano un'incidenza superiore al 50% e solamente altri tre Paesi presentano un uso di plasma superiore alla media europea (Svizzera, Danimarca e Francia). L'Italia è in nona posizione con il 18% e altri 17 Paesi hanno percentuali più basse (prossime allo zero per Grecia, Ungheria e Slovacchia) (Figura 1).

La distribuzione in Italia è abbastanza omogenea e non varia significativamente tra regioni, attestandosi attorno a un valore medio del 18%. Il Veneto, con il 48% di provette per plasma, rappresenta una virtuosa eccezione, mentre usano meno del 10% di provette per

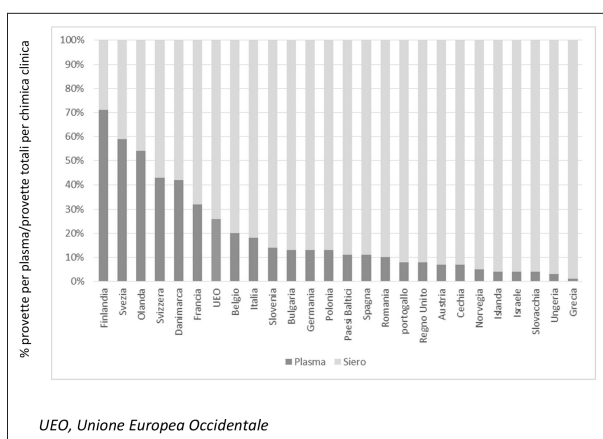


Figura 1
Uso di provette per plasma nell'Unione Europea Occidentale, anno 2016.

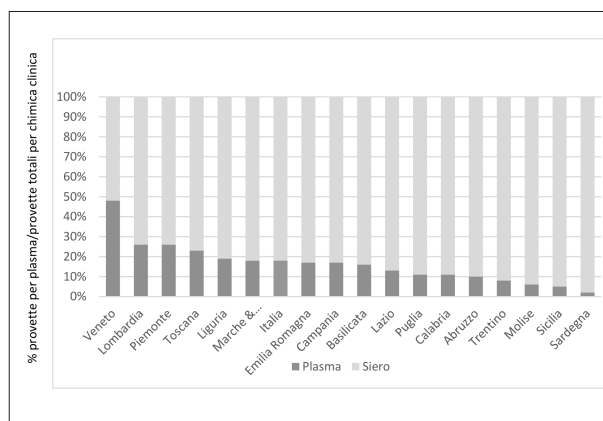


Figura 2
Uso di provette per plasma in Italia, anno 2016.

plasma il Trentino, il Molise, la Sicilia e la Sardegna (Figura 2).

Un'indagine condotta dal Gruppo di studio sulla Variabilità extra-analitica di SIBioC ha fornito dati interessanti sia sull'uso del plasma sia sulla propensione a riconsiderare la matrice più opportuna, in un processo di armonizzazione (19). Il campione, composto da 229 professionisti che hanno risposto (su una base di circa 3000 soci cui è stato inviato il questionario, per circa 900 laboratori), lavorava in laboratori per lo più pubblici (65%); il 46% dichiarava di svolgere oltre 500.000 esami all'anno, il 32% da 100.000 a 500.000, il 5% tra 100.000 e 10.000, il restante 17% sotto 10.000. Seppur con i limiti di rappresentatività, determinati dalla partecipazione volontaria, il campione ha confermato che oltre il 76% dei laboratoristi ritiene il siero la matrice ideale e chi non serve attività di urgenza utilizza quasi esclusivamente siero, prevalentemente con gel separatori. In regime di urgenza la percentuale diminuisce molto (58% di siero *versus* 42% di plasma) e con minore uso di provette con gel separatori. L'uso di matrici diverse (siero e plasma) per gli stessi esami, a seconda che essi siano richiesti in regime ordinario o urgente, è motivo di discussione e preoccupazione, soprattutto nella valutazione longitudinale dei risultati dello stesso paziente. Di notevole interesse si è rivelata però l'apertura al cambiamento. Il 30% circa degli intervistati riteneva possibile poter cambiare matrice nei tre anni successivi e ben oltre il 90% si è dichiarato disponibile a considerare il cambio di matrice, se condotta nell'ambito di progetti di armonizzazione tra laboratori limitrofi (regione/area geografica). Anche se il siero è ancora considerato la matrice migliore, quest'ultimo dato rivela che sussistono tra i medici, i biologi e i tecnici di laboratorio diffuse e fondate ragioni per riconsiderare tale radicata convinzione. I risultati della indagine sono riassunti in Figura 3.

RAZIONALE PER LA MIGRAZIONE DA SIERO A PLASMA E SINTESI DELLE ATTUALI CONOSCENZE SULL'USO DELLA MATRICE PLASMATICA IN DIVERSI CONTESTI ANALITICI

La letteratura scientifica del settore è ricca di contributi sull'importanza della corretta scelta della matrice per una appropriata determinazione dei misurandi in medicina di laboratorio e, ancor più, sui pro e contro dell'utilizzo del campione di plasma in alternativa al siero.

Tuttavia, non esistono raccomandazioni e linee guida recenti su questa tematica che, come già evidenziato, è centrale non solo per la corretta esecuzione degli esami di laboratorio tradizionali, ma anche di quelli innovativi (ad esempio, gli "omics").

I motivi che impongono, oggi, una risposta definitiva al quesito "Siero o Plasma?" sono essenzialmente i seguenti:

- all'interno del processo di armonizzazione delle attività di laboratorio e nell'ottica di miglioramento della confrontabilità dei risultati (o meglio dell'informazione

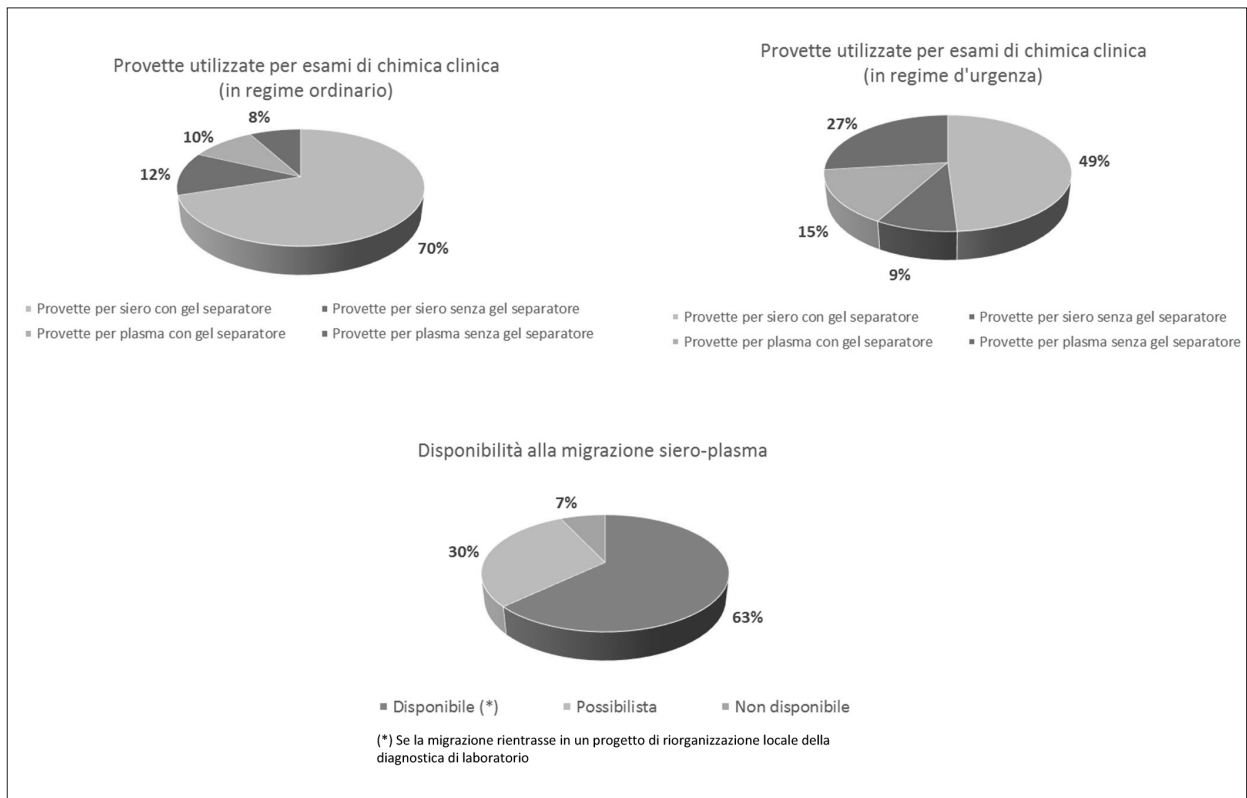


Figura 3
Esito dell'indagine sull'utilizzo di siero/plasma.

- di laboratorio), la scelta della matrice rappresenta un momento fondamentale se non addirittura il *primum movens*, visto che determina e influenza tutte le fasi successive, analitiche e post-analitiche. È evidente che la confrontabilità dell'informazione di laboratorio non si basa solo sulla standardizzazione metodologica, ma deve tenere in debita considerazione le variabili pre-analitiche (quindi anche la matrice) e post-analitiche. Armonizzare la matrice, chiarendo in modo definitivo se il plasma rappresenta la scelta migliore, è tema di grande interesse e attualità;
- anche nei processi di riorganizzazione delle attività di laboratorio che le varie Regioni e/o altre istituzioni stanno promuovendo, appare imperativo riaffermare la centralità di una corretta fase pre-analitica, e quindi, al suo interno, l'importanza della scelta e della standardizzazione della matrice del campione biologico;
 - alla luce dei fenomeni di consolidamento delle attività di urgenza e di elezione dei laboratori clinici, l'armonizzazione della matrice appare essenziale e inderogabile. La pratica corrente prevede l'uso del plasma per le attività di urgenza, mentre il siero resta il campione di scelta per l'attività in elezione. Il progressivo confluire dell'urgenza nella routine pone, oggi, la necessità di omogeneizzare la tipologia di matrice e, quindi, del campione biologico da raccomandare e utilizzare;
 - al pari della mole di letteratura e di conoscenza nell'uso del siero come matrice ematica per la diagnostica clinica, la possibilità di utilizzare il plasma trova sempre più frequenti conferme. I vantaggi legati al risparmio di tempo, al minor rischio di ostruzioni da fibrina (specie nelle automazioni), alla maggior resa e al minor rischio di emolisi sembrano elementi che sovrastano i pochi svantaggi nell'uso del plasma. Per molti metodi, gli stessi produttori dichiarano la possibilità dell'uso della matrice plasmatica, mentre in altri ambiti si stanno raccogliendo evidenze o sono argomenti di discussione. In tal senso vale la pena ricordare che:
 - i metodi per le misure di costituenti del metabolismo umano, che si basano su spettrofotometria e reazioni enzimatiche, sono già in gran parte validati anche su plasma;
 - i metodi turbidimetrici non sembrano influenzati dalla matrice plasmatica;
 - molte molecole possono essere misurate con metodi immunometrici sia in siero sia in plasma (20,21). Più critica è la stabilità di alcune delle molecole misurate (e delle possibili interazioni), non solo con il plasma, ma anche con i materiali delle provette, in particolare con i gel separatori (20);
 - cromatografia liquida e spettrometria di massa non sembrano porre particolari problemi in merito

- all'uso dell'una o dell'altra matrice;
- nell'ambito delle scienze omiche vi è ancora molto da definire in termini di matrice ideale. Alcuni studi tuttavia sembrano indicare che sia il siero sia il plasma da EDTA consentono l'analisi di biomarcatori emergenti, di miRNA e di peptidomimi. In aggiunta, in queste due matrici lo stoccaggio refrigerato previene un profilo di espressione di miRNA (spesso alterato anche in caso di prolungato intervallo di tempo tra il prelievo e l'analisi del sangue). Il plasma ottenuto con litioeparina sembra invece non essere idoneo per la determinazione di miRNA.

ACCORGIMENTI PER UNA CORRETTA GESTIONE DEL CAMBIO DI MATRICE

Nel rispetto delle buone pratiche di laboratorio e dello standard ISO 15189-2012 ["Medical Laboratories – Particular requirements for quality and competence" (22)], anche la transizione da siero a plasma richiede la messa in atto di una serie di semplici, ma importanti precauzioni. In particolare:

- verificare che i contenitori per la raccolta/separazione del plasma siano idonei per la determinazione dei diversi misurandi secondo quanto indicato dal produttore nelle indicazioni d'uso e nella documentazione a supporto;
- verificare che i metodi analitici siano idonei per la determinazione dei diversi misurandi su matrice plasmatica secondo quanto indicato dai produttori di piattaforme analitiche ("Instrumentation Company") nelle indicazioni d'uso e nella documentazione a supporto. Ad oggi, molti metodi e misure sono già stati validati in tal senso. La Tabella 2 elenca, per quattro importanti "Instrumentation Companies" e per le applicazioni in chimica clinica e immunochimica, le percentuali dei misurandi determinabili su matrice plasmatica sul numero totale dei misurandi "on board".

Qualora, per alcuni misurandi di interesse, la matrice

plasmatica non fosse certificata dai citati produttori, né vi fossero prove pubblicate che attestino la possibilità di utilizzare indifferentemente siero o plasma, l'intercambiabilità delle matrici va verificata con prove di laboratorio. Lo studio della comparabilità e la ricerca di eventuali bias possono essere eseguiti, come per altri ambiti di differenza metodologica, secondo lo standard CLSI EP09c (23). L'eventuale presenza di un bias tra le matrici può essere annullato da opportuni fattori di correzione, oppure grazie a opportune modifiche dei sistemi di comparazione e/o degli intervalli di riferimento:

- soprattutto in presenza di bias significativi, evitare l'uso contemporaneo di siero e plasma per la determinazione degli stessi misurandi. In tal senso, la convergenza sull'utilizzo del plasma come matrice d'elezione promuove la standardizzazione dei processi, sia intra-laboratorio (ad esempio, stessa matrice per routine e urgenze) sia inter-laboratorio (ad esempio, campioni afferenti allo stesso laboratorio da più sedi/istituti);
- assicurare che le modalità/condizioni di trasporto e conservazione dei campioni non siano di ostacolo all'utilizzo della matrice plasmatica (utile, in tal senso, valutare la stabilità nel tempo dei misurandi a 24 e 48 ore dal prelievo);
- valutare e gestire l'eventuale insorgenza di problematiche pre-analitiche (ad esempio, modalità e tempi di centrifugazione, resa, emolisi e così via).

PRIME PROPOSTE OPERATIVE

Gli Autori, anche in considerazione degli orientamenti emersi dalla già citata indagine di SIBioC, ritengono sia necessario intraprendere un serio percorso di armonizzazione verso l'uso del plasma quale matrice d'elezione nella routine chimico-clinica. Una prima proposta di strategia operativa (che affidiamo al giudizio e alle considerazioni dei professionisti coinvolti) potrebbe comprendere le seguenti tappe:

- diffusione e discussione del presente documento nei diversi e opportuni ambiti scientifici;
- individuazione di centri d'eccellenza interessati alla

Tabella 2

Percentuale di misurandi determinabili su matrice plasmatica sul totale dei misurandi "on board"

	Chimica clinica	Immunochimica
Abbott	92,5% (81/87)	92,5% (75/80)
Beckman Coulter	89,2% (63/74)	84,4% (54/64)
Roche	95,7% (89/93)	97,5% (79/81)
Siemens	90,0% (66/73)	98,5% (68/69)

Tratta da 47° Congresso Nazionale SIBioC – Le soluzioni tecnologiche a favore dell'adozione del plasma in routine. G. Da Rin (dati non pubblicati)

- conversione siero-plasma che, nel mettere a disposizione le proprie competenze, si prestino a fungere da apripista;
- creazione di un portale dedicato per l'agevole condivisione di informazioni, documentazione ed esperienze anche attraverso le modalità del forum e del "webinar";
 - realizzazione di almeno uno studio per la valutazione approfondita dell'impatto della migrazione dal siero al plasma sull'outcome clinico ed economico del processo diagnostico di laboratorio ("Health Economics and Outcomes Research", HEOR);
 - coinvolgimento attivo dei produttori di strumentazione e di sistemi per il prelievo, il trattamento e la conservazione dei campioni diagnostici al fine di:
 - raccogliere le informazioni indispensabili per il corretto passaggio siero-plasma;
 - valutare le diverse tecnologie a disposizione;
 - assicurare il necessario supporto tecnico-scientifico nella fase di migrazione.

SINTESI E PRIME CONCLUSIONI

La definizione e standardizzazione della matrice d'elezione per la determinazione della maggior parte dei misurandi in medicina di laboratorio è uno dei paradigmi che ben rappresentano il divario fra teoria e pratica che, non di rado, affligge la Medicina. A fronte della mole di prove fornite dalla letteratura sui vantaggi (molti) e sui limiti (pochi) relativi all'adozione del plasma nella pratica clinica, vi è un'inerzia operativa che ha finora inibito tale svolta nella maggioranza dei laboratori clinici.

Oggi, nell'era dell'ottimizzazione delle strutture e dei processi, la ben nota questione "Siero o Plasma?" si ripropone con rinnovato vigore a ragione del crescente interesse per temi di assoluta centralità quali l'appropriatezza, l'armonizzazione, la necessità di assicurare la confrontabilità dei referti e dell'informazione di laboratorio in un mondo con sempre meno confini geografici e temporali (24).

Non a caso gli standard di accreditamento di eccellenza (ISO 15189) dei laboratori clinici richiedono, fra i requisiti essenziali per la valutazione della qualità pre-analitica, la definizione del campione primario e, conseguentemente, la validazione dei metodi nella corretta matrice biologica. In tal senso la matrice plasmatica si conferma (grazie anche ai progressi compiuti nel miglioramento continuo dei metodi di separazione e analisi) quale scelta d'elezione in grado di:

- assicurare, in larghissima misura, la necessaria compatibilità con i metodi analitici in uso;
- meglio rappresentare *in vitro* lo status del paziente fonte;
- ridurre sensibilmente i tempi di risposta;
- accrescere la produttività dell'intero processo di laboratorio, sia attraverso la riduzione dei tempi di lavorazione sia grazie al più efficiente utilizzo della strumentazione (assenza di fibrina, minore emolisi, resa elevata);
- standardizzare su un'unica matrice routine e urgenze

a vantaggio della massima confrontabilità dei risultati intra-laboratorio e inter-laboratorio.

In conclusione, questo documento, lungi dall'essere un punto d'arrivo, vuole essere da stimolo per l'avvio e l'implementazione di progetti condivisi tesi a supportare e realizzare una migrazione consapevole da siero a plasma, anche attraverso la valutazione/validazione di nuove tecnologie/soluzioni e il convinto coinvolgimento dei professionisti sul terreno della vita reale. Sarà poi necessario individuare indicatori obiettivi per valutare gli outcome di questi progetti in termini d'impatto sulla qualità dei servizi di laboratorio e in un'ottica centrata sui bisogni degli utilizzatori (25). Ora, però, è tempo di dare operatività alle buone idee.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia EDRA S.p.A. per il supporto nella gestione editoriale del manoscritto.

CONFLITTO DI INTERESSI

Questo documento è stato realizzato con il contributo non condizionante di Becton Dickinson SpA Italia.

BIBLIOGRAFIA

1. Lum G, Gambino SR. A comparison of serum versus heparinized plasma for routine chemistry tests. *Am J Clin Pathol* 1974;61:108-13.
2. Ladenson JH, Tsai LMB, Michael JM, et al. Serum versus heparinized plasma for eighteen common chemistry tests. *Am J Clin Pathol* 1974;62:545-52.
3. Doumas BT, Hause LL, Simuncak DM, et al. Differences between values for plasma and serum in tests performed in the Ektachem 700 XR Analyzer, and evaluation of "plasma separator tubes (PST)". *Clin Chem* 1989;35:151-3.
4. Ebert SC, Leroy M, Darcey B. Comparison of aminoglycoside concentrations measured in plasma versus serum. *Ther Drug Monit* 1989;11:44-6.
5. Racine JF, Caya S, Delvin EE. Suitability of lithium heparinate plasma for the measurement of selected analytes on Beckman Synchron CX analyzers. *Clin Biochem* 1996;29:493-5.
6. Donnelly JG, Soldin SJ, Nealon DA, et al. Is heparinized plasma suitable for use in routine biochemistry? *Pediatr Pathol Lab Med* 1995;15:555-9.
7. Soffiati G, Giavarina D. Stat laboratory testing: integration or autonomy? *Clin Chem Lab Med* 2010;48:927-30.
8. Dolci A, Giavarina D, Pasqualetti S, et al. Total laboratory automation: Do stat tests still matter? *Clin Biochem* 2017;50:605-11.
9. Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev* 2004;25:105-20.
10. Kazmierczak SC, Sekhon H, Richards C. False-positive troponin I measured with the Abbott AxSYM attributed to fibrin interference. *Int J Cardiol* 2005;101:27-31.
11. Lippi G, Giavarina D, Gelati M, et al. Reference range of hemolysis index in serum and lithium heparin plasma measured with two analytical platforms in a population of unselected outpatients. *Clin Chim Acta* 2014;429:143-6.
12. Pasqualetti S, Szöke D, Panteghini M. Heparinate but not serum tubes are susceptible to hemolysis by pneumatic

- tube transportation. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:785-9.
13. Mohamadkhani A, Poustchi H. Repository of human blood derivative biospecimens in biobank: technical implications. *Middle East J Dig Dis* 2015;7:61-8.
 14. Ishikawa M, Maekawa K, Saito K, et al. Plasma and serum lipidomics of healthy white adults shows characteristic profiles by subjects' gender and age. *PLoS One* 2014;9:e91806.
 15. Lippi G, Salvagno GL, Danese E, et al. Inversion of lithium heparin gel tubes after centrifugation is a significant source of bias in clinical chemistry testing. *Clin Chim Acta* 2014;436:183-7.
 16. Padoan A, Zaninotto M, Piva E, et al. Quality of plasma samples and BD Vacutainer Barricor tubes: Effects of centrifugation. *Clin Chim Acta* 2018;483:271-4.
 17. Daves M, Lippi G, Cosio G, et al. An unusual case of a primary blood collection tube with floating separator gel. *J Clin Lab Anal* 2012;26:246-7.
 18. Cervellin G, Aloe R, Lippi G. A case of factitious hyponatremia and hypokalemia due to the presence of fibrin gel in serum. *Diagnosis* 2015;2:73-4.
 19. Lippi G, Giavarina D. Indagine conoscitiva su matrice biologica e gestione della fase preanalitica nei laboratori clinici. *Biochim Clin* 2017;41:142-7.
 20. Woltering EA, Hilton RS, Zolfoghary CM, et al. Validation of serum versus plasma measurements of chromogranin A levels in patients with carcinoid tumours: lack of correlation between absolute chromogranin A levels and symptom frequency. *Pancreas* 2006;33:250-4.
 21. Giavarina D, Fortunato A, Barzon E, et al. Evaluation of BD Vacutainer PST II tubes for a wide range of immunoassays. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:237-41.
 22. ISO 15189:2012 Medical laboratories: Particular requirements for quality and competence. International Organisation for Standardisation: Geneva, 2012.
 23. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Measurement procedure comparison and bias estimates using patient samples, approved guideline, 3rd ed. CLSI guideline EP09c. CLSI:Wayne, PA, 2018.
 24. Plebani M. Harmonization in laboratory medicine: more than clinical chemistry? *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1579-86.
 25. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A. Quality Indicators for the Total Testing Process. *Clin Lab Med* 2017;37:187-205.

Lo sviluppo delle reti di laboratori e la crescente capillarizzazione dei punti prelievo ha reso sempre più attuale l'esigenza del trasporto dei campioni biologici tempestivo ed affidabile.

Mentre la legislazione attuale e linee guida internazionali sono focalizzate prevalentemente alla salvaguardia della sicurezza del trasportatore e, più in generale, dell'ambiente, appare invece carente il quadro normativo, e frammentato il supporto scientifico, per la perfetta conservazione della matrice da sottoporre ad analisi.

Questo contribuisce alla disomogeneità degli atteggiamenti dei funzionari delle aziende sanitarie locali e degli ufficiali di polizia giudiziaria (prevalentemente i nuclei anti sofisticazione) che di volta in volta sono chiamati a controllare le modalità di trasporto dei materiali biologici, soprattutto per quanto riguarda tempi e temperature.

Dall'analisi di questo problema, SIBioC ha ritenuto che vi fosse l'esigenza pressante di redigere un primo documento, multi-societario, con un taglio estremamente pratico seppure fondato su robuste indicazioni della letteratura, aprendo tuttavia la strada a futuri successivi apporti della comunità scientifico-professionale sull'argomento.

La federazione italiana delle società di medicina di laboratorio (FISMeLab) è apparsa da subito come l'organizzazione più indicata per la costruzione di un tale documento condiviso.

FISMeLab nasce nel 1987, con l'apporto fondamentale di SIBioC, con l'ambizioso progetto di federare tutte le società scientifiche della medicina di laboratorio (oggi ne vanta sette).

Nel corso della sua vita ha avuto ben tre presidenti SIBioC, i professori Francesco Salvatore (1988-89), Paolo Mocarrelli (1995-99) e Mario Plebani (2007-11); l'attuale presidente è Pierangelo Clerici (AMCLI) che ne è stato a lungo segretario.

Scopo prioritario della federazione è quello di rappresentare le istanze scientifico-professionali ai vari livelli dei decisori politici, proponendo soluzioni basate sulle evidenze, e comunque mai di tipo sindacale. Scopo non secondario è quello di armonizzare i comportamenti dei professionisti nei vari ambiti della medicina di laboratorio, ove ritenuto opportuno e necessario.

Alla fine del 2017, FISMeLab ha costituito un gruppo di studio ad hoc su questa problematica che ha prodotto in breve tempo e con l'apporto di tutte le professionalità rappresentate, il documento qui presentato, con l'intento di rendere disponibile uno strumento di consultazione quotidiana per dirimere tutti i dubbi che possano sorgere sul trasporto del materiale biologico, per ciascuna branca del laboratorio (chimica clinica ed ematologia in testa per numerosità della tipologia delle indagini).

Nella parte denominata Repertorio (Tablelle 1S e 2S) sono indicate per ogni esame/misurando una o più Raccomandazioni, derivate da un accurato esame della letteratura, che indicano il corretto comportamento da tenere dal momento in cui è terminato il prelievo/campionamento/raccolta del campione a quando viene accettato nel laboratorio che esegue l'analisi.

Le fasi che precedono la spedizione e quelle che seguono l'arrivo dei campioni in laboratorio sono, invece, parte integrante dei sistemi qualità dei singoli laboratori e non sono pertanto trattati nel documento. Anche la scelta dei sistemi di trasporto, l'identificazione di chi lo effettua, i sistemi di controllo dei tempi e delle temperature sono aspetti non inclusi, lasciando così aperta ad eventuali futuri documenti, la loro trattazione.

Come accennato in premessa, infine, nessun cenno è fatto alle modalità di gestione del rischio biologico, chimico e fisico dei materiali biologici, temi ampiamente trattati in letteratura e altrettanto ampiamente considerati a partire dal Decreto Legislativo 626/94.

Cosimo Ottomano
Coordinatore del Gruppo di Lavoro FISMeLab

Raccomandazioni FISMeLab per il trasporto del materiale biologico

Martina Zaninotto¹, Bruno Brando², Anna Maria Cenci³, Filippo Crivelli⁴, Francesco Curcio⁵, Roberto Giardini⁶, Enrico Magliano⁷, Valentino Miconi³, Sabine Stioui⁸, Erminio Torresani⁹, Cosimo Ottomano¹⁰

¹Unità Operativa Complessa, Medicina di laboratorio Azienda Ospedaliera Padova, Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica - Medicina di laboratorio (SiBioC)

²Laboratorio di Ematologia e Centro Trasfusionale ASST, Ovest Milanese, Legnano (MI), Società Italiana per l'Analisi Citometrica Cellulare, Italian Society for Cytometric Cell Analysis (ISCCA)

³Società Italiana di Patologia e Medicina di laboratorio (SIPMeL)

⁴Struttura Complessa Aziendale di Anatomia Patologica ASST Valle Olona, Busto Arsizio (VA), Società Italiana di Anatomia Patologica e Citopatologia Diagnostica (SIAPEC-IAP)

⁵Dipartimento di Area Medica, Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Medicina di laboratorio, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata di Udine, Società Italiana di Patologia e Medicina Traslazionale (SIPMeT)

⁶IRCCS Istituto Auxologico, Società Italiana di Anatomia Patologica e Citopatologia Diagnostica (SIAPEC IAP)

⁷Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI)

⁸Laboratorio di Citogenetica e Genetica Medica Humanitas Research Hospital, Rozzano (MI), Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)

⁹IRCCS Istituto Auxologico Italiano Milano, Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI)

¹⁰Coordinatore del gruppo di lavoro. Direzione Medica Synlab Italia Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica-Medicina di laboratorio (SiBioC)

ABSTRACT

Italian Federation of Laboratory Medicine Societies (FISMeLab) recommendations for biological samples transportation. In recent years the transport of biological samples has become a strategic issue and a frequent practice, due to the tendency of public laboratories to move towards consistent consolidations and of private laboratories to join other, bigger or more equipped ones (hub and spoke model), to process a substantial part of the analytical repertoire. Moreover, the sampling centers have become more numerous and more widespread to improve the service to the citizens. The time and the way of remote transport of biological samples is a source of potential corruption of the matrix that can generate preanalytical errors of various kinds and severity. The lack of unequivocal national indications in Italy has prompted the Italian Federation of Laboratory Medicine Societies (FISMeLab) to set up a working group that includes representatives from the scientific societies members of the Federation, with the aim of assembling a practical recommendation on transport requirements of biological samples. In order to enable the users to consult the document quickly and effectively, the recommendation lists the single measurands from different areas of laboratory medicine and reports for each of them the ideal transportation modalities. These are based on the time elapsed from the blood collection: less or more than three hours; it is however recommended that the time from the blood collection to the transport be as short as possible.

INTRODUZIONE

La tematica del trasporto dei campioni biologici a scopo diagnostico è diventata ormai strategica dal momento in cui la loro circolazione, da evento raro (se non eccezionale), è divenuta prassi frequente (1-5).

La situazione può essere alquanto diversa in ambito pubblico rispetto a quello privato, ma la sostanza non cambia.

I laboratori pubblici tendono sempre di più a fare rete o andare verso accentramenti consistenti, quelli privati tendono sempre di più a consorziarsi o ad affidare ad altri, più attrezzati (Hub), l'esecuzione di una parte più o meno consistente del proprio repertorio analitico.

In entrambi i casi è, inoltre, sempre più diffusa la prassi di capillarizzare la presenza di centri prelievo per andare incontro al desiderio dei cittadini di non sottoporsi a grandi spostamenti per le proprie analisi di laboratorio,

Questo Documento è pubblicato congiuntamente da Biochimica Clinica, La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio e dalle riviste delle Società Scientifiche che hanno partecipato alla sua stesura.

Corrispondenza a: Cosimo Ottomano, Direzione medica Synlab, Italia. Via Martiri delle Foibe, 1 20900 Monza (MB). Tel. 03923971; E-mail: cosimo.ottomano@synlab.it

Ricevuto: 12.08.2018

Accettato: 12.08.2018

Pubblicato on-line: 20.12.2018

DOI: 10.19186/BC_2018.070

soprattutto quando questo non rappresenta evento episodico e la loro età è avanzata. Peculiare è, inoltre, il caso dei prelievi a domicilio, soprattutto quando chi effettua questo servizio non lo svolge con regolarità.

La distanza che il materiale biologico deve percorrere, un tempo confinato in ambito regionale, se non nella stessa provincia, lì dove questo è consentito dalle Autorità regolatorie, è sempre più grande andando oltre, in diversi casi, i confini nazionali.

Il tempo e le modalità di trasporto a distanza dei campioni biologici è fonte di potenziale corruzione della matrice che genera errori di varia natura e gravità.

La preoccupazione di tenere sotto controllo questa fase del processo di laboratorio è talvolta pari alla carenza di formazione sulla materia, con inevitabile sottostima dei problemi e improvvisazione delle soluzioni (nei casi di esami meno frequentemente richiesti).

Valgono due considerazioni in ambiti diversi del laboratorio. Un problema rilevante, in ambito biochimico, è che la migliore procedura di conservazione di un misurando contrasta con quella di un altro. Purtroppo accade spesso che questi misurandi appartengano ad un unico campione, cioè sono processabili sulla stessa provetta. Questo comporta potenziale spreco di risorse, soprattutto quando il misurando che necessita di particolari attenzioni è uno solo mentre quelli che possono farne a meno sono molti. Esempio è, al riguardo, il caso del glucosio la cui stabilità, in un campione non centrifugato, è non solo modesta, ma varia da soggetto a soggetto e, nel tempo, perfino nello stesso soggetto.

La difficoltà a destreggiarsi tra indicazioni diverse per una stessa procedura è ben illustrata, in ambito microbiologico, dal caso dei patogeni umani. Essi sopportano un ampio intervallo di temperature di conservazione e trasporto, ma per un breve periodo di tempo. Secondo alcuni Autori, la temperatura di cui sopra più appropriata è di 0-4 °C, mentre altri suggeriscono addirittura -20 °C. Per non dire che in casi molto rari il trasporto del campione è addirittura sconsigliato come nel caso della ricerca dell'*Entamoeba histolytica* nelle feci o di coltura di parassiti in tale materiale.

Scopo della raccomandazione

La mancanza di indicazioni univoche, a livello italiano, di come comportarsi in questo ambito, ha scaturito la decisione della Federazione Italiana delle Società della Medicina di laboratorio (FISMeLab) di costituire un gruppo di lavoro formato da rappresentanti delle diverse società scientifiche aderenti, con lo scopo di redigere una sorta di manuale di comportamento molto pratico su come far viaggiare i materiali biologici.

L'idea guida è che le raccomandazioni comprendano i singoli misurandi o i vari ambiti del laboratorio, spingendosi anche alle fasi immediatamente precedente e successiva alla loro spedizione, non invadendo il campo, tuttavia, dei sistemi qualità dei singoli laboratori.

Le raccomandazioni descritte di seguito fanno capo alle migliori evidenze di letteratura disponibili, che peraltro non sono raccolte in modo omogeneo, anzi risultano francamente disperse.

Inoltre, l'originalità del presente lavoro consiste nel fatto che privilegia gli interessi del paziente e non quelli dell'operatore sanitario, nulla togliendo alle legittime esigenze di quest'ultimo, peraltro ben tutelato dal Contratto Collettivo Nazionale di Lavoro.

Modalità di utilizzo della raccomandazione

Nella maggior parte dei casi l'utilizzatore potrà consultare una tabella dove troverà:

- il nome del misurando;
- la raccomandazione di come trattarlo nel modo più affidabile per non compromettere l'accuratezza della sua misura dalla fine del prelievo all'inizio dell'analisi, considerando i seguenti elementi:
 - la temperatura di trasporto;
 - l'eventuale necessità di separare il plasma/siero dalla parte corpuscolata;
 - l'eventuale necessità di congelare il campione (previa centrifugazione della relativa provetta) e a quale distanza dal prelievo;

Questa raccomandazione si divide in tante parti speciali per quante sono le aree del laboratorio.

Il tempo di trasporto è stato considerato una criticità. Si raccomanda di suddividerlo in due segmenti: al di sotto di tre ore e oltre le tre ore dalla fine del prelievo. Si raccomanda che il tempo del prelievo sia compreso tra le ore 7.30 e le 9.30 e che l'attesa del mezzo di trasporto sia contenuta al massimo.

Nei casi in cui sia previsto che il lasso di tempo dalla fine del prelievo all'arrivo in laboratorio superi le tre ore, occorre centrifugare le provette di riferimento lì dove previsto da questa raccomandazione.

Il mancato rispetto del corretto contenimento dei tempi di prelievo rende problematico l'uso dei valori di riferimento di ciascun misurando, soprattutto in funzione del proprio ritmo circadiano. Tale rispetto non vale solo per i pazienti ambulatoriali, ma anche per quelli ricoverati, per i quali questa pratica si inserisce all'interno delle incombenze del personale di cura della persona.

Dopo la centrifugazione del campione potrà essere necessario separare il siero/plasma per assicurarne l'integrità fino al momento dell'analisi. Talvolta alla separazione potrà essere necessario far seguire il congelamento. Vi sono casi in cui la temperatura di conservazione del campione è così bassa (-70 °C) da far considerare il suo trasporto problematico.

La provetta ideale, in caso di centrifugazione fuori dal laboratorio (ad esempio nello stesso centro prelievi), è quella con gel separatore. Eliminare il contatto tra fase liquida e fase corpuscolata di un campione di sangue elimina, infatti, alla radice diverse fonti d'inesattezza. Sul banco degli imputati ci sono misurandi come il potassio o la lattico deidrogenasi. Le provette con gel separatore, quando il loro contenuto è destinato ad alcuni tipi di analisi, non dovrebbero essere congelate (-20 °C o meno) perché questa pratica può rivelarsi fonte di inesattezza analitica (ad esempio alcuni farmaci). In questi casi è opportuno far seguire, alla centrifugazione della provetta, la separazione del siero/plasma e quindi il successivo congelamento.

Vi sono matrici, come quella urinaria, che esigono l'invio al laboratorio nel minor tempo possibile affinché l'esame sia eseguito nel minor tempo possibile (due ore o meno). In alternativa è necessario assicurare l'immediata refrigerazione del campione e la realizzazione della catena del freddo fino al momento dell'analisi. Questa pratica non è esente da criticità inficiando la valutazione di alcuni elementi del sedimento urinario (ad esempio alcuni cristalli). L'impiego di provette per l'esame delle urine contenenti conservanti esclude la necessità di refrigerare i campioni. I limiti di tempo consentiti per una corretta valutazione, in tale caso, sono propri di ogni conservante e devono essere indicati dal produttore.

Infine, nella parte di documento dedicata ad esami genetici, è riportata una temperatura di trasporto, ritenuta non plausibile in altri ambiti, tra +10 e 30 °C. Da un punto di vista pratico si può concludere che le modalità di trasporto devono soddisfare i limiti più restrittivi, quando si allude alla temperatura ambiente, di +20±5 °C. Se invece il trasporto è unicamente di materiale destinato ad esami genetici, nulla osta al loro trasporto a temperatura tra +10 e 30 °C.

CONSIDERAZIONI GENERALI SUL TRASPORTO DEI CAMPIONI

Emocitometria

Le indicazioni di letteratura sulle regole di conservazione e trasporto del sangue intero ad oggi non sono concordanti. Si raccomanda fortemente di non congelare il prelievo, né intenzionalmente né, soprattutto, accidentalmente per non causare l'emolisi degli elementi corpuscolati (6-10).

Il tempo di trasporto è critico per gli elementi corpuscolati del sangue (leucociti, eritrociti, piastrine); il loro mantenimento in condizioni ottimali è limitato a quattro-sei ore dal prelievo. Oltre questo termine inizia la corruzione della matrice con alterazioni dei leucociti (picnosi dei nuclei plurilobati, frammentazioni, vacuolizzazione del citoplasma dei monociti, fusioni dei granuli) e degli eritrociti (formazione di acantociti, aumento del volume globulare e diminuzione della concentrazione corpuscolare di emoglobina). Questa evenienza provoca aggravati di lavoro per rigetti strumentali e/o allarmi morfologici dovuti alla difficoltà delle diverse tecnologie di classificare correttamente le sottopopolazioni leucocitarie e può essere causa di conteggi non accurati (frammentazione degli eritrociti e clasmatosi da citolisi che potrebbero interferire nei conteggi piastrinici). L'incidenza e l'entità di questi errori, nel conteggio e nel riconoscimento delle cellule, possono essere legate alla filosofia analitica utilizzata e diverse in funzione delle varie tecnologie impiegate.

L'eventuale esecuzione dello striscio, prima della conta differenziale sui moderni emocitometri, costituisce fonte di aggravio dei carichi di lavoro costringendo ad eseguirlo su tutti i campioni e non solo su quelli per i quali risulti necessario. Tuttavia, nel caso in cui i tempi di trasporto eccedano le sei ore, lo striscio è indispensabile

e se, nonostante questa precauzione, si osservano effetti da invecchiamento del campione, essi devono essere riconosciuti ed eventualmente riportati nel referto.

Il termine di quattro-sei ore senza refrigerazione costituisce il tempo limite per il conteggio degli eritroblasti circolanti; se il tempo necessario per il trasporto eccede tale limite, il campione va refrigerato a +4-8 °C. I campioni nei quali sono potenzialmente presenti crioglobuline, e delle quali è richiesta la ricerca, devono essere mantenuti a +37 °C fino al momento dell'analisi.

Infine, in casi particolari come la ricerca del parassita malarico su goccia spessa, vale la stessa regola dell'emocromo: l'allestimento della stessa deve avvenire appena possibile dopo il prelievo. In alternativa, se i tempi di trasporto sono contenuti, si deve valutare la possibilità di invio dell'emocromo in toto, con il vantaggio di avere preparati più standardizzati e usufruire dei messaggi di allarme specifico che alcune tecnologie analitiche propongono.

Coagulazione

Le condizioni di conservazione e trasporto del sangue destinato a questo tipo di analisi sono peculiari e vanno rispettate fedelmente per ottenere risultati esatti (11-13). Tuttavia, per questo settore sono presenti luoghi comuni che devono essere superati. Il caso più emblematico riguarda il tempo di protrombina, o meglio la sua espressione come ratio o INR (nel caso di terapia anticoagulante con dicumarolici). La attendibilità di questo esame, infatti, senza refrigerazione del campione ma conservato a temperatura di +18-24 °C, si spinge fino a 24 ore dal prelievo.

Medicina trasfusionale

In questo ambito valgono, per gli esami di laboratorio, le stesse regole utilizzate per i pazienti che afferiscono ai servizi di medicina di laboratorio (14-19). Per indagini invece peculiari, valgono le istruzioni di questa guida, più avanti riportate.

Immunofenotipizzazione in citofluorimetria a flusso

I campioni di sangue periferico o agoaspirato midollare in EDTA, eparina o citrato destinati ad analisi immunofenotipiche in citometria a flusso possono essere mantenuti a temperatura ambiente e conservati per 12 ore (emorragia fetto-materna), 24 ore (Basophil Activation Test-BAT) e fino a 48 ore (Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein-VASP e tutti i quesiti di immunopatologia e oncematologia) (20-29).

Gli agoaspirati o scraping linfonodali in soluzione fisiologica, gli aspirati cavitari e i broncolavaggi alveolari devono essere prudenzialmente posti a +4-8° C, specie se non è possibile il conferimento immediato al laboratorio.

L'analisi fenotipica del liquido cefalo-rachidiano

richiede l'immediato processamento del campione, a causa dell'estrema delicatezza delle componenti cellulari presenti o in alternativa la conservazione nei tubi Transfix™.

Citologia e istologia patologica

Questo settore della medicina di laboratorio vanta regole di conservazione e trasporto ormai consolidate che sono il fondamento di questo ambito della raccomandazione (30-35).

Analizzando alcune criticità, si sottolinea come i materiali freschi non fissati, devono essere recapitati al laboratorio tassativamente entro un'ora dal loro prelievo. In ambito citologico è raccomandato che il materiale strisciato o apposto sui vetrini sia completamente essiccato prima del trasporto. Grande cura deve inoltre essere posta nell'evitarne la rottura o danneggiamento. I contenitori del materiale inviato nei liquidi di fissaggio devono essere chiusi con grande cura, precauzione indispensabile in qualunque caso, pena l'impossibilità di ogni prosieguo analitico.

I campioni di tessuto per l'immunoistochimica devono essere inviati immediatamente in laboratorio perché è utile/necessario procedere alla loro fissazione solo dopo le procedure preanalitiche proprie di tale diagnostica.

Batteriologia

In questo ambito, riguardo agli effetti della temperatura sulla corretta conservazione dei campioni durante il trasporto, va considerato il pericolo di eccesso di crescita della flora saprofitica rispetto a quella patogena, soprattutto per tamponi effettuati sulla cute, la bocca, e l'apparato digerente in generale. In definitiva, da una errata conservazione/trasporto del campione può derivare maggiore difficoltà ad isolare i patogeni presenti al suo interno (36).

Biologia molecolare

Scopo delle corrette procedure di conservazione e trasporto, in questo settore, è quello di minimizzare il rischio di perdita o contaminazione degli acidi nucleici che si intende esaminare. Nel caso di un loro degrado, ad esempio, saranno inevitabili errori di quantificazione e/o recupero.

Indagini molecolari e citogenetiche (sangue periferico e midollare)

I campioni raccolti in acido etilen-diammino-tetraacetico (EDTA) o in destrosio citrato acido (ACD) non devono mai essere congelati per evitare l'emolisi. La fuoriuscita dell'eme dai globuli rossi, che ne conseguirebbe, è un potente inibitore della "Polymerase Chain Reaction". L'eparina ha un effetto analogo all'eme e, quindi, non può essere utilizzata come anticoagulante per tali indagini.

In caso di lunghi trasporti a distanza di campioni da sottoporre a indagini sull'RNA, è opportuno utilizzare

additivi particolari, ormai disponibili sul mercato.

Per le indagini citogenetiche, in particolare, i campioni devono essere raccolti in provette contenenti litio eparina.

Miscellanea

Campioni raccolti su carta da filtro

Quando si utilizza la carta da filtro per raccogliere campioni destinati all'analisi del DNA, occorre assicurare un tasso di umidità utile a rallentare il suo essiccamento, evitando anche contaminazioni che ne comprometterebbero l'integrità.

DNA e RNA estratto

I campioni di DNA purificato dovrebbero essere conservati e trasportati a temperature al di sotto di quella di congelamento dell'acqua, per minimizzare l'attività degradante delle desossiribonucleasi. A temperature al di sotto dei -20 °C i campioni possono essere conservati fino a sette anni.

I campioni di RNA, a prescindere dal tempo di conservazione e trasporto, devono essere conservati a -70 °C o a temperature anche inferiori, perché le ribonucleasi continuano a degradarli anche a temperature <-20 °C. L'RNA purificato è ancora più delicato e si conserva meglio se la precipitazione avviene in etanolo e la temperatura di conservazione è <-70 °C. In entrambi i casi, il trasporto di campioni destinati ad analisi dell'RNA appare problematico perciò deve avvenire rigorosamente secondo le modalità previste dal laboratorio specializzato ricevente.

TRASPORTO DEI CAMPIONI PER ANALISI BIOCHIMICHE ED EMATOLOGICHE

(I) Le indicazioni riportate di seguito si riferiscono a campioni il cui trasporto debba essere effettuato oltre tre ore dalla fine del prelievo.

Preparazione dei campioni per il trasporto (1-5)

Tutti i campioni di siero/plasma devono essere centrifugati, prima della spedizione, a 4500 rpm per 10 minuti, dopo il completamento della fase di coagulazione ematica con formazione del coagulo (circa 20-30 minuti dal prelievo) e comunque entro 45 minuti dal prelievo.

Nei pazienti in terapia anticoagulante orale deve essere verificata, mediante ispezione visiva, la adeguata retrazione del coagulo (più lenta).

Al termine della centrifugazione procedere come di seguito indicato:

- provette di siero con gel separatore: verificare che il gel si sia posizionato tra la parte corpuscolata (rossa in basso) ed il siero e riporre le provette nel corrispondente stativo di trasporto; nel caso il gel non si sia posizionato in modo corretto la provetta deve essere nuovamente centrifugata;
- campioni di plasma o di siero da congelare: il pla-

sma/siero surnatante deve essere prelevato (con una pipetta Pasteur) e trasferito in provette per aliquota di volume prestabilito. Le provette devono essere tappate, etichettate con l'etichetta corrispondente all'esame da congelare e, infine, congelate. I campioni devono essere mantenuti congelati fino all'esecuzione dell'analisi. I campioni di urine da congelare devono essere travasati in provette per urina già identificate con l'etichetta corrispondente all'esame specifico e, successivamente, congelati.

Precauzioni

- Congelare solo plasma o siero, NON congelare campioni di sangue intero, ad eccezione di alcuni misurandi (vedi [Tabella 1S](#));
- non congelare più volte un campione biologico
- separare e congelare i campioni di plasma (in citrato di sodio) per le misure di coagulazione speciale (fattori della coagulazione, per studio dei marcatori di trombofilia) e per la determinazione dei misurandi indicati nella [Tabella 1S](#);
- non centrifugare o congelare, bensì mantenere a temperatura ambiente, i campioni per:
 - esame emocromocitometrico, gruppo sanguigno, esame di Coombs, tipizzazione linfocitaria, resistenze osmotiche, emoglobina glicata, ricerca emoglobine patologiche ([Tabella 1S](#));
 - tempo di protrombina, tempo di tromboplastina parziale attivata, fibrinogeno, D-dimero, anti-trombina. ([Tabella 1S](#));
- trasportare i campioni in posizione verticale, con il tappo in alto negli appositi porta provette.

Se non è richiesto il congelamento, i campioni devono essere trasportati ad una temperatura compresa tra +15 e +25 °C per le misure su siero e plasma dopo opportuna centrifugazione. La fase di centrifugazione è obbligatoria.

In attesa del trasporto presso i laboratori Hub/punti prelievo remoti, conservare:

- a temperatura +2-8 °C (all'interno di armadi refrigerati/frigoriferi), al riparo dalla luce solare diretta e da fonti di calore dirette, i campioni centrifugati e non soggetti a congelamento. Inviare presso i laboratori Hub entro la giornata del prelievo;
- in frigorifero (a +4-8 °C) i campioni microbiologici
- ad almeno -20 °C le aliquote di siero e plasma per misurandi instabili ([Tabelle 1S e 2S](#)).

Imballaggio e trasporto dei campioni

Devono essere previste differenti tipologie di situazioni/campione:

- +15-25 °C;
- almeno -20 °C;
- temperatura ambiente per campioni da trasportare in contenitore termico a +37±1 °C (ad esempio crioglobuline).

Verifiche da eseguire prima del trasporto dei campioni

Al termine dell'attività di prelievo e prima della partenza occorre verificare che:

- non ci siano campioni sulle postazioni di lavoro dell'area prelievi;
- non ci siano campioni all'interno dei frigoriferi;
- non ci siano campioni privi di etichette;
- eventuali pazienti accettati in ritardo siano correttamente trattati e i campioni aggiunti ai contenitori di trasporto;
- sia correttamente segnalata l'eventuale mancata consegna di campioni di urina da parte dei pazienti;
- tutte le provette siano chiuse correttamente;
- tutti i contenitori siano chiusi correttamente.

Misurandi per i quali le urine devono viaggiare al buio

- coproporfirine;
- porfirine totali;
- uroporfirine.

TRASPORTO DEI CAMPIONI PER ANALISI BIOCHIMICHE ED EMATOLOGICHE

(II) Le indicazioni riportate di seguito si riferiscono a campioni il cui trasporto venga effettuato entro tre ore dalla fine del tempo di prelievo.

Qualora il centro prelievi non disponga di centrifuga, e di conseguenza i campioni biologici non possano essere centrifugati prima del trasporto, dovranno essere adottate modalità operative che garantiscano trasporti a temperature e tempi definiti e monitorati per garantire la stabilità del campione, relativamente agli analiti da misurare.

Sulla base di dati presenti in letteratura, si possono suggerire le seguenti modalità operative.

Trattamento dei campioni

Dopo il prelievo ed in attesa del trasporto, tutti i campioni di siero/plasma/urine sui quali andranno misurati analiti stabili in condizioni refrigerate ([Tabella 1S](#)) dovranno essere mantenuti in frigorifero (+2-8 °C), collocati su appositi porta provette in modo che siano mantenuti in posizione verticale.

Preparazione dei campioni per il trasporto

Il trasporto deve essere effettuato utilizzando gli idonei contenitori terziari coibentati, e i contenitori secondari previsti dalla normativa vigente.

Le condizioni di temperatura idonee al trasporto (+15-25 °C) potranno essere ottenute, per esempio, mediante l'utilizzo di piastre eutetiche con caratteristiche adeguate, che devono essere mantenute, prima del trasporto, nelle condizioni refrigerate previste dal produttore. In tal caso il numero delle piastre

eutettiche per ogni contenitore terziario (considerando che all'interno possono essere collocati sino a due contenitori secondari) è pari a tre piastre di dimensioni idonee.

I campioni, al momento della partenza del trasporto, andranno trasferiti dal frigorifero dove sono stati collocati in attesa, al contenitore secondario che a sua volta andrà inserito nel contenitore terziario opportunamente preparato. Prima della chiusura del contenitore, dovrà essere collocata in posizione adatta (non in contatto con le piastre eutettiche) una sonda che registri in continuo le condizioni di trasporto relativamente alla temperatura e al tempo (dalla partenza dal centro prelievi fino all'arrivo al laboratorio di destinazione). Per ogni contenitore trasportato dovranno essere registrate le seguenti informazioni minime:

- centro prelievi;
- operatore responsabile;
- targa del mezzo;
- temperatura e tempo del trasporto.

Al momento dell'arrivo, il personale addetto al ricevimento prenderà in carico il contenitore e verificherà o attraverso sistemi manuali di lettura della sonda o tramite collegamento con sito web specifico (qualora il mezzo di trasporto sia dotato di trasmissione in radiofrequenza) le condizioni di trasporto. In generale sono considerati idonei i trasporti con tempi di percorrenza medi:

- < 2 ore e temperature comprese tra +15 e 25 °C;
- < 180 minuti e temperature comprese tra +10 e 30 °C.

Qualora si registrino condizioni non conformi (tempo >3 ore indipendentemente dalle condizioni di temperatura; temperatura <10 o >30 °C indipendentemente dal tempo) i campioni appartenenti a quel trasporto andranno segregati e i responsabili del laboratorio, in relazione agli specifici esami richiesti, valuteranno l'opportunità o meno di inserirli nel processo analitico. Dovrà essere di conseguenza approntata una procedura per la gestione delle non conformità ed un sistema di indicatori della qualità del trasporto (Tabella 1S).

TRASPORTO DEI CAMPIONI PER ANALISI ISTOLOGICHE E CITOLOGICHE

Generalità

Per fornire una diagnosi anatomopatologica (sia istopatologica che citologica) adeguata e completa, il tessuto o le cellule in esame devono essere conservati in modo ottimale. Tuttavia, dal momento in cui il campione è esciso dal paziente sino al momento in cui è adeguatamente trattato per poterne ottenere preparati istologici o citologici, sia l'architettura del tessuto (istologia), che le caratteristiche morfologiche (citologia) e biologiche (acidi nucleici e proteine) delle cellule che lo compongono, possono andare incontro a processi di degradazione e di alterazione. Questo processo degradativo deve essere adeguatamente controllato perché può limitare o addirittura impedire la diagnosi. Storicamente sono state messe a disposizione degli

esperti metodiche di fissazione o congelamento che si ripromettono di ovviare al degrado del campione, mentre negli ultimi anni si è visto che anche la tempestività della pratica di queste metodiche gioca un ruolo cruciale nella corretta conservazione del campione.

La conservazione dei campioni citologici, biotipici e chirurgici diventa quindi prioritaria al fine di garantire una diagnosi corretta e completa, ancor più in questi ultimi anni ove situazioni di criticità sempre più frequenti (distanza tra luogo di prelievo e luogo di lavorazione dei campioni, difficoltà di trasporti tempestivi) possono mettere in gioco l'efficacia. Si è visto quindi che occorre garantire anche una tracciabilità del campione dal momento del prelievo e durante tutto il ciclo lavorativo.

I punti critici di questo processo di conservazione essenzialmente riguardano quindi:

- raccolta e trasporto del campione;
- tracciabilità del campione per i prelievi per esame istologico e per esame citologico.

Prelievi per esame istopatologico o istologico

L'esame istologico è volto alla definizione della patologia dei tessuti a scopo di diagnosi e di cura: per fornire una diagnosi adeguata occorre che il tessuto resecato (frammenti di tessuti - biopsie - o organi o loro parti asportati mediante intervento chirurgico - resezione) sia trasportato e conservato in modo adeguato.

Prelievi per consulenza intraoperatoria

La consulenza intraoperatoria è volta a definire la natura di un tessuto patologico, l'estensione di una lesione, la stadiazione di un tumore, l'adeguatezza di un'exeresi durante un intervento chirurgico. Il tessuto da esaminare deve essere inviato al laboratorio di lavorazione "fresco" ossia non immerso in liquido fissativo e nel più breve tempo possibile.

Prelievi per esame citologico

L'esame citologico è volto alla definizione della natura delle cellule prelevate a scopo di diagnosi e cura: le cellule da esaminare possono essere esfoliate da liquido biologico (urine, versamenti), ago-aspirate con ago sottile o asportate per abrasione dai tessuti. L'invio delle cellule o dei vetrini su cui le cellule sono strisciate o apposte deve avvenire con metodiche che ne garantiscano la conservazione adeguata (in fissativo o a secco).

Altri esami

Esami ultrastrutturali, immunoistochimici, molecolari e di citometria a flusso sono applicati sui campioni sopra descritti.

Corretta raccolta, conservazione e trasporto di campioni di cellule e tessuti per diagnosi anatomopatologica del materiale

Le procedure per la corretta conservazione del materiale iniziano al momento dell'escissione dei

campioni dall'organismo umano. Le modalità di raccolta e il trasporto di campioni alla struttura operativa di anatomia patologica sono fondamentali per garantire la stabilità delle componenti strutturali e biologiche del tessuto asportato. Come indicato da numerosi studi, il tempo di ischemia, le modalità di conservazione durante la raccolta e il trasporto possono deteriorare irrimediabilmente le caratteristiche molecolari del tessuto.

Il tempo d'intervento chirurgico noto come tempo di ischemia calda può influire sulla preservazione dell'integrità di molecole e sul profilo metabolico attraverso processi di acidosi e di degradazione enzimatica. Le linee-guida dell'Association of Clinical Oncologist (ASCO) e del College of American Pathologists (CAP) indicano la necessità di monitorare il tempo d'intervento per una migliore conservazione di antigeni tissutali. Linee-guida sulla qualità in anatomia patologica raccomandano di inserire nella richiesta per esame istologico del campione l'orario di somministrazione dell'anestesia, di legatura dei vasi maggiori, di rimozione del pezzo chirurgico dal paziente. Analogamente è raccomandato indicare l'orario di effettuazione di prelievi biotici.

Il tempo che intercorre tra l'escissione e la fissazione del tessuto è indicato come "tempo di ischemia fredda" e viene segnalato per gli effetti deleteri sulla preservazione di antigeni ed acidi nucleici. Le linee-guida americane del CAP/NSH (National Society of Hystotechnology) elencano il tempo di ischemia fredda come campo obbligatorio nella lista di controllo della richiesta di esame istologico, così come le linee-guida ASCO/CAP per l'esecuzione di analisi immunoistochimiche a scopo predittivo nel carcinoma della mammella. Linee-guida europee per indagini molecolari su tessuti sottolineano l'importanza del tempo di ischemia fredda sull'esito dell'analisi.

In base a questi presupposti, per la conservazione ed il trasporto dei campioni sulla richiesta di esame istopatologico devono essere riportati obbligatoriamente, tra le altre indicazioni:

- tempo di intervento dall'incisione cutanea all'escissione chirurgica (ora inizio/ora fine intervento);
- orario di inserimento del campione tissutale nel mezzo di conservazione/trasporto.

La maggior parte dei campioni inviati al trasporto per esami istocitopatologici sono irriproducibili e, pertanto, è necessario attivare tutte le procedure a tutela del paziente, che permettano il processamento del tessuto e la successiva diagnosi.

Ad esclusione dei prelievi che vengono inviati per consulenza intraoperatoria e di quelli per esame citologico, per la raccolta (e come mezzo di trasporto) di tessuti derivati da interventi chirurgici e biopsie nelle sale operatorie e negli ambulatori di prelievo biotico (endoscopico, radiologico, ginecologico) viene di norma usata la formalina, nome della soluzione acquosa della formaldeide o aldeide formica, con cui il composto viene commercializzato.

La formalina è il fissativo per eccellenza dei tessuti prelevati per diagnosi anatomopatologica, poiché mantiene inalterata la morfologia cellulare e l'architettura del tessuto. Inoltre la maggior parte degli anticorpi in commercio per indagini immunocitochimiche su tessuto viene prodotta per riconoscere siti antigenici la cui conformazione è modificata dalla fissazione in formalina. Linee-guida nazionali e internazionali raccomandano l'uso di formalina tamponata sia per esami istologici sia di immunocitochimica che molecolari (mutazioni geniche). A oggi non è ancora disponibile una valida alternativa alla formaldeide come fissativo dei tessuti, risultandone indispensabile l'utilizzo e ferma restando l'applicabilità obbligatoria delle procedure preventive a tutela della salute dei soggetti esposti.

La formaldeide in anatomia patologica è usata come formalina neutra tamponata per prevenirne l'acidificazione dovuta alla tendenza a essere ossidata ad acido formico. La soluzione tamponata aumenta la formazione di formalina monomera (glicole di metilene) come reagente di fissazione, che permette una penetrazione nei tessuti di circa 1 mm/ora e che produce una lenta fissazione, dovuta a un legame covalente dei gruppi carbossilici della formalina con proteine, glicoproteine, acidi nucleici e altre molecole. Tuttavia, l'alta solubilità in acqua della formalina determina un alto assorbimento da parte del muco del tratto respiratorio e delle prime vie aeree, specie naso e seni nasali. Evidenze scientifiche sufficienti hanno definito una presunta azione come cancerogeno del distretto nasofaringeo, dei seni paranasali e, in modo controverso, delle leucemie mieloidi.

Con regolamento UE n 895/2014 è stato precisato che la formaldeide risponde ai criteri di classificazione come sostanza cancerogena (categoria 1B). La nuova classificazione, operativa dal 1.04.2015, comporta la necessità di considerare il rischio cancerogeno ai fini della gestione della salute e sicurezza anche con riferimento all'esposizione di formaldeide e comporta l'applicabilità anche per le lavorazioni che implicano l'utilizzo della formaldeide del decreto legislativo 81 del 09.04.2008. Tra queste lavorazioni sono state evidenziate, in alcuni piani regionali di prevenzione e promozione della salute, le esposizioni ambientali in sale operatorie e ambulatori durante la fase di riempimento dei contenitori per campioni biologici con formalina ed in laboratori di anatomia patologica durante le diverse fasi di manipolazione del tessuto.

Al momento attuale non esistono normative istituzionali specifiche, a livello nazionale, sulle modalità di raccolta e sul trasporto di tessuto e di cellule dall'ambiente di prelievo al laboratorio di anatomia patologica. Nel "Manuale per la sicurezza in sala operatoria: raccomandazioni e check-list del Ministero della Salute si raccomanda che le singole direzioni aziendali elaborino una procedura scritta per la corretta modalità di trasporto intra- ed extra-ospedaliero del materiale biologico dalla sala operatoria al servizio di anatomia patologica, indicando la responsabilità e la

tracciabilità del processo.

Si indicano di seguito le modalità consigliate per la raccolta, la conservazione ed il trasporto di campioni bioptici e chirurgici:

- a fresco: modalità obbligatoria per le consulenze intraoperatorie; per altri casi consigliata solo se le condizioni logistiche ed organizzative consentono un trasporto immediato dalla sede di prelievo al laboratorio di anatomia patologica;
- sotto vuoto a +4-8 °C: l'uso del sottovuoto in sala operatoria permette l'eliminazione della formalina dall'ambiente. Il metodo sottovuoto può essere utilizzato per l'invio e il trasporto per qualsiasi campione di dimensioni uguali o maggiori a circa 1 cm. La conservazione dei campioni freschi sottovuoto si basa sul principio della rimozione di ossigeno che limita la crescita della flora aerobica e permette la conservazione per un tempo sei volte superiore a quello della conservazione non sottovuoto. La procedura prevede che il campione asportato sia immediatamente sottoposto al sottovuoto con strumento dedicato e conservato a +4-8 °C durante il trasporto. In letteratura è riportato che, con tale procedura, è possibile conservare il tessuto in modo ottimale sino a 24 ore; un tempo di conservazione in sottovuoto di 48 ore a +4-8 °C garantisce ancora una buona vitalità delle cellule con conservazione delle caratteristiche istologiche e biologiche del tessuto. Tempi più lunghi non sono raccomandati;
- immersione in formalina: procedura raccomandata per le piccole biopsie. Esistono in commercio diversi sistemi che tendono a limitare la dispersione dei vapori di formalina durante l'immissione del campione nel liquido fissativo e nell'estrazione del campione stesso per il processamento (sostanze barriera unite alla formalina in contenitore precaricato; contenitore a doppio scomparto con possibilità di riversare la formalina presente in uno scomparto, nell'altro scomparto ove è stato posato il campione). Per i campioni di dimensioni maggiori occorre procedere, in assenza di apparecchiature di messa in sottovuoto, sotto cappa aspirata. Le linee-guida del Consiglio Superiore della Sanità del 2015 sottolineano la necessità di raggiungere l'impiego esclusivo di procedure alternative all'esposizione alla formalina, validate scientificamente, entro un periodo di tempo

non superiore a tre anni.

Le procedure di trasporto dei campioni raccolti e conservati come sopra esposto devono garantire la tracciabilità del campione (tempo di trasporto) e la sua adeguata conservazione. Il trasporto del campione tissutale sottovuoto deve garantire il mantenimento della temperatura a +4-8 °C (Tabella 1).

Per il trasporto di materiale biologico occorre applicare le normative esistenti sulla sicurezza.

TRASPORTO DEI CAMPIONI PER ANALISI MICROBIOLOGICHE

Le indagini di microbiologia clinica sono finalizzate alla definizione dello stato di malattia o di salute attraverso l'individuazione e la caratterizzazione di batteri, funghi, parassiti e virus quali possibili agenti patogeni ed alla ricerca e quantificazione degli specifici anticorpi.

Mentre le indagini sierologiche avvengono prevalentemente su campioni di siero o plasma, le indagini dirette, che possono essere di tipo colturale convenzionale, o basate su metodi immunologici (agglutinazione, immunocromatografia, ecc.) vengono condotte su un'ampia varietà di materiali biologici. Sugli stessi possono essere altresì condotte indagini mirate alla ricerca e quantificazione di specifiche catene di acidi nucleici.

Per quanto riguarda il trasporto dei campioni dal punto di prelievo al laboratorio di microbiologia, vanno fatte alcune considerazioni rispetto al tipo di patologia da indagare ed al relativo quesito diagnostico, al tipo di indagine da eseguire, al tipo di materiale e relativa sede anatomica di provenienza tenendo comunque presente che le variabili da gestire riguardano:

- tempo;
- temperatura;
- modalità e sistemi di trasporto.

Rispetto alla variabile tempo va inteso, in qualunque caso, che i campioni, quale che sia la loro tipologia ed origine, debbano pervenire al laboratorio nel più breve tempo possibile.

Relativamente alle indagini sierologiche ed alle indagini genetiche rispetto alla variabile tempo ed alle altre variabili, valgono le indicazioni previste per tutte le altre indagini dello stesso tipo, ed eseguite sullo stesso

Tabella 1

Modalità di trasporto e processazione per esami istologici e citologici.

Tipo di esame	Modalità di trasporto	Conservazione e processazione
Esame intraoperatorio	A fresco	Immediato
Esame citologico	Fissativo/A secco	Entro 24 ore
Biopsia	Formalina	Entro 48 ore
Pezzo operatorio	A fresco Sottovuoto a +4-8 °C Formalina	Immediato Entro 24 ore Entro 24-48 ore

tipo di materiale, adottate nell'ambito della biochimica (ad esempio esami per malattie trasmissibili, ormoni, anticorpi vari) e nell'ambito della genetica umana (materiali destinati alla ricerca di specifici acidi nucleici).

Per quanto riguarda le indagini relative alla ricerca di batteri e miceti, le misure da adottare riguardano la necessità di conservare le caratteristiche di vitalità dei microorganismi da ricercare in funzione del fatto che il materiale derivi da distretti corporei normalmente sterili o da distretti normalmente colonizzati.

Nel primo caso andrà garantita la vitalità del microorganismo salvaguardando il campione da contaminazioni esterne (vedi liquido cefalo-rachidiano, emocolture, pus, liquidi) ed in alcuni casi evitando la moltiplicazione batterica ai fini della interpretazione del risultato (vedi urinocolture) mentre nel secondo caso andrà ricercata una batteriostasi che impedisca la crescita dei colonizzanti, pur mantenendo la vitalità dell'eventuale patogeno presente (vedi tampone faringeo, feci e altri).

Le modalità per ottenere l'effetto ricercato possono essere diverse e vanno dall'impegno di vari intervalli di temperatura all'utilizzo di conservanti batteriostatici (ad esempio acido borico) o di specifici *medium* di trasporto spesso utilizzati con tampone.

Tempo e temperatura

I campioni biologici devono pervenire al laboratorio il più rapidamente possibile per essere processati entro le due ore dal prelievo e comunque mantenuti in un intervallo di temperatura di +2-8 °C.

Il tempo del trasporto ed una temperatura inadeguata potrebbero infatti ridurre la vitalità di molti microorganismi (ad esempio *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, e altri) o favorire la crescita di contaminanti o degli stessi patogeni modificandone la carica originale ed alterare l'interpretazione dell'esame.

In molti casi, ove sia possibile, il campione può essere prelevato anche con tamponi ed inserito in specifici terreni di trasporto.

Il terreno di trasporto ha la funzione di mantenere inalterate le caratteristiche chimico-fisiche del microorganismo, in quanto un adeguato pH previene fenomeni di disidratazione del materiale e processi di ossidazione ed autodigestione enzimatica, e biologiche in quanto garantisce un ambiente favorevole alla sopravvivenza dei microorganismi pur non favorendone la crescita.

I sistemi di prelievo con terreno di trasporto sono normalmente formati da un tampone per la raccolta del materiale e da una provetta, contenente un terreno di trasporto, dove viene inserito il tampone dopo il suo utilizzo.

Il tampone è costituito da un supporto (in plastica o metallico) dotato di fibre assorbenti naturali (cotone) o sintetiche (nylon, poliestere, dacron, rayon, calcio alginato), talvolta impregnate con carbone, siero o frazioni di albumina per migliorare la sopravvivenza dei microorganismi esigenti e per neutralizzare i metaboliti ad attività tossica. Le dimensioni (lunghezza e diametro) dei

tamponi sono diverse in funzione del loro utilizzo.

Va tenuto presente che la natura della fibra è un elemento di criticità in funzione della tipologia di materiale o della ricerca da effettuare:

- i tamponi in cotone, contengono acidi grassi ad azione tossica nei confronti di molti microrganismi;
- i tamponi in calcio alginato, rilasciano prodotti che interferiscono con la crescita di vari microrganismi (*Herpes simplex virus*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*) e risultano tossici per le colture cellulari. Non sono idonei per estrazione di acidi nucleici mentre dacron e rayon sono da considerarsi le fibre ideali.

I terreni di trasporto comunemente utilizzati sono:

- terreno di Stuart o di Amies (liquido oppure in agar gel, con o senza carbone);
- terreno di Cary-Blair (in agar gel);
- terreni per anaerobi (in specifici distretti corporei);
- tamponi per biologia molecolare;
- tamponi per indagini virologiche.

Una particolare menzione va dedicata ai più recenti sistemi di trasporto e conservazione in fase liquida dove il materiale viene prelevato con tamponi floccati posti successivamente in un mezzo di trasporto liquido.

In questo caso le modalità di conservazione e di trasporto sono simili a quelle relative ai terreni gelificati, a tutto vantaggio della standardizzazione del prelievo e della fase analitica.

Il mezzo di conservazione diventa parte integrante del campione in analisi a tutti gli effetti e può essere inserito in contesti di automazione della semina ottimizzando l'iter diagnostico.

I campioni vanno comunque predisposti alla conservazione ed al trasporto come indicato dal laboratorio di microbiologia di riferimento e, generalmente, come indicato nella Tabella 2.

TRASPORTO DEI CAMPIONI PER ANALISI DI CITOGENETICA E GENETICA MOLECOLARE

Dato l'elevato grado di eterogeneità dei metodi analitici e dei campioni biologici utilizzati che caratterizzano gli esami genetici, vengono fornite indicazioni generali in base alla tipologia del campione da analizzare e alla finalità dell'esame. Per i campioni di sangue periferico/midollare per valutazione quantitative/qualitative di acidi nucleici in ambito oncoematologico, che sono eseguite su sotto-popolazioni cellulari, vengono indicati specifici intervalli di temperatura di conservazione e trasporto, diversi da quelli generalmente indicati nell'introduzione a tale riguardo.

Alcuni esami eseguiti mediante kit diagnostici a marchio CE/IVD potrebbero avere specifiche diverse da quelle indicate ed in tal caso occorre seguire le indicazioni specificate dal produttore.

È importante che al laboratorio, oltre al campione pervenga, in formato cartaceo/digitale, la richiesta con il quesito diagnostico, e per tutti gli esami genetici germinali anche il consenso informato all'esecuzione degli esami (Tabella 3).

Tabella 2*Modalità di trasporto e conservazione dei campioni per esami microbiologici.*

Campione	Conservazione
Sangue	Temperatura ambiente ^a Se possibile incubare a 37 °C in specifico incubatore per emocolture
Essudati, drenaggi, liquidi (pericardico, pleurico, versamenti, dialisi peritoneale)	Inoculare parte del materiale nei flaconi per emocoltura e conservare a temperatura ambiente; conservare la restante parte a +2-8 °C ^b
Espettorato e/o broncoaspirato	+2-8 °C ^b
Tamponi in sistema di trasporto (faringeo, nasale, auricolare, vaginale, congiuntivale, cutaneo)	Temperatura ambiente ^a (+2-8 °C per ricerca <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Yersinia</i>)
Urine	+2-8 °C ^b
Feci	+2-8 °C ^b
Liquido cefalo-rachidiano	Temperatura ambiente ^a (+2-8 °C ^b per ricerca virale)
Ricerca micobatteri	+2-8 °C ^b
Essudato (ulcere, piaghe, ferite chirurgiche)	+2-8 °C ^b
Biopsie, agoaspirati	+2-8 °C ^b , in soluzione fisiologica
Ricerca anaerobi in sistema di trasporto	Temperatura ambiente ^a

a, 20± 5 °C; b, conservazione in frigorifero.

Tabella 3*Modalità di trasporto e conservazione dei campioni per analisi citogenetiche e di biologia molecolare.*

Tipologia campione	Finalità dell'esame	Intervallo di temperatura	Tempi
Sangue periferico	Cariotipo dopo coltura cellulare e/o estrazione acidi nucleici	+20±10 °C	Entro 24-72 ore dal prelievo
Sangue midollare	Cariotipo dopo coltura cellulare e/o estrazione acidi nucleici	+20±10 °C	Entro 24 ore dal prelievo
Liquido amniotico	Cariotipo dopo coltura cellulare e/o estrazione acidi nucleici	+20±10 °C	Entro 24-72 ore dal prelievo
Villi coriali	Cariotipo dopo coltura cellulare e/o estrazione acidi nucleici per analisi molecolari	+20±10 °C	Entro 24-72 ore dal prelievo
Biopsia cutanea	Cariotipo dopo coltura cellulare e/o estrazione acidi nucleici dopo coltura cellulare	+20±10 °C	Entro 24-72 ore dal prelievo
Cellule in coltura	Estrazione acidi nucleici diretta	+20±10 °C	Entro 24-72 ore dal prelievo
Sangue periferico o sangue midollare	Estrazione acidi nucleici per valutazione quantitative/ qualitative in ambito onco-ematologico	+20±10 °C	Entro 24 ore dal prelievo

Analisi	Tipo di campione	Anticoagulante	Temperatura	Nota
Immunofenotipizzazione cellulare	Sangue periferico	EDTA, eparina, citrato	Ambiente	1
Immunofenotipizzazione cellulare	Agoaspirato midollare	EDTA, eparina, citrato	Ambiente	2
Immunofenotipizzazione cellulare (agoaspirato linfonodale o ghiandolare)	Agoaspirato tessuto solido	Nessuno, fisiologica	+2-8 °C	3

continua

Analisi	Tipo di campione	Anticoagulante	Temperatura	Nota
Immunofenotipizzazione cellulare liquidi da aspirati cavitari	Aspirato	Nessuno	+4 °C	4
Immunofenotipizzazione cellulare liquido cefalo-rachidiano	Aspirato	Nessuno	Ambiente	5
Analisi fenotipica cellule del broncolavaggio alveolare	Broncolavaggio	Nessuno	Ambiente	6
Analisi fenotipici piastrinici (Vasodilator-stimulated phosphoprotein - VASP)	Sangue periferico	Eparina	Ambiente	7
Per emorragia feto-materna	Sangue periferico	EDTA, eparina	Ambiente	8
Attivazione basofili con allergeni <i>in vitro</i> (BAT test)	Sangue periferico	Eparina	Ambiente	9

Note Trasporto entro

1	48 ore	Per tutti gli esami di immunopatologia e oncoematologia
2	48 ore	Per diagnosi all'esordio e per monitoraggio, inclusa malattia minima residua
3	4 ore	Eparinare se elevata contaminazione ematica
4	12 ore	Liquido pleurico, pericardico, peritoneale, sinoviale
5	Immediato	Se impossibile analisi immediata, porre in tubi TRANSFIX per massimo 18 ore
6	Immediato	Se impossibile analisi immediata, porre a +4 °C per massimo 4 ore
7	48 ore	Non agitare, non usare posta pneumatica, non refrigerare
8	12 ore	Porre a +2-8 °C se oltre 12 ore; massimo 48 ore
9	24 ore	Non agitare

BIBLIOGRAFIA

- WHO/CDS/CSR/LYO/2005.22 Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances. http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2005_22r%20.pdf (ultimo accesso: giugno 2018).
- ISO 15189. Medical laboratories – Particular Requirements for Quality and Competence: Geneva, 2012.
- Circolare n. 3, 8-5-2003 (Ministero Salute) Raccomandazioni per la sicurezza del trasporto di materiali infettivi e di campioni diagnostici. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_normativa_394_allegato.pdf (ultimo accesso: giugno 2018).
- IATA. Packing Instruction 650 - biological Substances category B. www.iata.org/whatwedo/cargo/dgr/Documents/ (ultimo accesso: giugno 2018).
- UN 3373 Packaging Requirements for Biological and Infectious Substances. www.un3373.com/info/regulations. (ultimo accesso: giugno 2018).
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline, 5th ed. CLSI document H21-A5. CLSI: Wayne, PA, 2008.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Procedures for handling and processing of blood specimens for common laboratory tests; approved guideline, 4th ed. CLSI document H18-A4. CLSI: Wayne, PA, 2010.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Urinalysis; approved guideline, 3th. CLSI document GP16-A3. CLSI:Wayne, PA, 2009.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Quality Control of Microbiological Transport Systems; approved standard, 2th. CLSI document M40-A2. CLSI: Wayne, PA 2014.
- Vaught JB, Henderson MK. Biological sample collection, processing, storage and information management. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15:1582-4.
- Salvagno GL, Lippi G, Montagnana M, et al. Influence of temperature and time before centrifugation of specimens for routine coagulation testing. *Int Jnl Lab Hem* 2009;31:462-7.
- Zurcher M, Sulzer I, Barizzi G, et al. Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole plasma transported at ambient temperature. *Thromb Haemost* 2008;99:416-26.
- Zaninotto M, Padoan A, Tasinato A, et al. An integrated system for monitoring the quality of sample transportation. *Clin Biochem* 2012;45: 688-90.
- Dakappagari N, Zhang H, Stephen L, et al. Recommendations for clinical biomarker specimen preservation and stability assessments. *Bioanalysis* 2017; 9:643-53.
- Zaninotto M, Tasinato A, Vecchiato G, et al. Performance specifications in extra-analytical phase of laboratory testing: sample handling and transportation. *Clin Biochem* 2017;50:574-8.
- Haslacher H, Szekeres T, Gerner M, et al. The effect of storage temperature fluctuations on the stability of biochemical analytes in blood serum. *Clin Chem Lab Med*

- 2017;55:974-83.
17. Imeri F, Herklotz R, Risch L, et al. Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: A stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. *Clin Chim Acta* 2008;397:68-71.
 18. Canadian Standard Association – CSA Group, Primary sample collection facilities and medical laboratories- Patient safety and quality of care – Requirements for collecting, transporting, and storing samples. Z316.7-12 reaffirmed 2017.
 19. Mayo Medical laboratories: Dangerous Goods Training. <https://news.mayomedicallaboratories.com/2017/06/29/dangerous-goods-training/> (ultimo accesso: giugno 2018).
 20. Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al for British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol* 2011;155:30-44.
 21. Ramström S, Södergren A, Tynngård N, et al. Platelet function determined by flow cytometry: new perspectives? *Semin Thromb Hemost* 2016;42:268-81.
 22. Borowitz MJ, Craig FE, Di Giuseppe JA, et al. On behalf of the Clinical Cytometry Society. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clinical Cytometry* 2010;78B:211-30.
 23. de Jongste AH, Kraan J, van den Broek PD, et al. Use of TransFix™ cerebrospinal fluid storage tubes prevents cellular loss and enhances flow cytometric detection of malignant hematological cells after 18 hours of storage. *Cytometry B Clinical Cytometry* 2014;86B:272-79.
 24. Davis BH, Dasgupta A, Kussick S, et al. On behalf of ICSH/ICCS Working Group. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS – Part II – Preanalytical Issues. *Cytometry B Clinical Cytometry* 2013;84B:286–90.
 25. Johansson U, Bloxham D, Couzens S, et al on Behalf of British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the use of multicolour flow cytometry in the diagnosis of haematological neoplasms. *Br J Haematol* 2014;165:455-88.
 26. Stetler-Stevenson M, Paiva B, Stoolman L, et al. Consensus Guidelines for myeloma minimal residual disease sample staining and data acquisition. *Cytometry B Clinical Cytometry* 2016;90B:26-30.
 27. EUROPEAN LEUKEMIA NET for blood and bone marrow. ELN - WP10 - 2008. Consensual recommendations on preanalytical precautions for the immunophenotyping of leukemia and immunoproliferative disorders. <https://www.leukemianet.org/sites/leukemia-net/content/e62/e846/e5819/e5821/infoboxContent5823/WP10preanalytical.pdf> (ultimo accesso: giugno 2018).
 28. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, et al. Minimal/Measurable Residual Disease in AML: Consensus Document from ELN MRD Working Party. *Blood* 2018;131:1275-91.
 29. Porra V, Bernaud J, Gueret P, et al, Identification and quantification of fetal red blood cells in maternal blood by a dual-color flow cytometric method: evaluation of the Fetal Cell Count kit. *Transfusion* 2007;47:1281-9.
 30. Lott R, Tunnicliffe J, Sheppard E et al. Practical guide to specimen handling in surgical pathology. College of American Pathologists (CAP) and National Society for Histotechnology. <http://www.cap.org/ShowPropery?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/practical-guide-specimen-handling.pdf> (ultimo accesso: giugno 2018).
 31. National Institutes of Health. Biospecimen Working Group. Guidelines for human biospecimen storage and tracking within the NIH. Intramural Research Program. College of American Pathologists: Laboratory Accreditation Manual, 2013 <http://sourcebook.od.nih.gov/oversight/BiospecimenGuidelines.pdf> (ultimo accesso: giugno 2018).
 32. Dash RC, Robb JA, Booker DL, et al. Biospecimens and biorepositories for the community pathologist. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136: 668-78.
 33. Review of the Formaldehyde Assessment in the National Toxicology Program 12th Report on Carcinogens. Board on Environmental Studies and Toxicology, Division of Earth and Life Sciences. Washington (DC): National Academic Press, 2014.
 34. Zarbo RJ. Histologic validation of vacuum sealed, formalin-free tissue preservation, and transport system. *Recent Results Cancer Res* 2015;199:15-26.
 35. Istituto Superiore di Sanità. Spedizione di materiale biologico o altro materiale rilevante per la ricerca scientifica. ISPGMBGE01.001_REV.1. http://www.iss.it/binary/prev/cont/ISPGMBGE01.001_001SpedizioneMaterialiBiologici.pdf (ultimo accesso: giugno 2018).
 36. Manoni F, Caleffi A, Gessoni G, et al. Chemical, morphological and microbiological urine examination: proposal of guidelines for preanalytical standardization. *Riv Ital Med Lab* 2011;7:25-35.

L'importanza della standardizzazione del prelievo venoso: la raccomandazione EFLM-COLABIOCLI 2018

Davide Giavarina

Coordinatore Gruppo di Studio –Variabilità Extra-Analitica di SIBioC

La medicina di laboratorio è la disciplina che cerca di ottenere informazioni utili allo screening, alla diagnosi e al monitoraggio delle patologie dei pazienti, attraverso l'analisi di campioni biologici da loro prelevati, con mezzi fisici, chimici e biologici. È evidente che il campione biologico in sé rappresenta un elemento fondamentale per l'ottenimento delle informazioni corrette. Le procedure per ottenere un campione biologico idoneo dovrebbero essere tese a mantenerlo il più possibile inalterato rispetto alla condizione fisiologica, o per lo meno originaria, presente nell'individuo prima del prelievo.

Potenzialmente ogni liquido o tessuto biologico può essere un campione idoneo a fornire informazioni sulla condizione clinica del paziente. Il sangue rappresenta

tuttavia il campione maggiormente utilizzato, in ragione della facilità di raccolta e delle omeostasi che mantengono le concentrazioni degli analiti presenti in questo liquido/tessuto abbastanza costanti nel tempo.

La raccolta del campione biologico, e nello specifico il prelievo di sangue venoso, costituisce quindi un elemento cardine per la garanzia della qualità del materiale primario, su cui si eseguiranno le misure e ne deriveranno le informazioni diagnostiche.

Limitandoci ad osservare gli eventi pre-analitici strettamente correlati al prelievo, possiamo tuttavia distinguere variabili che intervengono prima, durante e dopo prelievo del campione di sangue (Tabella 1). Ognuno di questi eventi può modificare il campione in modo sostanziale, tale da poter causare un rischio reale

Tabella 1.

Errori pre-analitici in relazione al campione

Tempo	Errore
Prima della raccolta del campione	Errore di identificazione del paziente Errore di identificazione del campione
Durante la raccolta del campione	Volume insufficiente Errato anticoagulante Errato rapporto campione/anticoagulante Campione coagulato (mancato mescolamento, raccolta prolungata) Campione emolizzato Contaminazione del campione Contenitore errato
Dopo il prelievo	Errore di etichettatura Inappropriato trasporto Problemi di conservazione (tempo e temperatura) Errore di trattamento

Corrispondenza a: Davide Giavarina, Dipartimento della Diagnostica, Laboratorio Analisi, Ospedale San Bortolo, AULSS n. 8 Berica, Viale Mons. Rodolfi 37, 36100, Vicenza. tel. 0444 753254; E-mail davide.giavarina@aulss8.veneto.it

Ricevuto: 07.11.2018

Revisionato: 08.11.2018

Accettato: 09.11.2018

Publicato on-line: 15.03.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.012

di errata diagnosi e conseguente errato trattamento.

Per sommi capi, si possono riassumere i principali rischi associati alla raccolta del campione biologico e al prelievo di sangue in particolare.

L'errore di identificazione del paziente e dei campioni è forse il più pericoloso tra tutti gli errori preanalitici. Si può confondere un paziente per un altro, perché omonimi o con nomi molto simili, o perché vicini di letto se ricoverati in ospedale; si può prendere un documento (ad esempio la richiesta), una etichetta o una provetta etichettata per un paziente e utilizzarla per un altro; si può inserire un risultato di un paziente sul file di un altro, e così via. Secondo un recente rapporto dell'ECRI (già *Emergency Care Research Institute*), una fondazione no-profit di consulenza per il miglioramento delle cure degli Stati Uniti, oltre il 72% di questi errori avviene nel momento in cui si incontra il paziente e ben il 36,5% sono associati a procedure diagnostiche (1). La corretta identificazione del paziente è un elemento fondamentale per una cura "sicura" e costituisce un obiettivo primario di ogni organizzazione sanitaria, come sancito anche da importanti organismi di standardizzazione e controllo, come la Joint Commission (2), lo standard ISO 15189:2012 (3), il gruppo di lavoro sugli errori di laboratorio e la sicurezza del paziente di IFCC (WG-LEPS) (4). Ma, nonostante tutte queste attenzioni, questo tipo di errore continua ad essere molto rilevante (5).

Le provette hanno lo scopo di contenere e permettere il trasporto e l'analisi dei campioni, mantenendone le caratteristiche organiche e strutturali necessarie e interessanti per le analisi. Conservanti e additivi sono perciò spesso necessari per impedire la coagulazione, bloccare attività cataboliche, impedire la decomposizione delle proteine dovuta all'azione dei microrganismi e altro. Occorre che questi additivi siano opportunamente e tempestivamente miscelati al sangue, che siano nel giusto rapporto volumetrico con il campione (6) e che non si generino rischi di trascinarsi di anticoagulanti o additivi diversi contenuti nelle diverse provette di prelievo (7-9).

Il campione insufficiente rappresenta un limite assoluto alla esecuzione degli esami richiesti in uno specifico campione (10). Il problema affligge in modo particolare i prelievi pediatrici, ma può rilevarsi in tutte le altre tipologie di pazienti, sia per difficoltà di accessi venosi, sia per difficoltà tecniche di prelievo. È importante che la criticità legata al volume del campione sia nota ai prelevatori e ai prescrittori, perché possano limitare gli esami richiesti e fornire una priorità di esecuzione.

Si definisce in laboratorio "campione coagulato" il campione di sangue raccolto in provetta con anticoagulanti, che presenta micro o macro-coaguli visibili. Il campione coagulato rappresenta un problema insormontabile nei conteggi cellulari (emocromo, tipizzazioni linfocitarie) e negli esami coagulativi (11), dove i fattori della coagulazione devono essere mantenuti in forma di zimogeno. L'inappropriata

coagulazione avviene essenzialmente per due motivi principali: prelievo difficoltoso e prolungato nel tempo e/o mancato mescolamento del campione all'interno della provetta.

L'emolisi visibile nel campione dopo centrifugazione è definita dalla presenza di concentrazioni di emoglobina libera nel siero o nel plasma $>0,30$ g/L (12). È causata dalla rottura dei globuli rossi e dal riversamento del loro contenuto nel siero/plasma. L'interferenza dell'emolisi sulle misure di laboratorio dipende dal riversamento del contenuto intracellulare dei globuli rossi nel plasma o da interferenze spettrofotometriche nella lettura delle assorbanze dei prodotti di reazione. L'emolisi è la prima causa di non accettabilità del campione nei laboratori clinici. L'emolisi extravascolare rappresenta la causa del 98% di tutti i campioni emolizzati e riconosce numerosissime cause e concause (13,14) ma il prelievo rappresenta la fase più coinvolta (Tabella 2).

La verifica delle condizioni di digiuno standardizzato del soggetto, al momento del prelievo, è la migliore contromisura per garantire una condizione omogenea e confrontabile di riferimento delle concentrazioni misurate e per evitare l'interferenza da lipemia che è la seconda causa più frequente di campione non idoneo in laboratorio dopo l'emolisi (15). Elevate concentrazioni di lipidi generano interferenze di tipo ottico in numerose analisi. La lipemia nei campioni è definita in termini di torbidità, causata da una elevata concentrazione di lipoproteine visibile ad occhio nudo o quantificabile a 660/700 nm.

Raccogliere campioni di sangue da cateteri venosi periferici può essere frequentemente causa di emolisi. Inoltre, se la via di infusione è utilizzata per infondere soluzione fisiologica, glucosata, o altri liquidi, il prelievo può anche risultare diluito o contaminato dalle sostanze infuse. La pratica è sconsigliata (16), anche se spesso risulta inevitabile e sono state pubblicate alcune ipotesi operative (17).

I dispositivi di prelievo e i materiali per la raccolta dei campioni hanno un ruolo fondamentale per la garanzia dell'integrità del campione e il suo corretto utilizzo per la fase analitica. La scelta e il corretto uso costituiscono elementi fondamentali per la garanzia della qualità del campione e del mantenimento delle sue caratteristiche naturali (18).

E quindi chiaro ed evidente che molti problemi preanalitici sono legati alle tecniche di prelievo, alle procedure utilizzate, al personale coinvolto. Buone pratiche di laboratorio e buoni programmi di formazione per gli operatori, dedicati al prelievo dei campioni biologici e del sangue in particolare, possono migliorare enormemente questo problema, riducendo significativamente gli errori e i rischi clinici associati.

La formazione degli operatori addetti al prelievo venoso è diversa da Paese a Paese. In Europa, essi sono prevalentemente infermieri e tecnici di laboratorio. In Italia, sono abilitati al prelievo venoso i medici, gli infermieri professionali, gli assistenti sanitari e i biologi con corso di formazione specifico. Tuttavia in nessuno

Tabella 2.*Principali cause di emolisi extravascolare.*

Prelievo	Trasporto	Pre-Analitica intra Laboratorio	Archiviazione
Prelievo traumatico / accesso venoso difficile / punto di accesso	Provenienza dei campioni: Ostetricia Pronto Soccorso e Rianimazioni	Tempo tra il prelievo e la centrifugazione	Temperatura di stoccaggio post-analisi
Prelievo da catetere / ago-cannula	Trasporto per posta pneumatica	Centrifugazione a temperature estreme	Durata dello stoccaggio
Prelievo capillare	Pre- centrifugazione e temperatura di trasporto	Velocità di centrifugazione	
Dimensione dell'ago	Trasporto mediante corrieri	Imperfetta barriera del separatore (gel)	
Trasferimento da siringa	Durata del trasporto	Ri-centrifugazione	
Uso dell'antisettico per il prelievo			
Provetta non riempita completamente			
Mancanza di agitazione			

dei percorsi formativi di queste figure professionali esistono significativi momenti formativi teorici, e la formazione avviene sul campo, in maniera molto spesso non strutturata, come del resto avviene in molti paesi europei (19,20). Non stupisce pertanto che vi sia una scarsa aderenza alla linea guida H3-A6 del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI), relativa alle procedure del prelievo di sangue (6). E' invece dimostrato che l'introduzione di corsi di formazione, basati su didattica frontale, tutoraggio ed esercitazioni pratiche per tutti i professionisti abilitati al prelievo ematico migliora la conoscenza e le capacità, anche in infermieri esperti (21). La formazione dovrebbe comprendere conoscenze sui dispositivi di prelievo, procedure per il trattamento del paziente, tecniche relative al campionamento, nonché informazioni per la sicurezza dell'operatore.

Pochi Paesi europei hanno a livello nazionale dei propri protocolli scritti (linee guida, raccomandazioni) per il prelievo di sangue venoso, e spesso queste raccomandazioni sono incomplete. Per tale ragione, il gruppo di lavoro sulla Fase Preanalitica (WG-PRE) di EFLM, assieme al gruppo di lavoro sulla Fase Preanalitica (WG-PRE-LATAM) della Confederazione Latino-Americana di Biochimica Clinica (COLABIOCLI), hanno ritenuto opportuno produrre un documento di raccomandazione per incoraggiare e catalizzare la standardizzazione delle pratiche di prelievo di sangue in Europa e nell'America Latina. Il documento da loro prodotto, scritto principalmente da professionisti del

mondo del laboratorio, è rivolto al personale sanitario direttamente coinvolto nel prelievo di sangue e offre una guida sui requisiti necessari per garantire che il prelievo di sangue sia una procedura sicura e centrata sul paziente.

Nell'analizzare le possibili difficoltà ad implementare la linea guida, gli autori hanno identificato le barriere linguistiche come una reale criticità e raccomandato alle singole società scientifiche di laboratorio appartenenti alle due Federazioni, di tradurre nella lingua del Paese di appartenenza la raccomandazione.

SIBioC, con il suo Gruppo di Studio sulla Variabilità Extra-Analitica, aveva già prodotto nel 2008 una prima raccomandazione Italiana sul prelievo venoso (22), ma ha colto prontamente l'opportunità e la necessità di aderire a questo invito, curandone fin da subito la traduzione e rendendo il documento, pubblicato qui di seguito, disponibile a tutti i professionisti Italiani. La versione originale della raccomandazione e il relativo materiale educativo, sono consultabili come materiale supplementare a questa presentazione (1S).

BIBLIOGRAFIA

- 1 <https://www.ecri.org/Pages/Patient-Identification-Deep-Dive.aspx> . (ultimo accesso: novembre 2018).
- 2 http://www.jointcommission.org/assets/1/6/2016_NPSG_HAP.pdf . (ultimo accesso: novembre 2018).
- 3 ISO 15189: 2012 Medical laboratories - Requirements for

- quality and competence. International organisation for Standardisation: Geneva, 2012. http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=56115 (ultimo accesso: novembre 2018).
4. Plebani M. Quality Indicators to Detect Pre-Analytical Errors in Laboratory Testing. *Clin Biochem Rev* 2012;33:85–8.
 5. Wallin O, Söderberg J, Van Guelpen B, et al. Blood sample collection and patient identification demand improvement: a questionnaire study of preanalytical practices in hospital wards and laboratories. *Scand J Caring Sci* 2010;24:581-91.
 6. Clinical Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard, 6th ed. CLSI document H3-A6. CLSI: Wayne, PA, 2007.
 7. Simundic AM, Church S, Cornes MP, et al. Compliance of blood sampling procedures with the CLSI H3-A6 guidelines: an observational study by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1321-31.
 8. Salvagno G, Lima-Oliveira G, Brocco G, et al. The order of draw: myth or science? *Clin Chem Lab Med* 2013;51:2281-5.
 9. Cornes M, van Dongen-Lases E, Grankvist K, et al; Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). Order of blood draw: Opinion Paper by the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med* 2017;55:27-31.
 10. Atay A, Demir L, Cuhadar S, et al., Clinical biochemistry laboratory rejection rates due to various types of preanalytical errors. *Biochem Med* 2014;24:376–82.
 11. Adcock DM, Favalaro EJ, Lippi G., Critical pre-examination variables in the hemostasis laboratory and their quality indicators. *Clin Biochem* 2016; 49:1315–20.
 12. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:764-72.
 13. Giavarina D, Lippi G. Blood venous sample collection: Recommendations overview and a checklist to improve quality. *Clin Biochem* 2017;50:568-73.
 14. <http://www.specimencare.com/main.aspx?cat=711&id=3031>. (ultimo accesso: novembre 2018)
 15. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24:57-67.
 16. Lippi G, Cervellin G, Mattiuzzi C. Critical review and meta-analysis of spurious hemolysis in blood samples collected from intravenous catheters. *Biochem Med (Zagreb)* 2013;23:193-200.
 17. Ortells-Abuye N, Busquets-Puigdevall T, Díaz-Bergara M, et al. A cross-sectional study to compare two blood collection methods: direct venous puncture and peripheral venous catheter. *BMJ Open* 2014;4:e004250.
 18. M. Plebani, M. Caputo, D. Giavarina, et al. G. Note metodologiche sull'acquisizione e sull'uso dei sistemi chiusi sottovuoto per il prelievo, il trattamento e la conservazione dei campioni ematici venosi destinati alla diagnostica di laboratorio, *Biochim Clin* 2013;37:303–11.
 19. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, et al. Survey of national guidelines, education and training on phlebotomy in 28 European countries: an original report by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PA). *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1585-93.
 20. Vuk T, Cipek V, Jukic I. Blood collection staff education in the prevention of venipuncture failures and donor adverse reactions: from inexperienced to skillful staff. *Blood Transfus* 2015;13:338-9.
 21. Lyons MG, Kasker J. Outcomes of a continuing education course on intravenous catheter insertion for experienced registered nurses. *J Contin Educ Nurs* 2012;43:177-81.
 22. Lippi G, Caputo M, Banfi G. et al. Raccomandazioni per il prelievo di sangue venoso. *Biochim clin* 2008; 32:569-77.

Raccomandazione congiunta EFLM-COLABIOCLI per il prelievo di sangue venoso

Ana-Maria Simundic¹, Karin Bölenius², Janne Cadamuro³, Stephen Church⁴, Michael P. Cornes⁵, Edmée C. van Dongen-Lases⁶, Pinar Eker⁷, Tanja Erdeljanovic⁸, Kjell Grankvist⁹, Joao Tiago Guimaraes¹⁰, Roger Hoke¹¹, Mercedes Ibarz¹², Helene Ivanov¹³, Svetlana Kovalevskaia¹⁴, Gunn B.B. Kristensen¹⁵, Gabriel Lima-Oliveira¹⁶, Giuseppe Lippi¹⁷, Alexander von Meyer¹⁸, Mads Nybo¹⁹, Barbara De la Salle²⁰, Christa Seipelt²¹, Zorica Sumarac²², Pieter Vermeersch²³

¹Department of Medical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital "Sveti Duh", Zagreb, Croatia

²Department of Nursing, Umeå University, Umeå, Sweden

³Department of Laboratory Medicine, Paracelsus Medical University, Salzburg, Austria

⁴BD Life Sciences – Preanalytical Systems, Reading, UK

⁵Department of Clinical Biochemistry, Worcester Acute Hospitals NHS Trust, Worcester, UK

⁶Department of Clinical Chemistry, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

⁷Ümraniye Research and Training Hospital, Istanbul, Turkey

⁸Clinic for Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

⁹Department of Medical Biosciences, Clinical Chemistry, Umeå University, Umeå, Sweden

¹⁰Department of Clinical Pathology, São João Hospital Center, Department of Biomedicine, Faculty of Medicine, Porto, Portugal; and EPI Unit, Institute of Public Health, University of Porto, Porto, Portugal

¹¹National Association of Phlebotomists, London, UK

¹²Department of Clinical Laboratory, University Hospital Arnau de Vilanova, Lleida, Spain.

¹³Greiner Bio-One GmbH, Kremsmuenster, Austria

¹⁴Clinical Laboratory Diagnostic and Pathomorphology Department, Autonomous non-profit organization of additional professional education "Institute of Laboratory Medicine", Moscow, Russia

¹⁵Norwegian quality improvement of laboratory examinations, Bergen, Norway

¹⁶Section of Clinical Biochemistry, University of Verona, Verona, Italy; and Latin American Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE-LATAM) of the Latin America Confederation of Clinical Biochemistry (COLABIOCLI), Verona, Italy

¹⁷Section of Clinical Chemistry, University of Verona, Verona, Italy

¹⁸Institute of Laboratory Medicine, Kliniken Nordoberpfalz AG and Klinikum St. Marien, Weiden and Amberg, Germany

¹⁹Clinical Biochemistry and Pharmacology, Odense University Hospital, Odense, Denmark

²⁰West Hertfordshire Hospitals NHS Trust, Operating UK NEQAS for Haematology and Transfusion, Watford, UK

²¹Sarstedt GmbH & Co.KG, Nümbrecht, Germany

²²Center for Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

²³Department of Laboratory Medicine, University of Leuven, Leuven, Belgium

Traduzione a cura di Graziella Bonetti (Brescia) e Davide Giavarina (Vicenza)

ABSTRACT

This document provides a joint recommendation for venous blood sampling of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE) and Latin American Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE-LATAM) of the Latin America Confederation of Clinical Biochemistry (COLABIOCLI). It offers guidance on the requirements for ensuring that blood collection is a safe and

Questo articolo è la traduzione di Joint EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling. Published in Clin Chem Lab Med 2018;56:2015-38. EFLM non è responsabile della accuratezza della traduzione. In caso di citazione, riferirsi alla pubblicazione originale.

This is an Italian language translation of the Joint EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling. The EFLM has not endorsed nor approved the contents of this translation. The official version of the Document is located at <http://www.EFLM.eu> (<http://www.EFLM.eu>). Users should cite this official version when citing the document.

Ricevuto: 07.11.2018

Accettato: 07.11.2018

Publicato on-line: 15.03.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.012

patient-centered procedure and provides practical guidance on how to successfully overcome potential barriers and obstacles to its widespread implementation. The target audience for this recommendation are healthcare staff members directly involved in blood collection. This recommendation applies to the use of a closed blood collection system and does not provide guidance for the blood collection with an open needle and syringe and catheter collections. Moreover, this document neither addresses patient consent, test ordering, sample handling and transport nor collection from children and unconscious patients. The recommended procedure is based on the best available evidence. Each step was graded using a system that scores the quality of the evidence and the strength of the recommendation. The process of grading was done at several face-to-face meetings involving the same mixture of stakeholders stated previously. The main parts of this recommendation are: 1) Pre-sampling procedures, 2) Sampling procedure, 3) Postsampling procedures and 4) Implementation. A first draft of the recommendation was circulated to EFLM members for public consultation. WG-PRE-LATAM was also invited to comment the document. A revised version has been sent for voting on to all EFLM and COLABIOCLI members and has been officially endorsed by 33/40 EFLM and 21/21 COLABIOCLI members. We encourage professionals throughout Europe and Latin America to adopt and implement this recommendation to improve the quality of blood collection practices and increase patient and workers safety.

INTRODUZIONE

Lo scopo di questo documento è fornire una semplice e sintetica guida al prelievo di sangue venoso basata sul rischio e sulle evidenze. Sebbene esistano già numerosi documenti aventi lo stesso o analogo scopo, riteniamo che questo documento sia necessario per incoraggiare e catalizzare la standardizzazione delle pratiche di prelievo di sangue in Europa ed in America Latina. Ci sono molte ragioni alla base di questa motivazione. Uno studio pubblicato da EFLM WG-PRE, nel 2013, ha mostrato che su 28 paesi europei esaminati, solo 7 avevano a livello nazionale dei propri protocolli scritti (linee guida, raccomandazioni) per il prelievo di sangue venoso (1). Inoltre, le linee guida e le raccomandazioni internazionali esistenti non forniscono una guida chiara e inequivocabile per tutte le fasi di prelievo del sangue ed alcuni importanti dettagli potrebbero non essere stati presi in considerazione. Oltre a ciò, poiché non tutti i passaggi sono ugualmente importanti dal punto di vista della sicurezza, riteniamo che le linee guida e le raccomandazioni dovrebbero offrire un certo livello di valutazione critica del potenziale rischio associato alla non osservanza. Questo è importante per aiutare i laboratori a fornire priorità e concentrare le loro azioni correttive e preventive. Infine, le prove alla base di alcune raccomandazioni non sono ben definite o addirittura assenti, oppure non è valutata o pesata la qualità delle prove.

Un aspetto importante che non è stato considerato nei documenti esistenti è come implementare con successo la procedura raccomandata. Questo documento fornisce una panoramica completa delle fasi più critiche per una procedura standardizzata per il prelievo di sangue e una guida pratica su come superare con successo i potenziali ostacoli alla sua implementazione diffusa.

Questo documento è il risultato degli sforzi del gruppo di lavoro sulla fase preanalitica (WG-PRE) della Federazione Europea di Medicina di Laboratorio (EFLM) e del gruppo di lavoro latinoamericano sulla fase preanalitica (WG-PRE-LATAM) della Confederazione Latinoamericana di Biochimica Clinica (COLABIOCLI)

per affrontare tutte le questioni sopra menzionate. Oltre che specialisti in medicina di laboratorio, gli autori di questo documento sono rappresentanti di associazioni infermieristiche nazionali (KB), infermieri ospedalieri (TE), prelevatori (RH) e rappresentanti dei produttori di dispositivi di prelievo (SC, CS e HI). Il loro contributo è stato prezioso e desideriamo ringraziarli per questo. Incoraggiamo i professionisti di tutta Europa e America Latina ad adottare ed implementare questa raccomandazione per migliorare la qualità delle pratiche di prelievo di sangue ed aumentare la sicurezza dei pazienti e dei lavoratori.

SCOPO DELLA GUIDA

Questo documento copre tutte le fasi della procedura di raccolta del sangue venoso per pazienti interni ed esterni. La raccolta del sangue da pazienti ambulatoriali si differenzia da quella dai pazienti ricoverati principalmente nella fase di preparazione del paziente, nella posizione del paziente e nelle considerazioni relative all'attività fisica prima del prelievo di sangue. Le informazioni contenute nel resto del documento si applicano allo stesso modo ai pazienti ricoverati ed ambulatoriali.

Questo documento si applica solo all'uso di un sistema chiuso per il prelievo di sangue (cioè sistemi di raccolta dove il tappo della provetta non viene rimosso durante il processo di campionamento) e non fornisce indicazioni per il prelievo di sangue con ago aperto e siringa. Inoltre, è limitato al prelievo del sangue mediante l'uso di aghi e, quindi, non prende in considerazione il prelievo da catetere. Scoraggiamo il prelievo di sangue da un catetere endovenoso perché molti studi dimostrano che tale procedura aumenta il rischio di emolisi (2–4). Nei casi in cui il prelievo di sangue da catetere rappresenti l'unica possibilità, bisogna prestare attenzione al fine di ridurre al minimo il rischio di emolisi e contaminazione del campione dovuta alla miscelazione endovenosa di liquidi o della soluzione di lavaggio (questi passaggi sono al di fuori dello scopo di questo documento). L'EFLM WG-PRE sta attualmente lavorando sulle raccomandazioni per la raccolta di

sangue da catetere, per affrontare questo importante problema.

La norma ISO/TS 20658:2017 "Laboratori medici - Requisiti per la raccolta, il trasporto, la ricezione e la manipolazione dei campioni" descrive i requisiti essenziali per la raccolta, il trasporto, il ricevimento e la manipolazione dei campioni in un'impostazione ISO 15189. La nostra raccomandazione tratta le migliori pratiche per soddisfare tali requisiti, ma questi non sono né obbligatori né superiori rispetto alla gestione del rischio a livello locale secondo le raccomandazioni ISO 15189 e ISO 20658 (5, 6).

Questo documento è rivolto al personale sanitario direttamente coinvolto nel prelievo di sangue (indicato nel testo come prelevatore) quale principale gruppo di destinatari ed è limitato alla procedura di prelievo di sangue venoso. Offre una guida sui requisiti per garantire che il prelievo di sangue sia una procedura sicura e centrata sul paziente. Va tuttavia notato che tutte le norme e le raccomandazioni nazionali hanno la precedenza su questo documento, nel caso siano in qualsiasi modo diverse. Questo documento non tratta come ottenere il consenso del paziente, poiché questo può dipendere dalla politica istituzionale locale. La richiesta degli esami, la manipolazione ed il trasporto dei campioni, nonché il prelievo a pazienti incoscienti ed a bambini, sono al di fuori dello scopo di questo documento.

DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

Diversi produttori offrono vari prodotti per il prelievo di sangue venoso. Questo documento si applica in modo uguale a tutti loro. Tutti gli autori di questa raccomandazione desiderano qui rendere noto che non hanno alcuna preferenza per l'uso di un particolare prodotto o produttore.

METODOLOGIA

Questo documento è stato prodotto da EFLM WG-PRE e approvato dal WG-PRE-LATAM, in seguito all'identificazione delle procedure preanalitiche critiche coinvolte nel prelievo di sangue venoso (7) ed è, ove possibile, coerente con Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) e Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (8, 9). Le fasi della procedura si basano sulle migliori prove disponibili e un'opinione di consenso è stata raggiunta dopo discussioni approfondite e coinvolgendo diversi *stakeholders*, tra cui specialisti di laboratori clinici e accademici di 16 paesi membri EFLM compresi infermieri (KB e TE), prelevatori (RH), specialisti in medicina di laboratorio e rappresentanti dei produttori di dispositivi per prelievo venoso (SC, CS e HI).

Una volta concordate tutte le fasi della procedura di prelievo venoso, ciascuna è stata classificata in base a un sistema che valuta sia la qualità delle prove che la forza della raccomandazione (10, 11). È stato utilizzato

un sistema di classificazione che consente di stabilire un processo standardizzato, ma lascia comunque spazio ad un adattamento arbitrario alle regole locali per i punti con evidenze più deboli. La valutazione va da 1A, la più forte e con le migliori evidenze, a 2C, che è molto debole sia nelle prove che nella forza delle raccomandazioni. Il sistema di classificazione è mostrato nella Tabella 1. Le fasi e i rispettivi gradi di qualità delle prove e forza delle raccomandazioni sono mostrati in Tabella 2. Il processo di valutazione è stato effettuato come descritto tramite discussione in una riunione faccia a faccia che ha coinvolto lo stesso insieme di *stakeholder* dichiarato in precedenza. Laddove non era disponibile alcuna evidenza, la raccomandazione è stata prodotta come parere di consenso basato sulle competenze e sull'esperienza dei membri del gruppo.

Una prima bozza della raccomandazione è stata distribuita ai membri EFLM per la consultazione pubblica. I membri di EFLM e WG-PRE-LATAM sono stati invitati a condividere questo documento con i loro membri e a re-inviare le loro opinioni e/o commenti alla raccomandazione proposta. 11 su 40 membri. Tutti i commenti sono stati presi in considerazione durante la revisione di questo documento. Una versione rivista è stata inviata per la votazione a tutti e 40 i membri EFLM e ai 21 membri COLABIOCLI. Secondo il Manuale delle procedure EFLM, per essere considerato documento definitivo di EFLM, le raccomandazioni e le linee guida EFLM devono essere approvate da più della metà delle società membri EFLM (12).

Sulla base dei risultati delle votazioni, questo documento è stato ufficialmente approvato da EFLM e COLABIOCLI e deve essere considerato un documento ufficiale EFLM e COLABIOCLI. I risultati delle votazioni sono stati i seguenti: 33/40 membri EFLM hanno votato a favore di questo documento (Albania, Austria, Belgio, Bosnia ed Erzegovina, Croazia, Cipro, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Irlanda, Israele, Italia, Lituania, Macedonia, Montenegro, Polonia, Portogallo, Romania, Russia, Serbia, Repubblica slovacca, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia, Regno Unito e Ucraina), due membri dell'EFLM hanno votato contro (Paesi Bassi e Norvegia) e cinque membri EFLM si sono astenuti dal voto (Bulgaria, Islanda, Kosovo, Lettonia, Lussemburgo). Tutti i 21/21 membri COLABIOCLI (Argentina, Bolivia, Brasile, Costa Rica, Colombia, Cuba, Cile, Ecuador, El Salvador, Spagna, Guatemala, Honduras, Messico, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Porto Rico, República Dominicana, Uruguay e Venezuela) hanno votato a favore.

Gli autori di questo documento desiderano ringraziare tutti coloro che hanno appoggiato e sostenuto questa Raccomandazione.

Tabella 1*Classificazione delle raccomandazioni usate nella valutazione delle prove disponibili.*

Grado di raccomandazione	Chiarezza del rischio / beneficio	Qualità delle prove a supporto	Implicazioni
1A Raccomandazione forte, prove di alta qualità	I benefici superano chiaramente i rischi e gli oneri, o viceversa.	Evidenze derivate da studi randomizzati o caso-controllo ben eseguiti o prove schiaccianti di qualche altra forma. È improbabile che ulteriori ricerche modifichino la nostra fiducia nella stima del beneficio e del rischio.	Raccomandazioni forti, possono applicarsi alla maggior parte dei pazienti nella maggior parte delle circostanze senza riserve. I medici dovrebbero seguire una raccomandazione forte a meno che non sia presente una logica chiara e convincente per un approccio alternativo.
1B Raccomandazione forte, prove di qualità moderata	I benefici superano chiaramente i rischi e gli oneri, o viceversa.	Evidenze derivate da studi randomizzati o caso-controllo con limiti importanti (risultati incoerenti, difetti metodologici, indiretti o imprecisi) o prove molto evidenti di altri progetti di ricerca. Ulteriori ricerche (se eseguite) potrebbero avere un impatto sulla nostra fiducia nella stima del beneficio e del rischio e potrebbero modificare la stima.	Raccomandazione forte, si applica alla maggior parte dei pazienti. I medici dovrebbero seguire una raccomandazione forte a meno che non sia presente una logica chiara e convincente per un approccio alternativo.
1C Raccomandazione forte, prove di bassa qualità	I benefici sembrano superare i rischi e gli oneri, o viceversa.	Evidenze da studi osservazionali, esperienze cliniche non sistematiche o da studi randomizzati e caso-controllo con gravi difetti. Qualsiasi stima dell'effetto è incerta.	Raccomandazione forte, si applica alla maggior parte dei pazienti. Alcune delle prove a sostegno della raccomandazione sono, tuttavia, di bassa qualità.
2A Raccomandazione debole, prove di alta qualità	Benefici strettamente bilanciati con rischi e oneri.	Evidenze derivate da studi randomizzati o caso-controllo ben eseguiti o prove schiaccianti di qualche altra forma. È improbabile che ulteriori ricerche modifichino la nostra fiducia nella stima del beneficio e del rischio.	Raccomandazione debole, l'azione migliore può variare a seconda delle circostanze o dei pazienti o dei valori della società.
2B Raccomandazione debole, prove di qualità moderata	Benefici strettamente bilanciati con rischi e oneri, alcune incertezze nella stime di benefici, rischi e oneri.	Evidenze derivate da studi randomizzati o caso-controllo con limiti importanti (risultati incoerenti, difetti metodologici, indiretti o imprecisi) o prove molto evidenti di altri progetti di ricerca. Ulteriori ricerche (se eseguite) potrebbero avere un impatto sulla nostra fiducia nella stima del beneficio e del rischio e potrebbero modificare la stima.	Raccomandazione debole, gli approcci alternativi possono essere migliori per alcuni pazienti in alcune circostanze.
2C Raccomandazione debole, prove di bassa qualità	Incertezza nelle stime di benefici, rischi e oneri; i benefici possono essere strettamente bilanciati con rischi e oneri.	Evidenze da studi osservazionali, esperienze cliniche non sistematiche o da studi randomizzati e caso-controllo con gravi difetti. Qualsiasi stima dell'effetto è incerta.	Raccomandazione molto debole; altre alternative possono essere ugualmente ragionevoli.

Tabella 2
Prelievo di sangue venoso – sequenza delle azioni

	Forza delle prove
1. Identificare il paziente	1C
2. Verificare che il paziente sia a digiuno e appropriatamente preparato	1B
3. Assicurarsi di avere tutto il materiale necessario per il prelievo di sangue	2C
4. Identificare le provette	1C
5. Indossare i guanti	1C
6. Applicare il laccio emostatico	1A
7. Selezionare il sito dove eseguire la puntura	1B
8. Disinfettare il sito della puntura	1B
9. Puntura della vena	1A
10. Raccogliere il sangue nella prima provetta	1A
11. Togliere il laccio emostatico	1A
12. Invertire delicatamente le provette immediatamente dopo la raccolta	1B
13. Raccogliere provette aggiuntive seguendo l'ordine di raccolta	1B
14. Rimuovere l'ago dalla vena e assicurarsi che il meccanismo di sicurezza sia attivato	1A
15. Smaltire l'ago	1A
16. Fasciare il sito della puntura	1C
17. Indicare al paziente di esercitare una leggera pressione sul sito di puntura e di non piegare il braccio	1C
18. Invertire tutte le provette almeno 4 volte	1B
19. Rimuovere i guanti	1A
20. Consigliare al paziente di riposare per 5 minuti e di assicurarsi che il sanguinamento sia cessato prima di lasciare il luogo del prelievo venoso	1B

Le parti principali di questa raccomandazione sono:

I) Procedure prima del prelievo, II) Procedura di prelievo, III) Procedure dopo il prelievo e IV) Implementazione.

I. PRIMA DEL PRELIEVO

Considerazioni generali sulla modalità appropriate di comunicazione con il paziente

La comunicazione diretta e personale è la chiave per un positivo rapporto con il paziente (13, 14).

Durante l'intero processo di raccolta di sangue, una comunicazione empatica e sicura con il paziente è importante e deve sempre comprendere i seguenti passaggi di base:

1. Presentarsi, magari anche con il proprio nome, per una connotazione più personale e spiegare il proprio ruolo all'interno dello specifico sistema sanitario.
2. Dopo aver identificato correttamente il paziente (vedere qui di seguito la fase 1 della Identificazione del paziente), spiegare cosa farai, perché vuoi farlo e ciò che il paziente deve fare. Agire con sicurezza e tranquillità. In questo modo il paziente si sente più a suo agio, sapendo che sei una persona professionale e competente.
3. Dite al paziente che il vostro compito è quello di prelevargli il sangue e chiedete se il paziente acconsente a farsi prelevare il sangue. Un campione di sangue non dovrebbe mai essere prelevato se il paziente mostra resistenza.
4. Se viene chiesto, indicare un ragionevole tempo di attesa per la procedura di prelievo venoso e per ottenere i risultati di laboratorio. Siate precisi nelle spiegazioni. È sempre più pratica comune che solo i codici a barre per la gestione elettronica delle richieste siano visibili per il prelevatore. È talvolta quindi impossibile fornire un ragionevole tempo di attesa per i risultati di laboratorio se i singoli esami richiesti non sono visibili al prelevatore. In questi casi, un prelevatore dovrebbe indicare al paziente dove reperire tale informazione.
5. Chiedere al paziente se ritiene di essere stato adeguatamente informato sulla procedura e se ci sono altre domande. Siate consapevoli e ascoltate le preoccupazioni del paziente. Potrete spesso ricevere qualche utile informazione su quali siano le sue vene migliori per il prelievo di sangue.
6. Chiedere al paziente se ha paura del prelievo di sangue. Le prove dimostrano che questa semplice domanda può aiutare a identificare le persone a maggior rischio di reazione vaso-vagale (sincope) (15). Si consiglia inoltre di chiedere al paziente se ha mai avuto in passato esperienze negative con le procedure di prelievo, al fine di stimare il rischio di sincope, o qualsiasi altro rischio di danno o effetti avversi del prelievo di sangue. Se un paziente ha paura, deve essere attentamente monitorato durante e dopo il prelievo di sangue, al fine di evitare lesioni da caduta durante lo svenimento. Se avvertite che il paziente è nervoso per l'imminente prelievo di sangue, è pos-

sibile dargli un compito semplice da svolgere, come contare progressivamente o fare un respiro profondo prima della puntura. Se un paziente segnala di essere spaventato dal prelievo di sangue o se questo si verifica durante la procedura, si deve raccomandare al paziente di stendersi.

Posizione del paziente

È stato dimostrato che il cambiamento della posizione del corpo da supina ad eretta e viceversa può influenzare notevolmente la concentrazione di molti parametri di laboratorio (16–19). Pertanto, il paziente dovrebbe idealmente non cambiare la sua posizione per almeno 15 minuti prima del prelievo di sangue. Se il paziente è sdraiato, il prelievo di sangue dovrebbe essere fatto in posizione supina (questo è soprattutto il caso dei pazienti ospedalizzati). I pazienti ambulatoriali dovrebbero idealmente rimanere in posizione seduta per 15 minuti prima del prelievo di sangue. Se il cambiamento nella postura è inevitabile entro questo periodo di tempo, questo dovrebbe essere documentato per consentire una corretta interpretazione dei risultati di laboratorio (20). Se un paziente è stato a riposo correttamente per 15 minuti nell'area di attesa, una breve camminata dall'area di attesa all'area di prelievo è considerata accettabile e non deve essere documentata.

1 – Identificazione del paziente (1C)

- 1.1 Si raccomanda l'uso di braccialetti identificativi per tutti i pazienti ricoverati.
- 1.2 Tutti i pazienti devono essere identificati in modo attivo mediante domande specifiche: *“Come si chiama?”*; *“Qual è la sua data di nascita?”* (21).
- 1.3 Per un'identificazione adeguata, dovrebbero essere usati almeno due identificatori (nome del paziente e data di nascita) e preferibilmente un identificatore aggiuntivo. Identificatori aggiuntivi possono essere: indirizzo; numero di assicurazione sanitaria; numero d'identificazione del paziente; dettagli della carta d'identità o qualsiasi altro elemento personale. Più dati sono usati per identificare il paziente, minore è la possibilità di identificare in modo errato il paziente (13).
- 1.4 L'identità del paziente deve essere confrontata con quella della richiesta di analisi del sangue. Se le provette sono state etichettate prima del prelievo di sangue, il prelevatore dovrebbe anche assicurarsi di confrontare l'identità del paziente con l'etichetta sulla provetta e garantire in questo modo la tracciabilità dell'identità del paziente con l'etichetta della provetta. Se i dati forniti dal paziente non corrispondono ai dati sul modulo di richiesta o sull'etichetta della provetta, la procedura di prelievo del sangue deve essere posticipata fino alla risoluzione del problema di identificazione.

Le raccomandazioni 1.1-1.4 sono raccomandazioni di grado 1C. Devono essere applicate a tutti i pazienti e in ogni occasione, senza eccezioni. Sebbene sia

fortemente raccomandato che questo passaggio sia eseguito esattamente come descritto sopra, sfortunatamente ci sono poche evidenze che la mancata osservanza di queste raccomandazioni esponga il paziente a un danno. Tuttavia, riteniamo che i vantaggi derivanti dal seguire questa procedura superino inequivocabilmente la quantità di tempo e gli sforzi investiti per garantirne l'osservanza.

2 – Verificare che il paziente sia a digiuno e appropriatamente preparato (1B)

- 2.1 Il prelievo di sangue per tutte le analisi dovrebbe essere eseguito al mattino (tra le 7:00 e le 9:00), a digiuno (12 ore dopo l'ultimo pasto). Il consumo di acqua è permesso durante il periodo di digiuno. I pazienti dovrebbero astenersi dall'assunzione di alcool per 24 ore prima del prelievo di sangue. La mattina, prima del prelievo di sangue, i pazienti non dovrebbero bere bevande contenenti caffeina (caffè, bevande energetiche e tè). Anche il fumo di sigaretta e le gomme da masticare non sono permesse al mattino prima del prelievo di sangue (22). Infine, le medicine del mattino dovrebbero essere evitate a meno che non siano di vitale importanza per il paziente.
- 2.2 Nel caso in cui il prelievo di sangue avvenga durante il giorno in uno stato non a digiuno, si possono misurare solo i parametri di laboratorio in emergenza o quelli per i quali ci siano evidenze che il digiuno non è richiesto.
- 2.3 Lo stato di digiuno del paziente deve essere verificato prima che venga prelevato il sangue. Quando possibile, il sangue non deve essere prelevato se il paziente non è adeguatamente preparato (le emergenze sono eccezioni a questa regola). Se il prelievo di sangue è effettuato in stato di non digiuno, o se un paziente non è stato adeguatamente preparato, questo fatto dovrebbe essere documentato per consentire un'interpretazione corretta dei risultati dell'esame.
- 2.4 L'attività fisica intensa (che eccede il normale livello di attività giornaliera) dovrebbe essere evitata 24 ore prima del prelievo di sangue.
- 2.5 L'orario del prelievo di sangue per il monitoraggio dei farmaci terapeutici (TDM) dipenderà dal farmaco e dall'indicazione per l'esecuzione (ottimizzazione del dosaggio del farmaco, monitoraggio dell'aderenza al farmaco, effetti avversi, intossicazione da farmaci, ecc.). Per il TDM si dovrebbero seguire le specifiche raccomandazioni fornite dal medico prescrittore relativamente al momento esatto per il prelievo di sangue.
- 2.6 Vi sono altri potenziali fattori come attività fisica regolare e/o recente, assunzione di cibo e assunzione di farmaci, medicinali da banco, integratori alimentari e preparati a base di erbe, ecc. che sono noti influenzare la concentrazione di alcuni analiti e dovrebbe essere verificato se il paziente ha seguito le istruzioni necessarie prima del prelievo di sangue (23-25). Se vengono identificati alcuni dei problemi sopra indicati ed il prelievo di sangue non può essere posticipato, il

personale di laboratorio dovrebbe, laddove appropriato, documentare tutte le condizioni pre-analitiche rilevanti per consentire un'interpretazione corretta dei risultati dell'esame

- 2.7 Per analiti con variazioni circadiane possono essere consigliabili altri prelievi durante il giorno. Per questi analiti devono essere seguite le specifiche raccomandazioni fornite dal medico prescrittore riguardo al momento esatto per il prelievo di sangue.

La risposta postprandiale al cibo e alle bevande dipende da vari fattori non modificabili (età, sesso, background genetico, gruppo sanguigno, ecc.) e modificabili. Fattori modificabili sono la dieta (26-29), l'assunzione di farmaci, di medicinali da banco, di integratori alimentari e preparati a base di erbe (30), stile di vita, attività fisica, come immersioni, maratona, esercizio fisico intenso e alcune altre attività (31 -33), peso corporeo, fumo, consumo di alcol, ecc. Per limitare la variazione nella risposta post-prandiale come conseguenza dell'eterogeneità interindividuale, l'EFLM WG-PRE ha pubblicato nel 2014 una raccomandazione su come standardizzare la definizione dei requisiti di digiuno (22). I requisiti di cui sopra sono pienamente in linea con questa raccomandazione.

L'attività fisica è un fattore modificabile molto importante noto per influenzare con effetti sia acuti che cronici il metabolismo dell'organismo. Considerando che gli effetti cronici dello sport possono essere considerati come un adattamento dell'organismo umano, gli effetti acuti possono essere evitati evitando un'intensa attività fisica 24 ore prima del prelievo di sangue.

3 – Assicurarsi di avere tutto il materiale necessario per il prelievo di sangue (2C)

Questa sezione si riferisce principalmente al prelievo di sangue in ambulatorio e non in un reparto ospedaliero, dove i pazienti sono allettati.

- 3.1 Il prelievo di sangue venoso deve essere eseguito in un ambiente pulito, silenzioso e privato. L'area in cui avviene il prelievo di sangue può contenere immagini con paesaggi rilassanti sulle pareti per rendere lo spazio più confortevole.
- 3.2 Dovrebbero essere presenti sedie e/o letti dedicati al prelievo del sangue. I braccioli della sedia devono essere regolabili per consentire la posizione ottimale. Se non è disponibile una sedia dedicata al prelievo, quest'ultimo deve essere eseguito su una sedia con i braccioli per evitare che il paziente possa cadere se si sente male (8, 9, 34).
- 3.3 Le aree di sanitizzazione o di lavaggio delle mani con sapone e/o disinfettanti e asciugamani di carta appropriati dovrebbero essere disponibili e accessibili per garantire la corretta igiene.
- 3.4 Le strutture per la raccolta dei campioni dei pazienti devono essere separate dalle aree di ricezione/attesa per garantire la privacy del paziente. La privacy del paziente deve essere garantita durante l'intera

procedura di campionamento del sangue. È chiaro che le condizioni possono differire in regime ambulatoriale e ospedaliero e per degenti con diverse condizioni cliniche. Tuttavia, occorre prestare attenzione per garantire che il prelievo di sangue avvenga sempre rispettando la privacy del paziente.

- 3.5 Apparecchiature e forniture dovrebbero essere disponibili in quantità sufficiente e appropriata per l'uso previsto durante il prelievo. L'attrezzatura a disposizione può includere:

- carrello servitore
- vassoi per il prelievo sangue
- guanti
- sistema per il prelievo di sangue con caratteristiche di sicurezza (aghi e camicie, o aghi integrati con camicie)
- provette per la raccolta del sangue (una gamma completa di provette con volume diverso, entro la data di scadenza)
- laccio emostatico (preferibilmente monouso)
- antisettici per pulire il sito di puntura
- bende
- garze
- contenitore per aghi e taglienti
- miscelatore del campione
- borse di trasporto a tenuta stagna

- 3.6 Tutti i materiali richiesti devono essere assemblati prima del prelievo di sangue venoso e per gli esami richiesti. Il luogo di lavoro dovrebbe essere organizzato in modo che l'operatore che esegue il prelievo possa raggiungere tutti i materiali necessari senza lasciare il proprio posto.

- 3.7 Le attrezzature dovrebbero essere conservate adeguatamente e mantenute pulite.

- 3.8 È necessario predisporre un sistema di gestione dei magazzini per garantire che le forniture siano utilizzate prima della scadenza.

- 3.9 L'ago, il supporto e la provetta formano insieme un sistema di raccolta del sangue integrato. Solo i singoli componenti dello stesso produttore dovrebbero essere utilizzati come parte del sistema di prelievo del sangue. Mentre i produttori garantiscono la piena compatibilità tra i componenti del loro sistema, i singoli componenti di diversi produttori non dovrebbero mai essere usati insieme, poiché le loro combinazioni non sono validate per l'uso previsto e potrebbero compromettere la sicurezza dei pazienti e dell'assistenza sanitaria (35). Se per qualsiasi ragione, questo requisito non può essere pienamente rispettato e devono essere utilizzati insieme i singoli componenti di diversi produttori (ad esempio provette speciali che non sono disponibili dall'azienda principale fornitrice delle provette in uso nella specifica istituzione), non è giustificata la ripetizione della venipuntura per salvaguardare la compatibilità dei componenti del sistema di raccolta del sangue del singolo produttore.

Conservare le provette in condizioni non coerenti con le raccomandazioni del produttore può influire sul volume dell'estrazione e sulla stabilità dei gel e degli

additivi. Fattori ambientali come temperatura, umidità, altitudine ed esposizione alla luce possono avere un impatto significativo sulla qualità della raccolta del sangue. Le provette sottovuoto che sono oltre la data di scadenza possono presentare una riduzione del vuoto che può portare al prelievo di un volume di sangue non ottimale e, quindi, ad un rapporto sangue/additivo non corretto (36, 37). Inoltre, le provette scadute possono presentare un deterioramento chimico dell'additivo. Per garantire la qualità del campione, le provette per la raccolta del sangue devono essere smaltite dopo la data di scadenza.

Le raccomandazioni elencate ai punti 3.1-3.8 sono raccomandazioni di grado 2C (raccomandazione debole, prove di bassa qualità). Non siamo stati in grado di reperire prove concrete per supportare le raccomandazioni sopra elencate diverse dalle raccomandazioni del produttore, a parte uno studio su esseri umani ed uno studio veterinario (36, 37).

4 –Etichettare e/o identificare le provette (1C)

4.1 L'etichettatura della provetta o l'identificazione della provetta (per le provette pre-etichettate) devono essere eseguite in presenza del paziente. Altrimenti, c'è il rischio che la provetta rimanga senza etichetta e venga possibilmente identificata in modo errato. La scelta se etichettare o identificare le provette prima o dopo la raccolta del sangue deve essere basata su un'analisi prospettica del rischio del processo di raccolta del sangue venoso in ogni istituzione.

4.2 Ogni istituzione dovrebbe avere una procedura standard a cui tutto il personale dovrebbe attenersi.

4.3 Le informazioni essenziali sul campione e sul paziente devono essere registrate all'interno del laboratorio in modo tale che la provetta sia tracciabile e collegata in modo inequivocabile al paziente, al campione raccolto, alla richiesta di esami, al richiedente e all'operatore che esegue il prelievo. Questi dati includono, ma non sono limitati a:

- identificazione di un richiedente, cioè una persona autorizzata (a norma di legge nazionale) per richiedere un'analisi del sangue
- nome completo del paziente
- data di nascita del paziente
- indirizzo del paziente (indirizzo di casa o reparto ospedaliero)
- numero unico di identificazione del campione
- data e ora del prelievo
- identificazione dell'operatore che esegue il prelievo.

4.4 Un minimo di due identificatori indipendenti (nome completo del paziente e data di nascita) e preferibilmente tre (i due sopra più uno aggiuntivo), dovrebbero essere usati per identificare la provetta. Non è essenziale che tutti i dati sopra elencati siano registrati sulla provetta. Se non si trovano sulla provetta, queste informazioni devono essere registrate su documenti cartacei o collegate al sistema informativo di laboratorio e facilmente recuperabili.

II. PRELIEVO

5 – Indossare i guanti (1C)

5.1 Un paio di guanti nuovo deve essere sempre indossato per proteggere il paziente e il personale che esegue il prelievo di sangue venoso.

5.2 Le mani devono essere pulite prima di indossare i guanti per ridurre al minimo il rischio di trasmettere un'infezione durante la rimozione dei guanti, ma anche per rassicurare il paziente.

Sfortunatamente, sebbene riteniamo che questa sia una raccomandazione forte, non siamo stati in grado di trovare prove di alta qualità per supportarla. Una recente revisione sistematica del database Cochrane ha dimostrato che il ruolo e il livello di protezione dei dispositivi di protezione individuale non sono ancora chiari (38). Tuttavia, dato il potenziale rischio associato, fino a prova contraria, raccomandiamo che i guanti siano usati per proteggere sia il paziente che l'operatore sanitario. Nel caso di punture da ago, i guanti fungono da barriera o protezione per ridurre al minimo la quantità di sangue che potrebbe essere trasmessa con la ferita da puntura da ago (39, 40). Dato che una gran parte del personale sanitario direttamente coinvolto nel prelievo di sangue è stata almeno una volta esposta ad una ferita da ago durante il proprio orario di lavoro, indossare guanti sembra una ragionevole misura di prevenzione delle infezioni (41, 42). L'evidenza mostra anche che l'uso di guanti sterili durante il prelievo di sangue per l'emocoltura riduce il rischio di contaminazione del campione (43, 44). Inoltre, oltre ad essere a rischio di danni da puntura da ago, il prelievo di sangue venoso è sempre associato al rischio di contatto e contaminazione con il sangue durante la procedura. Esistono prove che dimostrano che questo rischio è ridotto usando i guanti (45, 46). È stato dimostrato che l'igiene delle mani è la chiave per ridurre il rischio di infezione del personale sanitario e la trasmissione crociata di agenti patogeni resistenti agli antimicrobici. Inoltre, una corretta pulizia delle mani e l'uso di guanti proteggono il paziente dalle infezioni (47). Sfortunatamente, le prove dimostrano che i guanti non sono diffusamente usati tra gli operatori sanitari (48).

Le linee guida CLSI GP41-A7 consigliano di indossare i guanti dopo aver applicato il laccio emostatico. Tuttavia, vi è evidenza che il tempo di applicazione del laccio emostatico può essere più lungo di 1 minuto se si segue la procedura raccomandata dal CLSI (49). Pertanto, per ridurre la stasi prolungata del sangue, suggeriamo di indossare i guanti prima dell'applicazione del laccio.

5.3 Assemblare l'ago e la camicia (se non già premontata) o con il supporto integrato con la provetta (per gli utenti di sistemi di prelievo di sangue con tecnica di aspirazione).

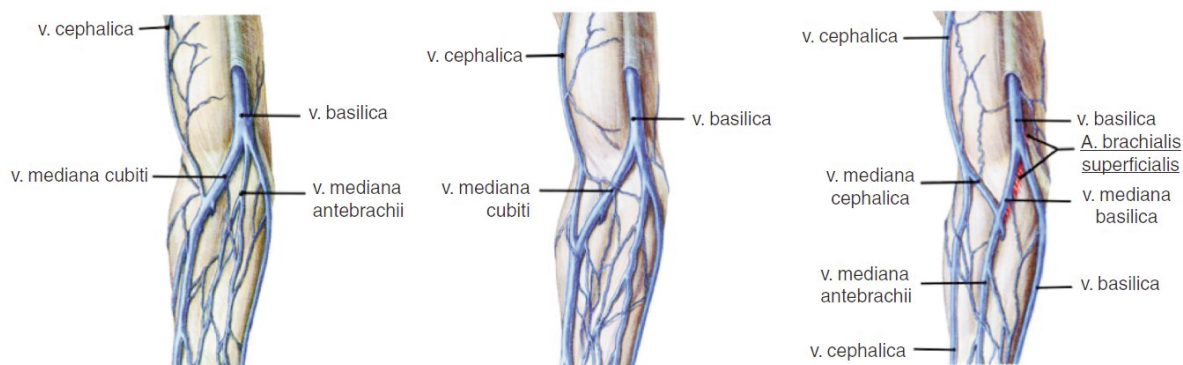


Figura 1

Variazioni frequenti della posizione delle vene dell'avambraccio. Riprodotto dal riferimento 63 con gentile autorizzazione di Elsevier GmbH.

6. Applicare il laccio emostatico (1A)

Il laccio emostatico è convenzionalmente definito come un dispositivo di costrizione o di compressione (elastico), che può essere usato per limitare la circolazione venosa ad un'estremità (di solito un braccio) per un periodo limitato di tempo. In assenza di altri dispositivi che possono essere utilizzati per rendere visibili le vene, l'uso del laccio emostatico può essere utile, specialmente in quei pazienti con vene piccole o scarsamente visibili

- 6.1 Tuttavia, si raccomanda di effettuare il prelievo di sangue preferibilmente senza laccio emostatico (specialmente nei pazienti con vene prominenti) e di usare i lacci emostatici solo quando necessario. Nel caso in cui sia utilizzato il laccio emostatico, l'operatore che esegue il prelievo deve assicurarsi che il tempo totale di applicazione del laccio non superi 1 minuto.
- 6.2 Il laccio emostatico deve essere applicato approssimativamente a una mano di larghezza (7,5 cm) al di sopra del sito dove è prevista la puntura e deve essere abbastanza stretto da impedire il flusso sanguigno venoso ma non arterioso.
- 6.3 Si raccomanda di utilizzare i lacci emostatici usa e getta per minimizzare il rischio d'infezione e contaminazione crociata del paziente e del personale sanitario.

L'evidenza mostra che i lacci emostatici riutilizzabili possono essere colonizzati con microrganismi multiresistenti e possono quindi fungere da serbatoio e fonte di trasmissione di vari patogeni ai pazienti ospedalizzati [50-52]. I lacci riutilizzabili possono persino essere contaminati da *Staphylococcus aureus* *meticillino-resistente* (MRSA) e quindi rappresentano un grande rischio per i pazienti e il personale sanitario. Dato il rischio associato all'uso di lacci riutilizzabili e alla qualità delle prove disponibili, abbiamo valutato questa raccomandazione come 1A. Sfortunatamente, i lacci usa

e getta non sono diffusamente usati, specialmente in alcuni paesi in via di sviluppo o non sviluppati [53]. La direzione dell'ospedale deve essere informata del rischio associato all'uso di lacci riutilizzabili e al potenziale beneficio dell'uso di lacci emostatici monouso per la sicurezza dei pazienti e del personale sanitario.

- 6.4 Per ridurre al minimo il rischio di stasi venosa, soprattutto se si devono riempire più provette, anziché i lacci emostatici, è possibile utilizzare dispositivi di illuminazione delle vene per localizzare le vene. Questo è particolarmente utile nei pazienti con vene difficili. È stato dimostrato che i dispositivi d'illuminazione delle vene possono servire come alternativa utile ai lacci emostatici per evitare la stasi venosa e successive alterazioni della concentrazione ematica di vari parametri biochimici, ematologici e di coagulazione (54-56). L'uso di dispositivi di illuminazione delle vene può essere una prospettiva preziosa per il futuro, sebbene siano necessarie ulteriori prove cliniche prima di poter raccomandare un'implementazione diffusa.
- 6.5 Avvisare il paziente di non stringere o pompare il pugno. La stretta e il pompaggio del pugno possono causare una pseudo-iperkalemia ed alterazioni di alcuni altri parametri biochimici ed ematologici (57-62).

7 – Selezionare il sito dove eseguire la venipuntura (1B)

- 7.1 Per selezionare il sito di venipuntura, il braccio del paziente deve essere teso in una posizione verso il basso.
- 7.2 Se disponibili, le vene più prominenti nella fossa cubitale (cioè cefalica, basilica, mediana cubitale e mediana delle vene antebrachiali) dovrebbero essere la prima scelta (Figura 1). La vena cubitale è la scelta da preferire perché di solito è la più prominente, non si muove sotto la pelle e può essere trovata nello stesso posto nella maggior parte dei pazienti.
- 7.3 Solo se le vene principali non sono disponibili, in

alternativa si possono usare le vene dorsali della mano.

7.4 La raccolta del sangue dalle vene del polso è scoraggiata.

7.5 La palpazione della vena potrebbe aiutare nella valutazione del sito di venipuntura appropriato.

La rappresentazione grafica trasversale della fossa cubitale è illustrata nella Figura 2. Comprendere l'anatomia di questa regione aiuta a ridurre il rischio di lesioni durante la procedura di raccolta del sangue.

7.6 Si raccomanda di non prelevare il sangue da cateteri venosi periferici precedentemente inseriti, vene indurite, shunt artero-venosi, dai siti di ematoma, infiammazione o gonfiore, da un braccio con innesto vascolare, braccia parietiche o braccia con disturbi del drenaggio linfatico.

7.7 Assicurarsi di documentare quando vengono utilizzati siti di venipuntura alternativi (ad esempio, le vene della mano e del piede o di qualsiasi altro sito oltre a quelli sopra menzionati).

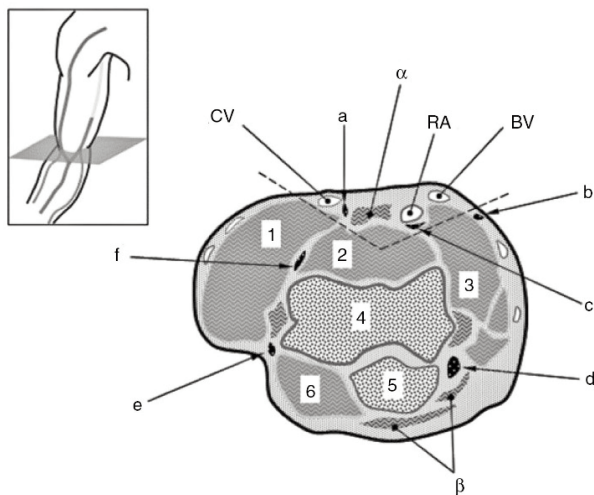


Figura 2

Anatomia topografica della fossa cubitale (sezione trasversale al gomito).

Vasi: CV, vena cefalica; RA, arteria radiale; BV, vena basilicale. Tendini: α, bicipite brachiale; β, tricipite brachiale.

Nervi: a, nervo cutaneo antebrachiale laterale; b, nervo cutaneo antebrachiale mediale; c, nervo mediano; d, nervo ulnare; e, nervo antebrachiale laterale posteriore; f, nervo radiale.

Muscoli e ossa: 1, brachioradialis; 2, brachiale; 3, pronatore tenes; 4, troclea (omero); 5, olecranon (ulna); 6, anconeus. Riprodotto dal riferimento 69 per gentile autorizzazione della Società croata di Biochimica Medica e Medicina di Laboratorio

Le raccomandazioni 7.1-7.7 sono raccomandazioni di grado 1B. Devono essere applicate a tutti i pazienti e in ogni occasione, senza eccezioni.

Selezionare la migliore vena e riconoscere il sito più appropriato per inserire l'ago per il prelievo di sangue venoso è importante per la qualità del campione, per la soddisfazione del paziente, per evitare danni al nervo, per evitare la puntura arteriosa, per la facilità e la

velocità della raccolta e per una buona riuscita della procedura di prelievo del sangue (59). Esistono numerose prove che dimostrano che le procedure di prelievo del sangue possono causare lesioni gravi in caso di mancata individuazione di una vena appropriata per l'effettuazione del prelievo di sangue venoso (64, 65).

8 – Disinfettare il sito di puntura (1B)

8.1 Il sito di venipuntura selezionato deve essere pulito con alcool etilico al 70% o qualsiasi altro disinfettante appropriato prima del prelievo di sangue per prevenire la contaminazione con agenti patogeni. La pulizia deve essere eseguita con una salviettina imbevuta e il sito selezionato deve essere lasciato asciugare. Non pulire il sito di campionamento con la stessa garza due volte.

8.2 Per la raccolta di emocolture si raccomanda di attenersi alle istruzioni fornite dal dipartimento di microbiologia dell'ospedale e/o alle informazioni fornite dal produttore del disinfettante. E' consigliabile la pulizia del sito di campionamento disinfettando due volte con due garze separate. Lasciare asciugare il disinfettante per almeno 60 secondi (66, 67).

8.3 Non toccare il sito disinfettato dopo la pulizia.

E' stata dimostrata contaminazione del sangue, da parte della normale flora cutanea, durante la procedura di prelievo del sangue, se il sito di venipuntura non è stato adeguatamente disinfettato (68, 69). La disinfezione è quindi della massima importanza se il sangue viene raccolto per l'emocoltura.

L'alcol evapora rapidamente e già entro 10 secondi la quantità di alcol si riduce della metà rispetto la quantità iniziale (70). Sebbene non lasciare asciugare l'alcol possa effettivamente causare una sensazione di bruciore in alcuni pazienti, questo non comprometterà la procedura di raccolta del sangue e la qualità del campione. È stato dimostrato che la presenza di alcool (nel caso in cui il sito di venipuntura non fosse lasciato asciugare) sul sito di raccolta non sia una fonte di emolisi spuria (71). Inoltre, in condizioni ideali di prelievo del sangue, l'uso di etanolo prima della raccolta del sangue venoso non interferisce con la misurazione dell'alcolemia (72). Tuttavia, per evitare il rischio di risultati falsi positivi, si suggerisce che per la raccolta dei campioni di sangue per la determinazione alcolica forense, l'alcol deve essere lasciato asciugare prima di eseguire la venipuntura. In alternativa, è possibile utilizzare un detergente antisettico non alcolico approvato per l'uso dall'ente, per evitare il rischio di contaminazione.

9 – Puntura della vena (Figura 3) (1A)

9.1 Pungere la vena con l'ugnatore dell'ago rivolto verso l'alto, poiché riduce al minimo il dolore e il rischio di perforazione della parete posteriore della vena.

9.2 Prevenire la rotazione delle vene estendendo la pelle del paziente.

- 9.3 Inserire l'ago longitudinalmente rispetto al vaso, con determinazione e prudenza, ad un angolo di circa 5-30 gradi in base alla profondità della vena in modo tale che almeno 0,5 cm dell'ago siano inseriti nel vaso.
- 9.4 Tenere ferma la camicia appoggiando la mano contro il braccio del paziente. Assicurarsi che il pugno del paziente sia aperto e non serrato stretto quando arriva il sangue (8,9,73).
- 9.5 Se una vena non può essere localizzata, un leggero riposizionamento dell'ago (spostando l'ago indietro o in avanti) può aiutare a trovare la vena.
- 9.6 L'uso di dispositivi con visualizzazione rapida può essere utile, specialmente con personale non esperto, o in bambini e pazienti con vene difficili. Questi dispositivi consentono di vedere immediatamente quando l'ago è entrato nella vena (Figura 4).

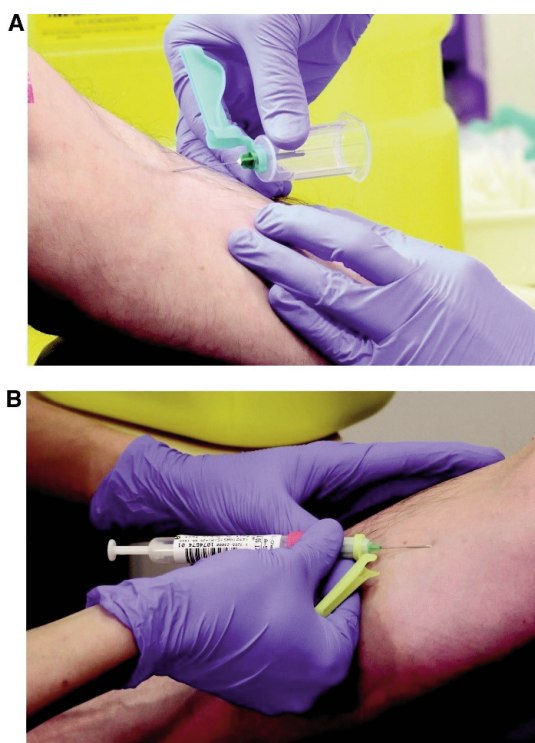


Figura 3

L'ago deve essere inserito nel vaso con un angolo di circa 5-30 gradi, in base alla profondità della vena.

(A) Inserimento dell'ago per gli utilizzatori di provette sottovuoto e (B) inserimento dell'ago mediante la tecnica di aspirazione.

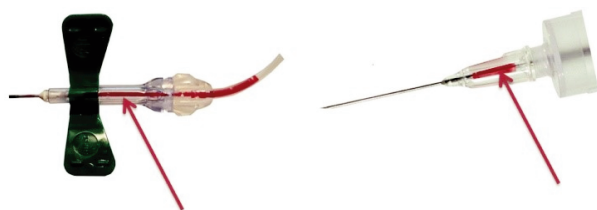


Figura 4

Dispositivo per la raccolta del sangue con visualizzazione rapida (a sinistra: farfalla; a destra: ago con uno spazio visibile).

10 – Prelevare il sangue nella prima provetta (1A)

10.1 Prelevare il sangue inserendo la provetta nel supporto in modo che il tappo sia perforato e il sangue sia prelevato (tecnica del vuoto) o rilasciando lentamente lo stantuffo (tecnica di aspirazione). Poiché le tecniche di prelievo del sangue possono differire rispetto al produttore, è necessario seguire sempre le raccomandazioni specifiche del produttore, insieme alle raccomandazioni contenute nel presente documento.

Si raccomanda di prelevare il sangue nelle diverse provette secondo il seguente ordine:

1. Provetta per emocoltura
2. Provetta con citrato
3. Provetta senza additivi o provetta con attivatore della coagulazione
4. Provetta con eparina
5. Provetta con EDTA
6. Provetta con inibitore della glicolisi
7. Altre provette

10.2 Quando la provetta di coagulazione viene raccolta come prima o unica provetta, se viene utilizzato un set per il prelievo di sangue (dispositivi a farfalla), deve essere prelevata una provetta di scarto per prevenire il sotto-riempimento della provetta con conseguente alterazione dei risultati degli esami (8). Se viene utilizzato per la raccolta del sangue un ago retto non è necessaria alcuna provetta di scarto (75, 76).

10.3 Assicurarsi che le provette siano completamente riempite (ad esempio fino al livello indicato sulla provetta). Il riempimento insufficiente delle provette (provette riempite con meno del 90% del volume di prelievo) dovrebbe essere evitato.

Sebbene alcuni sostengano che un ordine di prelievo errato quando si usano sistemi chiusi di prelievo del sangue, non sia fonte di contaminazione (77, 78), esistono prove certe che dimostrano che la contaminazione si verifica ancor più comunemente di quanto ci si potrebbe aspettare e può essere difficile da identificare (79-82). Questo probabilmente avviene perché la venipuntura non viene sempre eseguita in condizioni ideali. Esistono ancora situazioni cliniche come i punti di pronto soccorso, in cui il prelievo di sangue viene eseguito in condizioni non ideali e dove vengono eseguiti prelievi di sangue utilizzando solo in minima parte la tecnica di prelievo chiusa prescritta dal produttore (83). Date le ragioni indicate sopra e poiché non vi è alcun evidente svantaggio nel seguire l'ordine di prelievo, raccomandiamo che l'ordine di prelievo sia seguito senza eccezioni durante ogni prelievo di sangue.

11 – Togliere il laccio emostatico (1A)

11.1 Il laccio emostatico dovrebbe essere rimosso non appena il sangue scorre all'interno della prima provetta.

11.2 Se il prelievo di sangue non ha successo, il laccio

emostatico deve essere rilasciato e il prelievo di sangue deve essere effettuato su un sito alternativo.

I lacci emostatici causano un'occlusione temporanea delle vene e una stasi venosa temporanea. Se applicato per un lungo periodo di tempo (>1 minuto) un laccio emostatico induce una variazione sostanziale della composizione del sangue, a causa dello stravasamento di acqua e di piccole molecole come gli ioni, nello spazio sub-endoteliale. Durante questo processo, molecole di grosse dimensioni, come le lipoproteine, le proteine e sostanze legate alle proteine, cellule e fattori della coagulazione rimangono all'interno del vaso, così che la loro concentrazione aumenta progressivamente. La maggior parte di questi cambiamenti è trascurabile entro 1 minuto dall'applicazione del laccio emostatico, ma può diventare clinicamente significativa dopo questo tempo (84–86).

12 – Capovolgere delicatamente le provette immediatamente dopo il prelievo (1B)

12.1 Immediatamente dopo il prelievo invertire delicatamente le provette. Qualsiasi ritardo può influire sulla qualità del campione.

12.2 Mescolare delicatamente ogni provetta invertendola una volta prima di riempire la provetta successiva. Un'inversione consiste nel girare la provetta verticalmente a 180° e riportarla nella posizione iniziale (Figura 5).

12.3 La mano dominante dovrebbe essere usata per

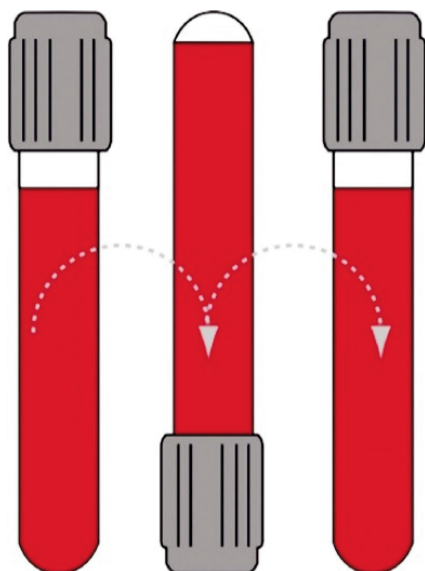


Figura 5

Un ciclo di miscelazione. Invertire la provetta significa girarla verticalmente di 180° e riportarla nella posizione iniziale. Riprodotto dal riferimento 25 per gentile permesso della Società Croata di Biochimica Medica e Medicina di Laboratorio.

tenere lago e supporto in posizione durante tutta la durata del prelievo. Inoltre, la mano non dovrebbe essere cambiata durante la raccolta del sangue nelle varie provette (Figura 6).

12.4 Evitare una miscelazione vigorosa dei campioni (ad

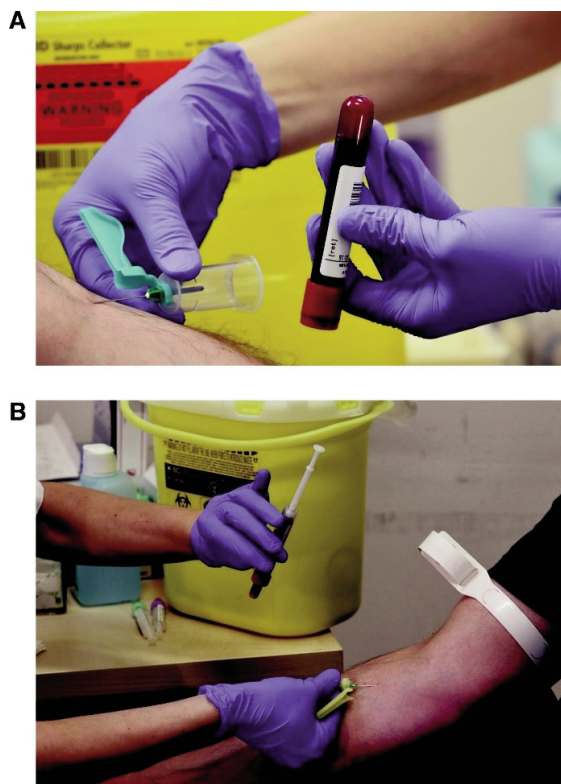


Figura 6

Dopo il prelievo invertire delicatamente la provetta una volta. Tenere l'ago con la mano dominante.

Non cambiare le mani durante la miscelazione ed il riempimento delle altre provette. (A) miscelazione delle provette per utenti di provette sotto vuoto e (B) miscelazione della provetta per gli utenti dei sistemi di prelievo di sangue che utilizzano la tecnica di aspirazione.

esempio mediante agitazione) per prevenire alterazioni delle cellule ematiche, emolisi, attivazione piastrinica o coagulazione del sangue (87).

12.5 Si raccomanda l'uso di dispositivi di miscelazione automatici poiché permettono la miscelazione immediata dei campioni senza l'impegno del prelevatore.

Un'appropriata miscelazione della provetta dopo che il sangue è stato prelevato è un passo importante che assicura che l'additivo presente nelle provette (anticoagulante, attivatore della coagulazione, ecc.) sia adeguatamente miscelato, i campioni di sangue siano omogenei e la qualità e l'integrità del campione siano mantenute. Si è a conoscenza che i produttori forniscono le loro specifiche raccomandazioni sul numero di inversioni per una particolare provetta, ad esempio che le provette devono essere capovolte delicatamente almeno 5-10 volte, a seconda del tipo di provetta (8, 88,

89).

Negli ultimi anni si è discusso se la miscelazione influisca o meno sulla qualità del campione. Alcuni studi hanno dimostrato che la mancata miscelazione della provetta primaria molto probabilmente non introdurrà un bias in molti risultati degli esami. La spiegazione di queste osservazioni potrebbe essere che la turbolenza del sangue causata dalla pressione del vuoto standard all'interno delle provette primarie è sufficiente, di per sé, a fornire sia solubilizzazione, che miscelazione e stabilizzazione di additivi e sangue durante la venipuntura (90-92). Potrebbe certamente verificarsi che in condizioni ottimali la miscelazione della provetta dopo il prelievo di sangue venoso possa non essere obbligatoria (93-95). Tuttavia, in alcune condizioni e circostanze poco frequenti, la mancata miscelazione della provetta può influire sulla qualità del campione e, ad esempio, portare ad emolisi o a coagulazione del campione. Date le ragioni di cui sopra, raccomandiamo vivamente che la miscelazione delle provette avvenga sempre senza eccezioni.

Nei casi in cui è necessario prelevare più di una provetta, miscelare la prima provetta e mettere contemporaneamente la provetta successiva nella camicia è praticamente impossibile, se il prelevatore tiene la camicia con una mano e sta mescolando la provetta con l'altra mano. Se un prelevatore sceglie di miscelare prima una provetta (ad esempio, per 10 volte) e solo dopo aver terminato con questa provetta, prende quella successiva e la inserisce nella camicia, il tempo medio necessario per completare la miscelazione e inserire la provetta successiva sarebbe di almeno 15 secondi (osservazioni non pubblicate). Se è necessario prelevare più provette, il tempo totale durante il quale un paziente ha un ago in vena potrebbe essere sostanzialmente prolungato. Per superare questo problema e ridurre il disagio al paziente, e non compromettere significativamente la qualità dei campioni, si raccomanda che se si devono prelevare più provette, ogni provetta venga miscelata solo con una inversione completa e solo quando tutte le provette sono prelevate e l'ago viene rimosso dalla vena del paziente, tutte le provette vengano miscelate per ulteriori 4 volte (vedere punto 18).

13 –Prelevare le provette aggiuntive seguendo l'ordine di prelievo (1B)

- 13.1 Prelevare tutte le provette successive e mescolare delicatamente ogni provetta una volta (un'inversione completa), come spiegato nel passaggio precedente (vedi punto 12).
- 13.2 Prelevare le provette nell'ordine consigliato (vedi punto 10).

14 - Rimuovere l'ago dalla vena e assicurarsi che il meccanismo di sicurezza sia attivato (1A)

Dopo aver scollegato l'ultima provetta, mettere una

garza sull'area del prelievo venoso, senza applicare pressione. Rimuovere delicatamente l'ago cercando di non provocare lesioni e premere il sito della puntura con una garza per evitare il sanguinamento.

Sul mercato sono presenti dispositivi per il prelievo di sangue dotati di meccanismi di sicurezza che possono differire nel modo in cui sono attivati (ad esempio, mentre l'ago è ancora all'interno della vena o dopo che l'ago è stato rimosso dalla vena). In conformità con la Direttiva europea 2010/32 UE, si raccomanda di utilizzare solo dispositivi di prelievo del sangue dotati di meccanismi di sicurezza per prevenire l'esposizione di operatori sanitari e pazienti a un ago contaminato (96). Si dovrebbero seguire le raccomandazioni del produttore in base al dispositivo utilizzato.

15 - Smaltire l'ago (1A)

- 15.1 Immediatamente dopo l'attivazione del meccanismo di sicurezza, il dispositivo usato per il prelievo di sangue deve essere smaltito in un contenitore per oggetti taglienti resistente alle forature.
- 15.2 I contenitori per gli oggetti taglienti dovrebbero essere vicini. Spostarsi per raggiungere il contenitore per oggetti taglienti non è una pratica accettabile.

16 – Bendare il sito della puntura (1C)

- 16.1 Verificare che il sanguinamento si sia fermato. Trattare la ferita applicando un cerotto o una benda con un nastro adesivo sulla zona asciutta.

17 - Indicare al paziente di esercitare una leggera pressione sul sito di puntura e di non piegare il braccio (1C)

- 17.1 Consigliare al paziente di esercitare una leggera pressione sul sito della puntura e di non piegare il braccio, al fine di minimizzare il rischio di ematoma o sanguinamento prolungato.
- 17.2 Alzare il braccio può essere utile per fermare il sanguinamento dal punto di prelievo. Una leggera pressione sul sito di puntura deve essere applicata fino all'arresto del sanguinamento, che di solito dura circa 2 minuti per prelievi di routine e fino a 10 minuti per i pazienti in terapia anticoagulante. Se è stata bucata la vena cubitale, il braccio del paziente dovrebbe essere tenuto dritto. Sebbene uno studio condotto in Danimarca non abbia rilevato differenze nel rischio di lividi rispetto al fatto che il braccio fosse piegato o meno (97), molti studi hanno dimostrato che piegare il braccio può causare un ematoma (98, 99). Inoltre, è stato dimostrato che l'incapacità di applicare la pressione fino all'arresto del sanguinamento può aumentare l'incidenza e la gravità dei lividi. (100).

18 – Capovolgere tutte le provette almeno 4 volte (1B)

- 18.1 Dopo aver rimosso l'ago dalla vena e attivato il meccanismo di sicurezza, capovolgere tutte le pro-

vette almeno altre 4 volte, in modo che il numero totale di inversioni sia cinque: la prima inversione immediatamente dopo che la provetta è stata riempita e altre 4 volte al termine del prelievo, quando tutte le provette sono state raccolte (dopo aver rimosso l'ago dalla vena). Idealmente, il numero di rotazioni complete dovrebbe corrispondere alle istruzioni dei produttori. Per informazioni sulla corretta procedura di miscelazione, fare riferimento al punto 12.

18.2 Se viene raccolta una sola provetta, capovolgerla 5 volte direttamente dopo la raccolta.

18.3 Dopo la procedura di miscelazione, tutte le provette devono essere lasciate in posizione verticale prima delle lavorazioni successive.

19 – Rimuovere i guanti (1A)

19.1 Poiché i guanti usati potrebbero essere contaminati da fluidi corporei e/o microrganismi, si consiglia di cambiare i guanti dopo ogni prelievo di sangue venoso.

19.2 Si consiglia di utilizzare la seguente procedura per la rimozione dei guanti: 1) prendere la parte esterna del guanto (all'altezza del polso) con la mano opposta che ancora indossa il guanto e sfilarlo rovesciandolo dall'interno verso l'esterno; 2) trattenere il guanto sfilato nella mano con il guanto indossato; 3) far scorrere le dita della mano senza guanto all'altezza del polso del guanto ancora indossato e rimuoverlo, sempre rovesciandolo dall'interno verso l'esterno (Figura 7)

19.3 Scartare i guanti e lavarsi le mani (101).

III. DOPO IL PRELIEVO

20 - Consigliare al paziente di attendere a riposo per 5 minuti (1B)

20.1 Avvisare il paziente di riposare per 5 minuti o attendere finché il sanguinamento si sia arrestato (se sono trascorsi più di 5 minuti) prima di lasciare l'area di prelievo del sangue

20.2 Essere empatici e chiedere al paziente come si sente prima di lasciare l'area di prelievo. Questo può aiutare a identificare i pazienti che sono a rischio di svenimento o sincope.

20.3 Ringraziare il paziente e lasciarlo con la certezza che avrà i suoi risultati di laboratorio il prima possibile. Se viene chiesto il tempo esatto in cui i risultati del laboratorio verranno forniti, informare il paziente o consigliare al paziente dove cercare tali informazioni (vedere Pre-prelievo, al punto 4).

Con questo punto, si vuole focalizzare l'attenzione sul periodo successivo al prelievo di sangue, durante il quale i pazienti possono avvertire capogiri o addirittura svenire a causa di una sincope vasovagale. Ci sono pazienti che hanno paura degli aghi o accusano malessere quando vedono il sangue. Tali pazienti, specialmente i più giovani, in alcune circostanze possono anche manifestare sincope durante o immediatamente dopo il prelievo di sangue (102, 103). La sincope durante o dopo il prelievo di sangue può verificarsi a causa dell'ansia o di un improvviso sollievo dall'ansia, quando un paziente non si sente più in pericolo (104). Pertanto, per assicurarsi che il paziente stia bene e che non si siano verificate complicazioni acute, suggeriamo che si consigli al paziente di riposare per almeno 5 minuti o più fino a quando il sanguinamento si sia fermato, nell'area di prelievo o



Figura 7

Rimozione dei guanti; rimuovere un guanto e rovesciarlo, racchiudere il primo guanto e far scorrere il secondo guanto sopra di esso.

nella sala di attesa. Preferibilmente, il paziente deve essere monitorato da personale autorizzato o lasciato a riposo senza sorveglianza e avvisato di informare il personale o chiedere aiuto in caso di necessità per qualsiasi assistenza. Sebbene sia riconosciuto che la maggior parte dei pazienti non soffre di ansia o vertigini post prelievo, crediamo anche che il vantaggio di seguire questo punto porti ad un ovvio beneficio che supera le possibili difficoltà nel seguire questa raccomandazione.

Come già sottolineato in precedenza (sottocapitolo: Comunicazione al paziente), la comunicazione empatica e sicura con il paziente è molto importante. Valutare il grado di paura del prelievo di sangue può aiutare ad identificare i pazienti che sono a maggior rischio di manifestare sincope durante o dopo il prelievo di sangue (15, 105). In questi pazienti essere messi a proprio agio o essere distratti può migliorare la risposta del paziente allo stress da prelievo di sangue e ridurre il rischio di sincope.

Tabella 3

Potenziali barriere o difficoltà che occorre superare per una efficace implementazione di linee guida e raccomandazioni.

Barriere e Difficoltà	Soluzioni
1. Individuali	
a. La resistenza dell'individuo al cambiamento	a. Gestione del cambiamento (visione condivisa e lavoro di gruppo)
b. Barriere Linguistiche	b. Tradurre il documento nella lingua locale
c. La carenza di conoscenza, consapevolezza e comprensione della necessità di mettere in atto la raccomandazione	c. Formazione
2. A livello della struttura sanitaria	
a. Ragioni economiche	a. Dare dimostrazione del costo della scarsa qualità all'amministrazione della struttura sanitaria
b. La mancanza di personale che potrebbe prendersi carico della responsabilità di gestire il cambiamento	b. Identificare il "delegato" e costruire un gruppo di lavoro
c. Il cambiamento è considerato di priorità bassa dall'amministrazione dell'ospedale	c. Presentare i benefici per l'amministrazione della struttura sanitaria (risparmio, sicurezza del paziente, prestigio ospedaliero, ecc.)
3. A livello Nazionale	
a. La carenza di consapevolezza e comprensione circa la necessità di attuare la raccomandazione	a. Identificare un delegato nazionale
b. La mancanza di una figura professionale che si assuma la responsabilità di gestire il cambiamento	b. Costituire un gruppo di lavoro nazionale per la fase preanalitica
c. Esistono più gruppi professionali i cui membri sono coinvolti nel processo dei prelievi di sangue	c. Collaborazione multidisciplinare di tutte le parti interessate
d. Le raccomandazioni sono recepite solamente se provengono da un ente normativo nazionale	d. Impegnarsi con gli organismi di regolamentazione nazionali
e. Le attuali leggi nazionali sono in conflitto con il documento	e. Adattare la raccomandazione alle regole e ai regolamenti nazionali o locali locali
f. La raccomandazione è difficile da attuare se non è ufficialmente approvata o inclusa anche nei documenti normativi riconosciuti a livello internazionale (come CLSI, ISO, ecc.)	f. Appoggiarsi all'EFLM per collaborare con gli organismi di regolamentazione internazionali

IV. ATTUAZIONE DELLE LINEE GUIDA

Potenziali difficoltà e impedimenti

Il successo dell'applicazione di una linea guida dipende dal superamento di ogni potenziale barriera e difficoltà. Al fine di realizzare un piano di attuazione valido e fattibile, è necessario innanzitutto identificare tutte gli impedimenti e le sfide e considerare attentamente le soluzioni appropriate (Tabella 3).

Le potenziali barriere e sfide che a livello individuale potrebbero compromettere il successo dell'attuazione di questa raccomandazione sono la resistenza del singolo a cambiare, la barriera linguistica, una carenza di conoscenza, consapevolezza e capacità di comprensione.

Infine, anche se esiste un atteggiamento positivo nei confronti di un cambiamento, tale cambiamento potrebbe essere difficile se non si identifica un

responsabile della gestione del cambiamento oppure se questo responsabile abbia altre priorità.

Le barriere e le difficoltà a livello di struttura sanitaria possono essere di natura finanziaria. Potrebbero anche esserci problemi come la mancanza di personale che dovrebbe assumersi la responsabilità di gestire il cambiamento. Certamente, un cambiamento sarebbe difficile se fosse considerato di basso interesse da parte dell'amministrazione ospedaliera.

Esistono anche diversi ostacoli che potrebbero sorgere a livello nazionale. Come nel caso del singolo ospedale, i possibili ostacoli a livello nazionale possono essere la mancanza di consapevolezza e comprensione della necessità di applicare la raccomandazione, così come la mancanza della figura professionale in grado di assumersi la responsabilità di gestire il cambiamento. Inoltre, in alcuni paesi esiste più di un gruppo professionale i cui membri sono coinvolti nel processo del prelievo di sangue.

L'esistenza di tali gruppi potrebbe essere un ostacolo alla riuscita dell'attuazione delle raccomandazioni, se essi non fossero d'accordo a lavorare insieme. In alcuni paesi, le raccomandazioni sono supportate solo se provengono da un ente normativo. Infine, se la legislazione nazionale esistente fosse in conflitto con questo documento, ciò potrebbe rappresentare una notevole difficoltà per l'attuazione di questa raccomandazione.

Può anche accadere che alcuni paesi e associazioni nazionali si trovino in difficoltà ad implementare la raccomandazione se questa non è ufficialmente approvata o inclusa in qualche documento normativo riconosciuto a livello internazionale (come CLSI, ISO, ecc.).

Considerate tutte le difficoltà menzionate nel trovare i canali di comunicazione adeguati o gli appropriati organi responsabili in ogni paese, può davvero essere una grande sfida per tutti i membri EFLM e COLABIOCLI accettare e attuare questa raccomandazione. Proponiamo quindi uno schema per la riuscita dell'implementazione di questa raccomandazione e speriamo che ciò possa facilitare il processo di attuazione, laddove necessario.

Schema per la riuscita dell'implementazione di questa raccomandazione

I requisiti necessari per il successo dell'attuazione di questa raccomandazione sono delineati nella Tabella 4. Nel testo seguente è discusso ogni requisito e la sua importanza.

Ci sono molti modi per affrontare la resistenza di un individuo a un cambiamento (106). In genere la maggior parte del personale medico è estremamente preoccupato per la sicurezza e il benessere dei propri pazienti. Pertanto, la loro resistenza ad apprendere e adottare una nuova procedura di prelievo del sangue è fondamentalmente causata dalla loro carenza di comprensione del potenziale danno al paziente, o a se stessi, che può insorgere come conseguenza della

mancata aderenza alla procedura raccomandata.

Formando il personale sui potenziali rischi per il paziente, causati da una procedura di prelievo del sangue impropria, viene fornita la consapevolezza sulla necessità di aderire alla procedura raccomandata (107-109). La formazione aumenta il livello di fiducia e migliora la qualità delle procedure (110). Tuttavia, gli effetti sono di solito a breve termine e questo è il motivo per cui la formazione dovrebbe essere continuamente ripetuta (111).

Tra gli studenti in scienze biomediche (scuola di medicina, farmacia, medicina veterinaria), esiste un basso livello di conoscenza e comprensione di alcuni argomenti di preanalitica di base (1, 112). La formazione sulla procedura del prelievo di sangue dovrebbe quindi essere disponibile per il personale medico già durante la loro istruzione curricolare (sia teorica sia pratica) per essere riconosciuto come professionista qualificato. Poiché diverse professioni sono coinvolte nel prelievo di sangue nei diversi paesi europei, le professioni che avrebbero bisogno di ricevere tale formazione variano da paese a paese (113).

La formazione sulla procedura del prelievo di sangue dovrebbe essere disponibile anche per tutto il personale medico neoassunto coinvolto in tale attività. Inoltre, oltre all'educazione, che è in gran parte teorica, il personale neoassunto dovrebbe ricevere un addestramento pratico nella procedura di raccolta del sangue. La formazione pratica dovrebbe essere preferibilmente offerta nell'ambulatorio del laboratorio, durante il periodo di una settimana, durante il quale un nuovo membro del personale dovrebbe eseguire almeno 100 raccolte di sangue, sotto la supervisione del responsabile del personale. Una verifica visiva dovrebbe essere effettuata durante i primi cinque e gli ultimi cinque prelievi, per valutare il livello di conformità con la procedura raccomandata e identificare potenziali deviazioni.

I numeri sopra indicati, relativi ai prelievi di sangue e alla durata della formazione pratica sono una raccomandazione di minima. Questi criteri sono un suggerimento di consenso, basato sull'esperienza e la competenza degli autori di questo documento. Riconosciamo che il numero minimo di raccolte di sangue può dipendere dall'istituto, dal livello delle competenze e dell'esperienza del tirocinante, dalla complessità della categoria di pazienti prevista, ecc. È quindi responsabilità degli educatori e dei formatori che venga raggiunto uno standard minimo dimostrabile di esperienza e conoscenza della procedura del prelievo venoso.

Si raccomanda che ogni istituzione stabilisca il proprio sistema di certificazione del personale coinvolto nella procedura di prelievo del sangue. La certificazione dovrebbe essere concessa a tutti i nuovi membri del personale solo dopo aver completato con successo l'istruzione e la formazione iniziale. Un test sulle conoscenze e una verifica osservazionale sono suggeriti come requisiti per la certificazione. Per ottenere il certificato, un membro del personale dovrebbe superare con successo il test di verifica delle competenze.

Tabella 4

Schema per una implementazione di successo della raccomandazione EFLM-COLABIOCLI per il prelievo di sangue venoso.

Formazione del personale	<ul style="list-style-type: none"> - Disponibile già durante l'istruzione formale - Disponibile per tutti i neoassunti - Disponibile periodicamente (ogni 3 anni al minimo) - Preferibile la modalità di e-learning - Sistema di "formazione dei formatori" prestabilito - Il test sulle conoscenze viene utilizzato prima e dopo la formazione
Tirocinio del personale	<ul style="list-style-type: none"> - Disponibile già durante l'istruzione formale - Disponibile per tutti i neoassunti - Disponibile periodicamente (ogni 3 anni al minimo) - Preferibilmente fornito nell'ambulatorio per pazienti esterni - Deve durare almeno 1 settimana (almeno 100 prelievi di sangue)
Certificazione del personale coinvolto nei prelievi di sangue	<ul style="list-style-type: none"> - Applicata a tutti coloro che sono coinvolti nel prelievo di sangue - Concessa ai nuovi membri del personale dopo il completamento con successo di: <ul style="list-style-type: none"> a) Istruzione e formazione iniziale b) Test di conoscenza e verifica osservazionale - Ricertificazione periodica
Revisione delle procedure per il prelievo di sangue	<ul style="list-style-type: none"> - Viene stabilito un sistema di verifiche periodiche - La riqualificazione viene eseguita come misura correttiva - La verifica è condotta (mediante osservazione) usando una check-list strutturata - Durante il controllo sono osservati almeno 20 prelievi di sangue, eseguiti da almeno tre diversi prelevatori - Gli indicatori di qualità sono utilizzati per monitorare la qualità del campione - Gli indicatori di qualità sono utilizzati per agire e avviare misure correttive
Squadra ospedaliera responsabile dell'attuazione	<ul style="list-style-type: none"> - Esiste un delegato della struttura sanitaria - Esiste un gruppo dei principali stakeholder
Società Nazionali	<ul style="list-style-type: none"> - Esiste un delegato nazionale - Esiste un gruppo di lavoro per la fase preanalitica all'interno della società nazionale - Le raccomandazioni sono tradotte nella lingua locale - Sono ben identificate le parti interessate più importanti - L'implementazione è fatta in collaborazione con i principali stakeholder - Gli organismi di regolamentazione e governativi sostengono e approvano l'applicazione delle raccomandazioni - Tutte le regole e le raccomandazioni nazionali hanno la precedenza su questo documento; è implementato un meccanismo per concordare le modifiche - Gli editori di riviste nazionali sono di aiuto, sensibilizzando sul tema

Si suggerisce l'80% delle risposte corrette, come criterio per il superamento della prova, ma è totalmente a carico dell'istituzione definire il proprio standard minimo.

Si raccomanda inoltre che ogni istituzione sanitaria abbia un sistema di auditing continuo, riqualificazione e ricertificazione per tutti i membri del personale. Si raccomanda che la verifica sia condotta sotto forma di verifica osservazionale, utilizzando una checklist di controllo strutturata e standardizzata (Tabella 5). Una

verifica dovrebbe essere effettuata periodicamente in ciascun dipartimento clinico almeno una volta all'anno. Durante ciascuna verifica osservazionale, è necessario osservare un numero sufficiente di prelievi e di prelevatori. Si consiglia di osservare almeno 20 raccolte di sangue, eseguite da almeno tre diversi prelevatori (almeno tre per ogni prelevatore) durante ogni verifica. Ancora una volta, come già affermato, è totalmente a carico dell'istituzione la definizione del proprio standard minimo.

Tabella 5

Modulo EFLM-COLABIOCLI per la verifica osservazionale della procedura di prelievo venoso.

Nome dell'osservatore:

Reparto/Dipartimento: ^a

Data di prelievo:

Nome del prelevatore/ID:

Prelievo venoso numero	Prelievo 1		Prelievo 2		Prelievo 3	
	si	no	si	no	si	no
Domanda 1. Il prelevatore ha correttamente identificato il paziente?	si	no	si	no	si	no
Domanda 2. Il prelevatore ha verificato che il paziente sia a digiuno e preparato adeguatamente per il prelievo?	si	no	si	no	si	no
Domanda 3. Il prelevatore ha preparato tutto il necessario prima di iniziare la procedura di prelievo?	si	no	si	no	si	no
Domanda 4. Le provette sono etichettate alla presenza del paziente?	si	no	si	no	si	no
Domanda 5. Il prelevatore ha indossato un paio di guanti nuovi?	si	no	si	no	si	no
Domanda 6. IL laccio è stato posto quattro dita (10 cm) sopra il punto di puntura della vena?	si	no	si	no	si	no
Domanda 7. Il punto idoneo per la venipuntura è stato scelto in accordo con la pratica raccomandata?	si	no	si	no	si	no
Domanda 8. Il punto di inserzione dell'ago è stato pulito accuratamente e non toccato dopo la disinfezione?	si	no	si	no	si	no
Domanda 9. Il prelevatore ha rilasciato il laccio non appena il flusso di sangue è iniziato?	si	no	si	no	si	no
Domanda 10. La prima provetta (e le successive) sono state immediatamente capovolte delicatamente una volta?	si	no	si	no	si	no
Domanda 11. Il prelevatore ha seguito il corretto ordine di prelievo?	si	no	si	no	si	no
Domanda 12. Il meccanismo di sicurezza nel sistema di raccolta del sangue è stato attivato immediatamente?	si	no	si	no	si	no
Domanda 13. L'ago / il sistema di raccolta è stato smaltito in modo sicuro e immediato?	si	no	si	no	si	no
Domanda 14. Il prelevatore ha posto una garza pulita sopra il punto del prelievo?	si	no	si	no	si	no
Domanda 15. E' stato detto al paziente di premere finché il sanguinamento non si sia arrestato e di non piegare il braccio?	si	no	si	no	si	no
Domanda 16. Le provette sono state tutte mescolate per almeno altre 4 volte?	si	no	si	no	si	no
Domanda 17. Il prelevatore ha rimosso i guanti al termine del prelievo?	si	no	si	no	si	no
Domanda 18. Si è raccomandato al paziente di rimanere a riposo per 5 minuti prima di lasciare il punto prelievi, al fine di essere sicuri che il sanguinamento si sia fermato?	si	no	si	no	si	no

** Potrebbero essere necessarie ulteriori informazioni generiche relative all'istituzione, per identificare correttamente il prelevatore e l'istituto. Ciò dipenderà dalla politica e dalla organizzazione istituzionale, nonché da alcune particolari circostanze locali. Criteri di esclusione: i pazienti devono essere coscienti, >18 anni e il sangue non deve essere prelevato tramite catetere. Guida: utilizzare un modulo per prelevatore. Ogni prelevatore dovrebbe essere monitorato durante tre successivi prelievi.*

La formazione periodica (teorica e pratica) dovrebbe essere resa disponibile a tutti i membri del personale almeno ogni 3 anni. Questa formazione potrebbe anche essere organizzata come e-learning, se fossero disponibili le risorse necessarie. Poiché l'istruzione e la formazione possono richiedere molto tempo anche in contesti in cui le risorse umane sono limitate, si raccomanda di istituire un sistema per "formare i formatori", nel senso che in ogni dipartimento vi sia un membro del personale biomedico (capo sala di dipartimento) responsabile per l'istruzione, la formazione e le verifiche del personale.

Si raccomanda di utilizzare un test teorico sia per valutare il livello di conoscenza e competenza, sia per sensibilizzare il personale prima della fase di formazione. Inoltre, si raccomanda di utilizzare un test similare per valutare il livello di conoscenza e competenza dello stesso personale dopo la formazione. Il test dovrebbe valutare la conoscenza dei seguenti argomenti e azioni, elencati di seguito:

- errori più frequenti nella fase preanalitica
- l'impatto degli errori preanalitici sulla qualità del campione e sull'esito per il paziente
- come preparare adeguatamente un paziente per il prelievo di sangue?
- come viene definito il digiuno e perché è importante?
- la corretta procedura di identificazione (ID) del paziente e della provetta
- tipi di provette, additivi
- l'ordine di prelievo
- l'uso del laccio emostatico
- l'adeguata procedura di miscelazione
- perché il rapporto sangue-additivo è importante?
- emolisi - cause e conseguenze
- coagulazione - cause e conseguenze
- sicurezza dei pazienti e dell'assistenza sanitaria

Gli indicatori di qualità sono strumenti efficienti per ottenere informazioni sul rischio di errori, le frequenze di errore e sulla loro distribuzione durante tutto il processo dell'analisi (114).

Si raccomanda di utilizzare gli indicatori di qualità per monitorare la qualità dei campioni ricevuti in laboratorio (115-117). Si raccomanda ai laboratori di monitorare la frequenza di: provette non completamente riempite, campioni coagulati, emolizzati, errori di ID, ecc., in quanto sono un buon strumento per rilevare alcune deviazioni significative e indicare alcune criticità specifiche durante la procedura della raccolta del sangue. La scelta degli indicatori di qualità da utilizzare dipenderà dalle esigenze locali e da particolari problemi e specificità a livello di ciascuna struttura sanitaria. Gli indicatori di qualità dovrebbero essere utilizzati per agire su di essi e correggere tali problemi. Per superare la

barriera linguistica, la raccomandazione dovrebbe essere tradotta nella lingua locale e resa disponibile a tutti coloro che sono coinvolti nel processo di prelievo dei campioni di sangue. Si incoraggiano le società scientifiche nazionali a collaborare alla traduzione di questo documento.

Per quanto riguarda le modalità per superare gli ostacoli a livello della struttura sanitaria, è necessario essere in grado di presentare i benefici dell'attuazione di questa raccomandazione, come il costo della scarsa qualità del campione, i potenziali risparmi, la riduzione del rischio per il paziente, il miglioramento della sicurezza e soddisfazione del paziente stesso (118, 119).

Infatti, è stato dimostrato che l'aderenza alla procedura raccomandata per la raccolta del sangue riduce al minimo il rischio di danni al paziente e la frequenza di campioni inadeguati (120). Questo importante aspetto della sicurezza deve essere dimostrato alla direzione della struttura sanitaria. Infine, è probabile che la direzione della struttura sanitaria sia interessata a qualsiasi intervento che possa potenzialmente essere considerato una questione di prestigio tra istituzioni simili.

Per una corretta attuazione della raccomandazione, un membro del personale dovrebbe essere responsabile della gestione del cambiamento a livello della struttura sanitaria (un cosiddetto "delegato"). Questa persona dovrebbe avere il tempo necessario per dedicarsi a questo compito.

Inoltre, questa persona dovrebbe avere una squadra composta da diversi stakeholders della struttura sanitaria, come la caposala e, possibilmente, i rappresentanti di:

- laboratorio
- personale clinico (medici)
- tecnici di laboratorio
- epidemiologi
- dipartimento per le infezioni ospedaliere e la sicurezza dei lavoratori
- dipartimento di qualità
- direzione ospedaliera

Questa squadra dovrebbe incontrarsi regolarmente per discutere e pianificare una strategia di implementazione e miglioramento continuo.

Anche a livello nazionale, dovrebbe esserci un "delegato" in grado di assumere la direzione nel processo di attuazione di questa raccomandazione. Per facilitare l'implementazione dovrebbe esserci un gruppo di lavoro per la fase preanalitica o qualche altro ente responsabile per gli interventi educativi e per sensibilizzare tutti i soggetti interessati e tutte le professioni (con lo stesso o anche diverso background e livello di istruzione) coinvolti nel prelievo di sangue, sulla

necessità dell'attuazione della raccomandazione. Le riviste scientifiche nazionali e i loro editori sono parimenti incoraggiati a sensibilizzare in merito alla fase preanalitica e al prelievo di sangue venoso in particolare, offrendo la loro rivista come un efficiente e potente veicolo per condividere conoscenze e informazioni (121-123). Il processo di implementazione dovrebbe essere condotto come uno sforzo congiunto, in una stretta collaborazione multidisciplinare di tutte le parti interessate a livello nazionale. I "delegati" nazionali hanno la responsabilità di identificare e reclutare le principali parti interessate, quali le associazioni infermieristiche nazionali, le società professionali in medicina di laboratorio e possibilmente anche i pazienti.

È fortemente consigliato coinvolgere organismi di regolamentazione, quali camere professionali, associazioni, enti regolatori nazionali e persino enti governativi, come il Ministero della Salute, al fine di sostenere e supportare le attività di applicazione della raccomandazione.

Se alcune leggi nazionali sono in conflitto con questo documento, dovrebbe essere identificato un meccanismo per concordare la modifica di questa raccomandazione a livello nazionale e accettare la versione rivista, per l'implementazione.

CONCLUSIONI

L'EFLM WG-PRE, in quanto ente professionale principalmente coinvolto nella fase preanalitica, si sente responsabile di fornire un quadro per un'attuazione efficace di questo documento a livello europeo (124, 125). Il nostro obiettivo è incoraggiare l'Associazione europea per l'Accreditamento ad approvare questo documento come uno standard e incoraggiarne l'uso a livello nazionale in ogni paese europeo durante le valutazioni di accreditamento.

Per facilitare l'implementazione, EFLM WG-PRE ha preparato gli strumenti seguenti:

1. una presentazione in power point che descrive alcuni argomenti di base, relativi al prelievo del sangue venoso e all'intera procedura (da utilizzare durante la formazione del personale)
2. un video che descrive l'intera procedura (da utilizzare durante la formazione del personale)
3. un test, per valutare il livello di conoscenza e sensibilizzare il personale prima e dopo l'educazione
4. una checklist da utilizzare per l'auditing della procedura del prelievo del sangue durante le verifiche periodiche osservative (Tabella 5)
5. alcuni poster con fumetti che descrivono l'intera procedura (da utilizzare presso le strutture per la raccolta del sangue).

Questi strumenti sono disponibili gratuitamente sul sito Web di EFLM (www.eflm.eu) nella EFLM Committees / Science / WG: Fase preanalitica, sotto Risorse / Materiale didattico. I professionisti sono incoraggiati a scaricare e utilizzare questi strumenti per implementare la procedura raccomandata per la raccolta del sangue venoso e stabilire un sistema di qualità in

grado di mantenere e migliorare continuamente la qualità della procedura.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M, Kovalevskaya S, et al. Survey of national guidelines, education and training on venous blood collection in 28 European countries: an original report by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PA). *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1585–93.
2. Lippi G, Cervellin G, Mattiuzzi C. Critical review and meta-analysis of spurious hemolysis in blood samples collected from intravenous catheters. *Biochem Med (Zagreb)* 2013;23:193–200.
3. Mrazek C, Simundic AM, Wiedemann H, Krahmer F, Felder TK, Kipman U, et al. The relationship between vacuum and hemolysis during catheter blood collection: a retrospective analysis of six large cohorts. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1129–34.
4. Heiligers-Duckers C, Peters NA, van Dijk JJ, Hoeijmakers JM, Janssen MJ. Low vacuum and discard tubes reduce hemolysis in samples drawn from intravenous catheters. *Clin Biochem* 2013;46:1142–4.
5. ISO/TS 15189:2012 Medical laboratories – Requirements for quality and competence.
6. ISO/TS 20658:2017 Medical laboratories – Requirements for collection, transport, receipt, and handling of samples.
7. Simundic AM, Church S, Cornes MP, Grankvist K, Lippi G, Nybo M, et al. Compliance of blood sampling procedures with the CLSI H3-A6 guidelines: an observational study by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1321–31.
8. Clinical Laboratory Standards Institute. GP41: procedures for collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved guideline, 7th ed. CLSI document GP41. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
9. World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood. http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599221_eng.pdf. Accessed: 11 Jan 2013.
10. Guyatt GH, Oxman AD, Kunz R, Falck-Ytter Y, Vist GE, Liberati A, et al. Going from evidence to recommendations. *Br Med J* 2008;336:1049–51.
11. <http://www.uptodate.com/home/grading-guide#gradingrecomendations>. Accessed: June 2018.
12. EFLM Procedure Manual v1.15, April 2017; Accessed: 9 Jun 2018, under Official Documents/Rules and regulations at: <https://www.eflm.eu/site/page/a/1056>.
13. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Health Care for Underserved Women, Committee on Patient Safety, Quality Improvement. ACOG Committee Opinion No. 587: effective patient-physician communication. *Obstet Gynecol* 2014;123:389–93.
14. Ha JF, Longnecker N. Doctor-patient communication: a review. *Ochsner J* 2010;10:38–43.
15. France CR, France JL, Himawan LK, Stephens KY, Frame-Brown TA, Venable GA, et al. How afraid are you of having blood drawn from your arm? A simple fear question predicts vasovagal reactions without causing

- them among high school donors. *Transfusion* 2013;53:315–21.
16. Simundic AM, Nikolac N, Guder W. Preanalytical variation and preexamination processes. In: Rifai N, Horvath R, Wittwer C, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diag-nostics*, 6th ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier, 2018:81–120.
 17. Lippi G, Salvagno GL, Lima-Oliveira G, Danese E, Favaloro EJ, Guidi GC. Influence of posture on routine hemostasis testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015;26:716–9.
 18. Lippi G, Salvagno GL, Lima-Oliveira G, Brocco G, Danese E, Guidi GC. Postural change during venous blood collection is a major source of bias in clinical chemistry testing. *Clin Chim Acta* 2015;440:164–8.
 19. Lippi G, Cervellini G. Acutely developing, spurious anemia without actual blood loss. A paradigmatic case report. *Biochem Med* 2017;27:421–5.
 20. Lima-Oliveira G, Guidi GC, Salvagno GL, Danese E, Montagnana M, Lippi G. Patient posture for blood collection by venipuncture: recall for standardization after 28 years. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2017;39:127–32.
 21. van Dongen-Lases E, Cornes MP, Grankvist K, Ibarz M, Kristensen GB, Lippi G, et al. Patient identification and tube labelling – a call for harmonisation on behalf of the Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1141–5.
 22. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples. For the Working Group on Preanalytical Phase (WG-PA) of the Euro-pean Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chim Acta* 2014;432:33–7.
 23. Lima-Oliveira G, Volanski W, Lippi G, Picheth G, Guidi GC. Pre-analytical phase management: a review of the procedures from patient preparation to laboratory analysis. *Scand J Clin Lab Invest* 2017;77:153–63.
 24. Simundic AM, Dorotić A, Fumic K, Gudasic-Vrdoljak J, Kackov S, Klenkar K, et al. Patient preparation for laboratory testing: recommendation of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. *Biochem Med* 2018. In press.
 25. Nikolac N, Supak-Smolcic V, Simundic AM, Celap I. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med* 2013;23:242–54.
 26. Montagnana M, Danese E, Salvagno GL, Lippi G. Short-term effect of dark chocolate consumption on routine haemostasis testing. *Int J Food Sci Nutr* 2017;68:613–6.
 27. Lippi G, Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Montagnana M, Gelati M, Picheth G, et al. Influence of a light meal on routine haemato-logical tests. *Blood Transfus* 2010;8:94–9.
 28. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Gelati M, Montagnana M, Danese E, et al. Influence of a regular, standardized meal on clinical chemistry analytes. *Ann Lab Med* 2012;32:250–6.
 29. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Danese E, Gelati M, Montagnana M, et al. Could light meal jeopardize laboratory coagulation tests? *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24:343–9.
 30. Simundic AM, Filipi P, Vrtaric A, Miler M, Nikolac Gabaj N, Kocsis A, et al. Patient's knowledge and awareness about the effect of the over-the-counter (OTC) drugs and dietary supplements on laboratory test results: a survey in 18 European countries. *Clin Chem Lab Med*. 2018, in press.
 31. Perovic A, Nikolac N, Braticcic NM, Milcic A, Sobocanec S, Balog T, et al. Does recreational scuba diving have clinically sig-nificant effect on routine haematological parameters? *Biochem Med* 2017;27:325–31.
 32. Danese E, Salvagno GL, Tarperi C, Negrini D, Montagnana M, Festa L, et al. Middle-distance running acutely influences the
 - 22 Simundic et al.: EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling concentration and composition of serum bile acids. Potential implications for cancer risk? *Oncotarget* 2017;8:52775–82.
 33. Corsetti R, Lombardi G, Barassi A, Lanteri P, Colombini A, D'Eril GM, et al. Cardiac indexes, cardiac damage biomarkers and energy expenditure in professional cyclists during the Giro d'Italia 3-weeks stage race. *Biochem Med* 2012;22:237–46.
 34. Rasaanah B, Hoag G. Guidelines for a venous blood collection chair. *Can Med Assoc J* 1992;146:108–9.
 35. Lippi G, Cornes MP, Grankvist K, Nybo M, Simundic AM. Euro-pean Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE) opinion paper: local validation of blood collection tubes in clinical labo-ratories. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:755–60.
 36. Bostic G, Thompson R, Atanasoski S, Canlas C, Ye H, Kolins M, et al. Quality improvement in the coagulation laboratory: reducing the number of insufficient blood draw specimens for coagulation testing. *Lab Med* 2015;46:347–55.
 37. Domingos MC, Médaille C, Concordet D, Briend-Marchal A. Is it possible to use expired tubes for routine biochemical analysis in dogs? *Vet Clin Pathol* 2012;41:266–71.
 38. Verbeek JH, Ijaz S, Mischke C, Ruotsalainen JH, Mäkelä E, Neuvonen K, et al. Personal protective equipment for preventing highly infectious diseases due to exposure to contaminated body fluids in healthcare staff. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;4:CD011621.
 39. Kinlin LM, Mittleman MA, Harris AD, Rubin MA, Fisman DN. Use of gloves and reduction of risk of injury caused by needles or sharp medical devices in healthcare workers: results from a case-crossover study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:908–17.
 40. Mast ST, Woolwine JD, Gerberding JL. Efficacy of gloves in reduc-ing blood volumes transferred during simulated needlestick injury. *J Infect Dis* 1993;168:1589–92.
 41. De Carli G, Abiteboul D, Puro V. The importance of implement-ing safe sharps practices in the laboratory setting in Europe. *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24:45–56.
 42. Bhargava A, Mishra B, Thakur A, Dogra V, Loomba P, Gupta S. Assessment of knowledge attitude and practices among health-care workers in a tertiary care hospital on needle stick among injury. *Int J Health Care Qual Assur* 2013;26:549–58.
 43. Self WH, Mickanin J, Grijalva CG, Grant FH, Henderson MC, Corley G, et al. Reducing blood culture contamination in com-munity hospital emergency departments: a multicenter evalu-ation of a quality improvement intervention. *Acad Emerg Med* 2014;21:274–82.
 44. Self WH, Speroff T, Grijalva CG, McNaughton CD, Ashburn J, Liu D, et al. Reducing blood culture contamination in the emergency department: an interrupted time series quality improvement study. *Acad Emerg Med* 2013;20:89–97.
 45. Mansouri M, Tidley M, Sanati KA, Roberts C. Comparison of blood transmission through latex and nitrile glove materials. *Occup Med* 2010;60:205–10.
 46. Wittman A, Kralj N, Köver J, Gasthaus K, Lerch H,

- Hofmann
- F. Comparison of 4 different types of surgical gloves used for preventing blood contact. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:498–502.
47. Pittet D, Allegranzi B, Sax H, Dharan S, Pessoa-Silva CL, Donaldson L, et al. Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. *Lancet Infect Dis* 2006;6:641–52.
48. Dukic K, Zoric M, Pozaic P, Starcic J, Culjak M, Saracevic A, et al. How compliant are technicians with universal safety measures in medical laboratories in Croatia? – a pilot study. *Biochem Med* 2015;25:386–92.
49. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Impact of the venous blood collection training based on CLSI/NCCLS H03–A6 – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. *Biochem Med (Zagreb)* 2012;22:342–51.
50. Culjak M, Gveric Grginic A, Simundic AM. Bacterial contamination of reusable venipuncture tourniquets in tertiary-care hospital. *Clin Chem Lab Med* 2018; doi: 10.1515/cclm-2017-0994.
51. Mehmood Z, Muhammad Mubeen S, Shehzad Afzal M, Hus-sain Z. Potential risk of cross-infection by tourniquets: a need for effective control practices in Pakistan. *Int J Prev Med* 2014;5:1119–24.
52. Pinto AN, Phan T, Sala G, Cheong EY, Siarakas S, Gottlieb T. Reusable venesection tourniquets: a potential source of hospital transmission of multiresistant organisms. *Med J Aust* 2011;195:276–9.
53. Nikolac N, Lenicek Krleza J, Simundic AM. Preanalytical external quality assessment of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine and CROQALM: finding undetected weak spots. *Biochem Med* 2017;27:131–43.
54. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Man-guera CL, Sumita NM, et al. New ways to deal with known preanalytical issues: use of transilluminator instead of tourniquet for easing vein access and eliminating stasis on clinical biochemistry. *Biochem Med* 2011;21:152–9.
55. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Scartezini M, Guidi GC, et al. Transillumination: a new tool to eliminate the impact of venous stasis during the procedure for the collection of diagnostic blood specimens for routine haematological test-ing. *Int J Lab Hematol* 2011;33:457–62.
56. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Montagnana M, Scartezini M, Picheth G, et al. Elimination of the venous stasis error for routine coagulation testing by transillumination. *Clin Chim Acta* 2011;412:1482–4.
57. Don BR, Sebastian A, Cheitlin M, Christiansen M, Schambelan M. Pseudohyperkalemia caused by fist clenching during venous blood collection. *N Engl J Med* 1990;322:1290–2.
58. Seimiya M, Yoshida T, Sawabe Y, Sogawa K, Umemura H, Matsu-shita K, et al. Reducing the incidence of pseudohyperkalemia by avoiding making a fist during venous blood collection: a quality improvement report. *Am J Kidney Dis* 2010;56:686–92.
59. Ialongo C, Bernardini S. Phlebotomy, a bridge between laboratory and patient. *Biochem Med* 2016;26:17–33.
60. Loh TP, Sethi SK. A multidisciplinary approach to reducing spurious hyperkalemia in hospital outpatient clinics. *J Clin Nurs* 2015;24:2900–6.
61. Lima-Oliveira G, Guidi GC, Salvagno GL, Lippi G. The impact of fist clenching and its maintenance during venipuncture on routine hematology testing. *J Clin Lab Anal* 2017;31. doi: 10.1002/jcla.22108.
62. Lima-Oliveira G, Guidi GC, Salvagno GL, Brocco G, Danese E, Lippi G. Estimation of the imprecision on clinical chemistry test-ing due to fist clenching and maintenance during venipuncture. *Clin Biochem* 2016;49:1364–7.
63. Putz R, Pabst R, editors. *Sobotta: atlas of human anatomy*, 20th ed. Munich, DE: Urban & Schwarzenberg/Elsevier, 1993. Simundic et al.: EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling 23
64. Horowitz SH. Venipuncture-induced causalgia: anatomic relations of upper extremity superficial veins and nerves, and clinical considerations. *Transfusion* 2000;40:1036–40.
65. Ramos JA. Venipuncture-related lateral antebrachial cutaneous nerve injury: what to know? *Braz J Anesthesiol* 2014;64:131–3.
66. Seifert H, Abele-Horn M, Fätkenheuer G, Shah PM. Mikrobiologische-infektiologische Qualitätsstandards (MIQ) – Blutkultur-diagnostik, Urban&Fischer 2007, S.16–27 (in German).
67. Anforderungen an die Hygiene bei Punktionen und Injektionen Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bun-desgesundheitsbl* 2011;54:1135–44. (in German).
68. Patel TG, Shukla RV, Gupte SC. Impact of donor arm cleaning with different aseptic solutions for prevention of contamination in blood bags. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2013;29:17–20.
69. Ibáñez-Cervantes G, Bello-López JM, Fernández-Sánchez V, Domínguez-Mendoza CA, Acevedo-Alfaro LI. Prevalence of bacterial contamination in platelet concentrates at the National Center of Blood Transfusion (Mexico). *Transfus Clin Biol* 2017;24:56–61.
70. Pendlington RU, Whittle E, Robinson JA, Howes D. Fate of ethanol topically applied to skin. *Food Chem Toxicol* 2001;39:169–74.
71. Salvagno GL, Danese E, Lima-Oliveira G, Guidi GC, Lippi G. Avoidance to wipe alcohol before venipuncture is not a source of spurious hemolysis. *Biochem Med* 2013;23:201–5.
72. Lippi G, Simundic AM, Musile G, Danese E, Salvagno G, Tagliaro F. The alcohol used for cleansing the venipuncture site does not jeopardize blood and plasma alcohol measurement with head-space gas chromatography and an enzymatic assay. *Biochem Med* 2017;27:398–403.
73. Hadaway LC, Millam DA. On the road to successful I.V. starts. *Nursing* 2005;35(Suppl On):1–14; quiz 14–6.
74. Cornes M, van Dongen-Lases E, Grankvist K, Ibarz M, Kristensen G, Lippi G, et al. Order of blood draw: opinion paper by the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med* 2017;55:27–31.
75. Smock KJ, Crist RA, Hansen SJ, Rodgers GM, Lehman CM. Discard tubes are not necessary when drawing samples for specialized coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010;21:279–82.
76. Lippi G, Guidi GC. Effect of specimen collection on routine coagulation assays and D-dimer measurement. *Clin Chem* 2004;50:2150–2.
77. Sulaiman RA, Cornes MP, Whitehead S, Othonos N, Ford C, Gama R. Effect of order of draw of blood samples during venous blood collection on routine biochemistry results. *J Clin Pathol* 2011;64:1019–20.

78. Salvagno G, Lima-Oliveira G, Brocco G, Danese E, Guidi GC, Lippi G. The order of draw: myth or science? *Clin Chem Lab Med* 2013;51:2281–5.
79. Cornes MP, Ford C, Gama R. Spurious hyperkalaemia due to EDTA contamination: common and not always easy to identify. *Ann Clin Biochem* 2008;45:601–3.
80. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Incorrect order of draw could be mitigate the patient safety: a phlebotomy management case report. *Biochem Med (Zagreb)* 2013;23:218–23.
81. Sharratt CL, Gilbert CJ, Cornes MP, Ford C, Gama R. EDTA sample contamination is common and often undetected, putting patients at unnecessary risk of harm. *Int J Clin Pract* 2009;63:1259–62.
82. Cadamuro J, Felder TK, Oberkofler H, Mrazek C, Wiedemann H, Haschke-Becher E. Relevance of EDTA carryover during blood collection. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1271–8.
83. Berg JE, Ahee P, Berg JD. Variation in venous blood collection techniques in emergency medicine and the incidence of haemo-lysed samples. *Ann Clin Biochem* 2011;48(Pt 6):562–5.
84. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of short-term venous stasis on clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:869–75.
85. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Guidi GC. Short-term venous stasis influences routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16:453–8.
86. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC. Venous stasis and routine hematologic testing. *Clin Lab Haema-tol* 2006;28:332–7.
87. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Gelati M, Volanski W, et al. Effects of vigorous mixing of blood vacuum tubes on laboratory test results. *Clin Biochem* 2013;46:250–4.
88. Karlsson J, Helmersson-Karlqvist J, Larsson A. Delayed mixing of vacuum tubes clearly affects platelet counts but not haemoglobin concentration and prothrombin time (INR) results. *Int J Lab Hematol* 2013;35:15–7.
89. Clinical Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. CLSI H21-A5 document. 5th ed. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.
90. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Brocco G, Gaino S, Dima F, et al. Processing of diagnostic blood specimens: is it really necessary to mix primary blood tubes after collection with evacuated tube system? *Biopreserv Biobank* 2014;12:53–9.
91. Parenmark A, Landberg E. To mix or not to mix venous blood samples collected in vacuum tubes? *Clin Chem Lab Med* 2011;49:2061–3.
92. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Banfi G, Guidi GC. Evaluation of different mixing procedures for K2 EDTA primary samples on hematological testing. *Lab Med* 2007;38:723–5.
93. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Guidi GC. Influence of primary sample mixing on routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007;18:709–11.
94. Lippi G, Plebani M. Primary blood tubes mixing: time for updated recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:599–600.
95. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Picheth G, Guidi GC. Laboratory diagnostics and quality of blood collection. *J Med Biochem* 2015;34:288–94.
96. Directive 2010/32/EU – prevention from sharp injuries in the hospital and healthcare sector. <https://osha.europa.eu/es/legislation/directives/council-directive-2010-32-eu-prevention-from-sharp-injuries-in-the-hospital-and-healthcare-sector>. Accessed: 20 Jul 2017.
97. Hansen HC, Harboe H, Drenck NE. Bruising after venepuncture. *Ugeskr Laeger* 1989;151:626–7.
98. Blackmore M. Minimising bruising in the antecubital fossa after venipuncture. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;295:332.24 Simundic et al.: EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling
99. Dyson A, Bogod D. Minimising bruising in the antecubital fossa after venipuncture. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;294:1659.
100. Godwin PG, Cuthbert AC, Choyce A. Reducing bruising after venepuncture. *Qual Health Care* 1992;1:245–6.
101. Backman C, Zoutman DE, Marck PB. An integrative review of the current evidence on the relationship between hand hygiene interventions and the incidence of health care-associated infections. *Am J Infect Control* 2008;36:333–48.
102. Vissers D, Matthyssen B, Truijten S, Blommaert S, Van De Velde K, Van Gaal L. Fainting and hemolysis during blood sampling in youngsters: prevalence study. *Int J Nurs Stud* 2008;45:760–4.
103. Martens RJ, Geijselaers SL, Stehouwer CD, Henry RM; Maas-tricht Study Group. Timing of syncope during blood sampling the Maastricht Study. *Eur J Intern Med* 2017;43:e46–7.
104. Graham DT. Prediction of fainting in blood donors. *Circulation* 1961;23:901–6.
105. France CR, France JL, Kowalsky JM, Ellis GD, Copley DM, Geneser A, et al. Assessment of donor fear enhances prediction of presyncopal symptoms among volunteer blood donors. *Transfusion* 2012;52:375–80.
106. Kotter JP. Leading change. Harvard Business Review Press, 1996.
107. Makhumula-Nkhoma N, Whittaker V, McSherry R. Level of confidence in venepuncture and knowledge in determining causes of blood sample haemolysis among clinical staff and phlebotomists. *J Clin Nurs* 2015;24:370–85.
108. Dorotić A, Antončić D, Biljak VR, Nedić D, Beletić A. Hemolysis from a nurses' standpoint—survey from four Croatian hospitals. *Biochem Med (Zagreb)* 2015;25:393–400.
109. Milutinović D, Andrijević I, Ličina M, Andrijević L. Confidence level in venipuncture and knowledge on causes of in vitro hemolysis among healthcare professionals. *Biochem Med (Zagreb)* 2015;25:401–9.
110. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Impact of the phlebotomy training based on CLSI/NCCLS H03-A6- procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. *Biochem Med* 2012;22:342–51.
111. Bölenius K, Lindkvist M, Brulin C, Grankvist K, Nilsson K, Söderberg J. Impact of a large-scale educational intervention program on venous blood specimen collection practices. *BMC Health Serv Res* 2013;13:463.
112. Dukic L, Jokic A, Kules J, Pasalic D. The knowledge and understanding of preanalytical phase among biomedicine students at the University of Zagreb. *Biochem Med* 2016;26:90–7.
113. Simundic AM. Who is doing Phlebotomy in Europe? In: Guder WG, Narayanan S, editors. Pre-examination procedures in laboratory diagnostics. Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results. Berlin, Boston: De Gruyter, 2015.
114. Sciacovelli L, Panteghini M, Lippi G, Sumarac Z, Cadamuro J, Galoro CA, et al. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: a consensus statement on behalf of the IFCC Working Group “Laboratory Error and Patient Safety” and EFLM

- Task and Finish Group "Performance specifications for the extra-analytical phases". *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1478–88.
115. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A, Chiozza ML. Harmonization of pre-analytical quality indicators. *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24:105–13.
 116. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A, Pelloso M, Chiozza ML. Performance criteria and quality indicators for the pre-analytical phase. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:943–8.
 117. Plebani M; EFLM Task Force on Performance Specifications for the extra-analytical phases. Performance specifications for the extra-analytical phases of laboratory testing: why and how. *Clin Biochem* 2017;50:550–4.
 118. Karcher DS, Lehman CM. Clinical consequences of specimen rejection: a College of American Pathologists Q-Probes analysis of 78 clinical laboratories. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138:1003–8.
 119. Lippi G, Bonelli P, Cervellin G. Prevalence and cost of hemolyzed samples in a large urban emergency department. *Int J Lab Hematol* 2014;36:e24–6.
 120. Ong ME, Chan YH, Lim CS. Reducing blood sample hemolysis at a tertiary hospital emergency department. *Am J Med* 2009;122:1054.e1–6.
 121. Simundic AM, Cadamuro J, Cornes J. Biochemia Medica introduces new section: pre-analytical mysteries. *Biochem Med* 2017;27:418–20.
 122. Cornes M. Case report of unexpected hypocalcaemia in a slightly haemolysed sample. *Biochem Med (Zagreb)* 2017;27:426–9.
 123. Cadamuro J, Wiedemann H, Felder TK, Mrazek C, Kipman U, Hannes O, et al. What/s floating on my plasma? *Biochem Med (Zagreb)* 2017;27:430–3.
 124. Lippi G, Simundic AM; European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). The EFLM strategy for harmonization of the preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med* 2017. doi: 10.1515/cclm-2017-0277
 125. Cornes MP, Church S, van Dongen-Lases E, Grankvist K, Guimarães JT, Ibarz M, et al. The role of European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group for Preanalytical Phase in standardization and harmonization of the preanalytical phase in Europe. *Ann Clin Biochem* 2016;53(Pt 5):539–47.

Protocollo operativo per la verifica della comparabilità dei risultati di laboratorio ottenuti su più procedure analitiche

Matteo Vidali¹, Andrea Padoan^{2,7}, Ruggero Dittadi³ per il Gruppo di Studio Statistica per il laboratorio, Duilio Brugnoli⁴, Anna Carobene⁵, Sonia Mattioli⁶ per il Gruppo di Studio Qualità Analitica, Laura Sciacovelli⁷, Ferruccio Ceriotti⁸ per il Gruppo di Studio Qualità e Accreditamento.

¹SCDU Biochimica Clinica, AOU Maggiore della Carità, Novara

²Dipartimento di Medicina-DIMED, Università degli Studi di Padova

³Laboratorio Analisi, Ospedale dell'Angelo, ULSS 3 Serenissima, Mestre

⁴Laboratorio Analisi, ASST Spedali Civili di Brescia

⁵Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale San Raffaele, Milano

⁶Laboratorio di Patologia Clinica, ASST Valcamonica, Esine (BS)

⁷Unità Operativa Complessa Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale-Università degli Studi di Padova

⁸Laboratorio Analisi, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

ABSTRACT

Protocol to verify the comparability of quantitative laboratory results obtained with different measurement procedures. With the growth and merging of clinical laboratories, very frequently analytical tests are performed on multiple instruments within one or multiple locations. In these situations, there is the need of verifying the comparability of patient results obtained with different analysers and/or different measurement procedures. The importance of this verification is further emphasised when considering that it is included into the ISO 15189 specifications. This protocol provides step-by-step guidance on how to assess results comparability in different scenarios. Up to four experimental designs are presented to meet laboratories' needs, with details and examples on frequency of testing, definition of acceptability criteria, samples selection, sample size calculation, statistical analysis and reporting.

INTRODUZIONE

Oltre il 60-70% delle decisioni mediche si basa sui risultati di esami di laboratorio; le attività svolte dal laboratorio clinico (in termini di numerosità di analisi effettuate, complessità del repertorio degli esami disponibili e delle modalità di erogazione del servizio, 24 ore su 24 e 365 giorni all'anno) sono in progressivo incremento; l'esigenza di garantire da un lato la qualità, l'efficacia e la sicurezza del paziente e, dall'altro, di contenere i costi, porta al consolidamento del numero delle strutture eroganti e alla razionalizzazione degli esami disponibili (1-8).

Uno degli elementi che caratterizza molti dei mutamenti sopra descritti è rappresentato dall'utilizzo di più di una procedura analitica (in genere da due a

quattro) per la determinazione degli stessi misurandi.

In questo contesto, il livello di comparabilità dei risultati relativi allo stesso misurando determinato su più procedure analitiche, sia identiche che diverse, diventa un elemento fondamentale da valutare e monitorare nelle procedure di assicurazione della qualità, in modo da garantire l'armonizzazione e l'intercambiabilità nello spazio e nel tempo dei risultati, e di non dar luogo a misinterpretazioni nel processo clinico-decisionale.

Le occasioni in cui il professionista di laboratorio è impegnato nel garantire la comparabilità dei risultati sono numerose ed eterogenee. Un esempio non esaustivo è rappresentato dalle seguenti situazioni: la necessità di erogare esami in tempi brevi (esami in regime di urgenza/emergenza), garantendo la continuità del servizio in caso di interruzioni contingenti (ad

Corrispondenza a: Matteo Vidali, SCDU Biochimica Clinica, AOU Maggiore della Carità, c.so Mazzini 18, 28100 Novara, Tel: +3903213733036; E-mail matteo.vidali@gmail.com

Ricevuto: 12.05.2019

Revisionato 16.05.2019

Accettato: 16.05.2019

Pubblicato on-line: 23.05.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.047

esempio guasto di uno strumento o sospensione delle attività per interventi programmati); la presenza di più laboratori all'interno della stessa area geografica (ad esempio quelli organizzati secondo il modello hub & spoke); la necessità di erogare esami in prossimità del sito di cura del paziente [ad esempio Point of Care testing (POCT)], oppure laboratori satelliti situati vicino a percorsi terapeutici mirati, come gli ambulatori per le terapie chemioterapiche o quelli per il monitoraggio della terapia anticoagulante. Inoltre, può essere necessario valutare il livello di comparabilità dei risultati anche in concomitanza di variazioni nel lotto di reagenti e/o calibratori, nuove calibrazioni, manutenzioni o altre operazioni routinarie o straordinarie a carico di una sola procedura analitica (9).

L'importanza della necessità di valutare questo aspetto è confermata dal fatto che esso rientra tra i requisiti dello Standard Internazionale per l'Accreditamento dei laboratori medici, la norma ISO 15189:2012 (10). Al punto 5.6.4, infatti, si declina la necessità di definire delle modalità per confrontare procedure, strumenti e metodi e di stabilire la comparabilità dei risultati ottenuti sui campioni dei pazienti lungo intervalli clinicamente appropriati. Si richiede, inoltre, che il laboratorio informi gli utenti di eventuali differenze evidenziate e discuta con loro le possibili implicazioni per la pratica clinica. Infine, il laboratorio deve documentare e registrare le verifiche effettuate, agendo rapidamente con opportune azioni correttive qualora gli esperimenti di comparabilità evidenzino problemi o carenze significative.

Da un punto di vista concettuale, possono ritenersi comparabili i risultati le cui differenze non superano un valore di accettabilità definito tenendo conto dell'impatto che le differenze osservate tra i risultati hanno sull'interpretazione e decisione clinica nella situazione specifica in cui vengono valutati (11).

L'elemento chiave nella pianificazione di una procedura per la verifica della comparabilità dei risultati è quindi la definizione del limite massimo di accettabilità delle differenze tra i risultati ottenuti dalle procedure analitiche considerate. A questo proposito, in letteratura sono numerosi gli esempi che utilizzano le specifiche di qualità basate sulla gerarchia di cinque modelli stabilita durante la conferenza di Stoccolma del 1999 (12), rivista e semplificata in soli tre modelli durante la prima conferenza strategica di EFLM, svoltasi a Milano nel 2014 (11, 13). In particolare, per fissare limiti di bias e/o di imprecisione, il criterio ampiamente utilizzato si basa sulla variabilità biologica (VB) (14-20).

Nel pianificare una procedura per la verifica della comparabilità dei risultati, occorre inoltre tener conto di tutte le variabili che possono influire sulla definizione delle modalità di esecuzione delle verifiche e che possono condizionare la loro realizzazione ed il risultato finale.

Il grado di standardizzazione/armonizzazione delle procedure analitiche messe a confronto è un primo importante aspetto da prendere in considerazione

(21,22). Gli schemi sperimentali delle prove, infatti, potrebbero essere differenti nel caso in cui le procedure analitiche da confrontare siano identiche (ad esempio strumenti gemelli all'interno di un CoreLab), parzialmente sovrapponibili (ad esempio metodi diversi ma tracciabili agli stessi standard di riferimento) o completamente differenti (ad esempio strumento principale in laboratorio e strumento POCT in sede decentrata).

Analogamente, la tipologia di campioni utilizzati negli esperimenti possono rappresentare un elemento critico quando si usano materiali di controllo, soprattutto per problemi di commutabilità nei confronti delle procedure analitiche messe a confronto (23). Anche in questo caso è possibile contrapporre una situazione ideale (utilizzo di campioni di pazienti) ad altre meno ottimali (utilizzo di materiali di controllo sintetici), ma che possono mantenere una loro validità qualora le procedure analitiche messe a confronto siano identiche o comunque riferibili agli stessi standard metrologici.

Per questi motivi, i gruppi di studio SIBioC "Statistica per il Laboratorio", "Qualità analitica" e "Qualità e Accreditamento" hanno ritenuto opportuno sviluppare un protocollo per la verifica della comparabilità dei risultati tra procedure analitiche, identiche o differenti, caratterizzato dai quattro diversi disegni sperimentali riportati di seguito.

- Disegno 1: utilizzo di replicati di campioni singoli (o pool) di pazienti o materiali di controllo commutabili a 2 (massimo 3) livelli di concentrazione scelti dal laboratorio.
- Disegno 2: utilizzo di dati pregressi del Controllo di Qualità Interno (CQI) a 2 (massimo 3) livelli di concentrazione scelti dal laboratorio.
- Disegno 3: utilizzo di una serie di campioni di pazienti aventi concentrazione del misurando all'interno di un intervallo del $\pm 25\%$ rispetto a 2 (massimo 3) livelli di concentrazione scelti dal laboratorio.
- Disegno 4: utilizzo di campioni di pazienti selezionati in un intervallo di concentrazione più ampio possibile.

Al di là delle peculiarità dei differenti disegni, descritte nei paragrafi dedicati, il protocollo può essere riassunto nelle 4 fasi schematizzate in Figura 1:

- fase di pianificazione;
- fase di raccolta dei dati sperimentali;
- fase di analisi statistica dei dati;
- fase decisionale.

Durante la prima fase, vengono raccolte informazioni sulle caratteristiche e sulle prestazioni analitiche delle procedure messe a confronto, vengono definiti la frequenza di esecuzione delle verifiche e i limiti di accettabilità del bias e viene selezionato il disegno sperimentale (inclusi i materiali, i livelli di concentrazione ed il numero dei replicati). Nella seconda fase vengono raccolti i campioni o i dati (nel caso del disegno 2) e viene condotto l'esperimento di verifica della comparabilità delle procedure analitiche. Nella terza

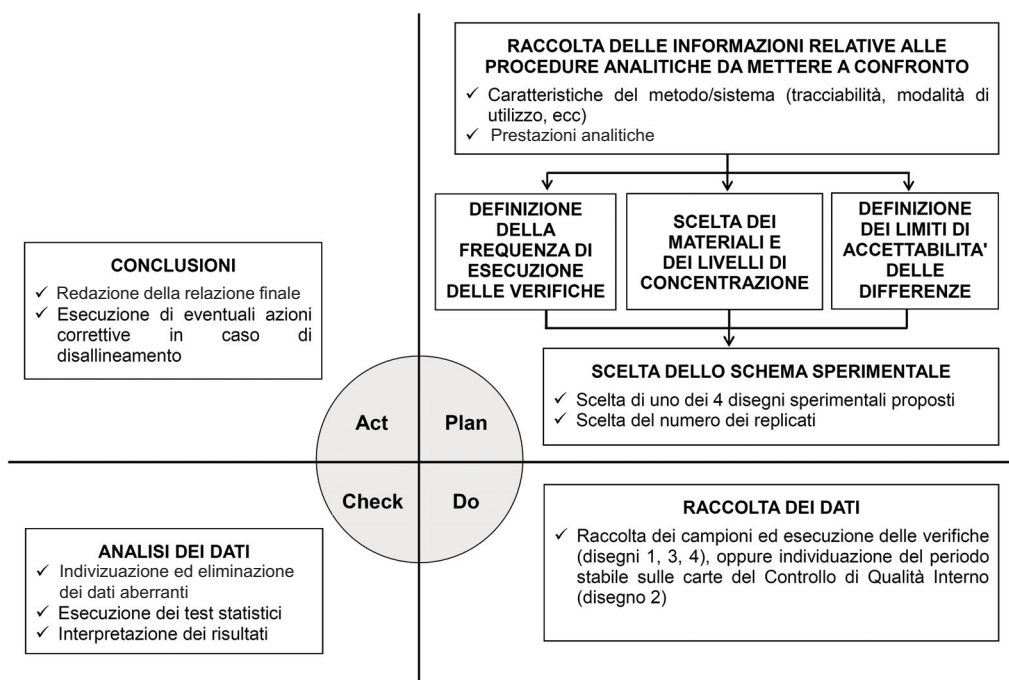


Figura 1
Sequenza delle fasi di pianificazione e implementazione delle attività.

fase, i dati ottenuti vengono analizzati tramite opportuni metodi statistici (test per dati aberranti, calcolo dell'intervallo di confidenza del bias). Infine, nell'ultima fase, sulla base dell'analisi statistica, vengono definite le eventuali azioni correttive in caso di disallineamento e viene redatta una relazione finale.

Nei prossimi paragrafi queste fasi saranno trattate nel dettaglio, fornendo elementi teorici e suggerimenti per una migliore comprensione e una più facile conduzione dell'esperimento di verifica della comparabilità dei risultati di laboratorio. Inoltre, nel materiale supplementare (S1) allegato a questo protocollo sono mostrati 4 esempi pratici in cui vengono applicati i 4 disegni presentati.

Scopo e campo di applicazione

Lo scopo di questo documento è quello di definire un protocollo operativo, facilmente applicabile, per la verifica della comparabilità dei risultati (comunemente conosciuta nei laboratori clinici come allineamento strumentale) ottenuti da due o più procedure analitiche, uguali o differenti (per produttore, modello, reagenti e/o calibratori), localizzate nello stesso laboratorio o in laboratori diversi, o tra situazioni analitiche differenti (ad esempio per variazioni significative in seguito a cambio di lotto dei reattivi), utilizzando validi metodi statistici e opportuni criteri di accettabilità.

In questo documento, per "procedura analitica" si intende l'insieme delle procedure, apparecchiature e

metodi utilizzati per la determinazione dei valori dei misurandi (10).

Il protocollo è applicabile a tutte le procedure analitiche che producano risultati quantitativi su scala continua.

Il protocollo assume, inoltre, che le procedure analitiche oggetto della verifica operino entro parametri di qualità fissati dal singolo laboratorio, in accordo a specifiche di qualità definite a livello nazionale o internazionale.

La sola verifica della comparabilità dei risultati non garantisce che i risultati ottenuti dalle procedure analitiche oggetto della valutazione siano accurati, ma solo che i risultati forniti dalle varie procedure analitiche siano tra loro comparabili, in accordo con i criteri definiti in questo documento.

PROTOCOLLO OPERATIVO

Raccolta delle informazioni relative alle procedure analitiche da mettere a confronto

Prima di iniziare la verifica della comparabilità dei risultati ottenuti su più di una procedura analitica, è utile essere a conoscenza delle caratteristiche delle procedure analitiche messe a confronto, in particolare principio del metodo, tipologia di reagenti e calibratori, tracciabilità metrologica della procedura analitica,

intervalli di riferimento, imprecisione, esattezza, e quant'altro.

Ai fini dell'applicazione di questo protocollo, è necessario conoscere l'imprecisione intermedia (o entro il laboratorio) a vari livelli di concentrazione (almeno due livelli e comunque in corrispondenza di eventuali valori decisionali) dei misurandi per le differenti procedure analitiche (24). Questa informazione può essere ottenuta revisionando i dati dei CQI relativi ad un lungo periodo (4-6 mesi).

Definizione della frequenza di esecuzione delle verifiche

Sono riportate di seguito le tempistiche suggerite per la verifica:

- Tempo 0: verifica della comparabilità dei risultati in riferimento allo stesso misurando ottenuti su più di una procedura analitica (25-26).
- Periodico (in relazione alla numerosità, alla frequenza di esecuzione dell'esame e alle risorse del laboratorio): si consiglia di effettuare la verifica con periodicità semestrale. Periodicità inferiori ai 6 mesi (definite sulla base delle strategie ed esigenze del laboratorio ed approvate dal direttore) sono auspicabili in particolare per quei misurandi con elevato numero di richieste e misurati quotidianamente.
- Straordinario: la verifica può essere effettuata, se necessario, ogni volta che si evidenzino situazioni fuori controllo del sistema (come per esempio il superamento di traguardi analitici, le VEQ fallite, le modifiche sostanziali dei parametri di qualità analitica sotto controllo).
- Nuovo strumento: prima dell'introduzione di utilizzo di una procedura nuova analitica, deve essere effettuata la verifica della comparabilità tra la procedura analitica in uso e quella di nuova introduzione, in accordo allo specifico protocollo (26), al fine di evidenziare variazioni che possano inficiare l'interpretazione dei risultati. Una volta stabilita la comparabilità tra metodi, deve essere verificata la comparabilità dei risultati tra tutte le procedure analitiche in uso (Tempo 0).

Scelta dei materiali con cui eseguire le verifiche

Materiali utilizzabili:

- Campioni di pazienti: sono il materiale di scelta per la verifica della comparabilità dei risultati. Non devono essere utilizzati campioni contenenti noti interferenti. Lo svantaggio principale dell'utilizzo di campioni singoli consiste nella scarsità del materiale, qualora il campione debba essere utilizzato per la verifica su numerose strumentazioni.
- Pool di campioni di pazienti (compresi pool preparati e congelati): il principale vantaggio consiste nella disponibilità di materiale e nella diluizio-

ne di eventuali interferenti; tuttavia, il mescolamento ed il congelamento di campioni possono causare artefatti, per cui la letteratura suggerisce di verificare la commutabilità del pool prima dell'utilizzo (27-28).

- Materiali di controllo e materiali per VEQ: presentano il vantaggio di essere facilmente reperibili; tuttavia, a meno che ne sia dimostrata o verificata la commutabilità (27), possono essere utilizzati per valutare la comparabilità solo delle procedure analitiche identiche (identica strumentazione, in riferimento al produttore e al modello, ed identico produttore e lotto per reagenti e calibratori).

Definizione dei limiti di accettabilità delle differenze

Per stabilire se due o più procedure analitiche forniscono risultati comparabili, è necessario verificare se le differenze riscontrate siano inferiori a un limite massimo di scostamento accettabile, stabilito a priori, che in questo documento è definito "bias massimo accettabile".

Dei tre modelli da cui derivare i goal analitici, definiti nella prima conferenza strategica della EFLM di Milano (11, 13, 29-37), questo protocollo, ai fini dell'applicabilità e dell'operatività, suggerisce l'utilizzo dei modelli basati sullo "stato dell'arte" (38-44) o sulla VB del misurando (30, 45-59). La scelta di uno dei modelli spetta al laboratorio sulla base delle caratteristiche della procedura analitica oggetto di valutazione e sullo scopo d'uso dell'esame.

Modello basato sullo stato dell'arte

Definito l'errore totale accettabile (ET_A) sulla base delle evidenze presenti in letteratura, il bias massimo accettabile sarà calcolato secondo la seguente formula:

$$\text{bias}_{\max} \% = ET_A \% - 1,65 CV_A$$

oppure $\text{bias}_{\max} = ET_A - 1,65 DS_A$

dove $ET_A \%$ o ET_A rappresenta l'errore totale accettabile scelto (espresso rispettivamente in percentuale o nelle stesse unità del misurando), CV_A l'imprecisione analitica entro il laboratorio espressa in %, e DS_A l'imprecisione espressa nelle stesse unità di misura del misurando.

Il bias massimo accettabile deve essere calcolato utilizzando il CV_A o la DS_A maggiore tra tutte le procedure analitiche oggetto di verifica. Inoltre, poiché l'imprecisione generalmente varia lungo l'intervallo di concentrazione, è necessario calcolare il bias massimo accettabile in varie regioni dell'intervallo di misura (cioè se si scelgono 2 livelli di concentrazione, sarà necessario calcolare le imprecisioni alle due concentrazioni o in prossimità di queste e usare l'imprecisione maggiore per calcolare il bias, ottenendo il bias minore).

Nel caso si utilizzino goal analitici fissati da autorevoli organizzazioni e dai Provider di VEQ, ed il Provider

indichi i limiti di accettabilità del risultato della VEQ (considerato ET_A) come scarto z del proprio gruppo di metodo, è necessario ricalcolare il valore $ET_A\%$ utilizzando la DS e la concentrazione del materiale utilizzato per la VEQ. In questo caso occorre utilizzare l' ET_A corrispondente alla concentrazione (il più vicina possibile) dei campioni utilizzati per la verifica della comparabilità dei risultati, che deve essere calcolato come media dei valori ottenuti nei differenti esercizi su materiali di concentrazione simile.

Modello basato sulla variabilità biologica del misurando

La letteratura più recente (20) suggerisce di utilizzare un bias massimo accettabile pari a $0,33 CV_I$ (o $CV_I/3$), dove CV_I rappresenta la VB intraindividuale. Occorre, tuttavia, notare che questo traguardo si ottiene quando i CV_A delle due procedure analitiche sono entrambi uguali e molto prossimi allo 0%. In presenza di imprecisioni analitiche $>0\%$, ma comunque entro il valore desiderabile ($\leq 0,5 CV_I$), è necessario ricalcolare il valore di bias massimo accettabile per una determinata coppia di procedure analitiche sulla base della VB di quel particolare misurando. Infatti, dati i valori di CV_{A1} , CV_{A2} (imprecisioni analitiche delle 2 procedure analitiche) e CV_I , il bias massimo accettabile risulta uguale a (20):

$$bias_{max}\% = 3,10CV_I - 1,96 \times \sqrt{CV_{A1}^2 + CV_{A2}^2 + 2CV_I^2}$$

In presenza di K procedure analitiche, prese a due a

due, con $K(K-1)/2$ possibili bias, si selezionerà il bias minore (soluzione più conservativa).

È necessario sottolineare che il bias massimo accettabile, calcolato secondo il modello della VB con la formula presentata, andrebbe utilizzato in particolare per analiti, sotto controllo omeostatico, impiegati prevalentemente per il monitoraggio nel tempo. Inoltre, anche alla luce dei recenti dati di European Biological Variation Study (EuBIVAS) (46-59), tale bias potrebbe risultare troppo ridotto e difficilmente verificabile o raggiungibile dalle strumentazioni attualmente disponibili.

In alternativa, il protocollo raccomanda l'utilizzo della formula descritta per il modello "stato dell'arte":

$$bias_{max}\% = ET_A\% - 1,65CV_A$$

dove CV_A rappresenta l'imprecisione analitica entro il laboratorio e $ET_A\%$ l'errore totale accettabile derivato dai dati di VB e reperibile in letteratura.

DISEGNI SPERIMENTALI

In questo protocollo sono presentati 4 diversi disegni sperimentali per verificare la comparabilità dei risultati ottenuti su due o più procedure analitiche per lo stesso misurando. Le differenze tra i singoli disegni dipendono dai materiali utilizzati, dalla numerosità campionaria, dai metodi statistici e dalle risorse disponibili per la conduzione dell'esperimento. La Tabella 1 illustra brevemente una comparazione dei differenti schemi proposti.

Tabella 1

Confronto dei 4 disegni sperimentali proposti per la verifica della comparabilità dei risultati ottenuti su più di una procedura analitica per lo stesso misurando.

Disegno	Descrizione	Dimensione campionaria	Vantaggi	Svantaggi
1	Replicati di campioni singoli (o pool) di pazienti o materiali di controllo commutabili (commutabilità dimostrabile con evidenze oggettive) a 2 (massimo 3) livelli di concentrazione scelti dal laboratorio	Determinata da criteri statistici	- Verifica di bias assoluti e/o percentuali ad una specifica concentrazione - potenza statistica predefinita	- Maggiori costi - necessità di adeguate quantità di materiale - difficoltà di programmazione del protocollo (ripetizione campioni) su alcune piattaforme automatizzate
2	Dati pregressi del CQI a 2 (massimo 3) livelli di concentrazione scelti dal laboratorio.	Determinata da criteri statistici	- Verifica di bias assoluti e/o percentuali ad una specifica concentrazione - potenza statistica predefinita - utilizzo di dati già disponibili (costo zero) - maggiore frequenza di verifica	- Necessaria commutabilità dei materiali di controllo, in caso contrario il disegno è utilizzabile solo se le procedure analitiche sono identiche (stessi strumenti, stesso lotto reagenti, stesso calibratore) - comparabilità dei risultati verificabile solo alle concentrazioni dei materiali di controllo
3	Serie di campioni di pazienti aventi concentrazione del misurando all'interno di un intervallo del $\pm 25\%$ rispetto a 2 (massimo 3) livelli di concentrazione scelti dal laboratorio.	Determinata da criteri statistici	- Verifica di bias assoluti e/o percentuali - potenza statistica predefinita - minori costi rispetto al disegno 1	Non facile reperimento dei campioni

Tabella 1
Continua

Disegno	Descrizione	Dimensione campionaria	Vantaggi	Svantaggi
4	Campioni di pazienti lungo un ampio intervallo di concentrazioni	Fissa	- Minori costi rispetto al disegno 1 - semplicità di esecuzione - valutazione della comparabilità dei risultati su un ampio intervallo di misura	- Potenza statistica non determinata - necessità di verificare la distribuzione delle differenze

La scelta di uno dei disegni proposti è sotto la responsabilità del direttore del laboratorio e potrà dipendere dalle diverse situazioni, tra cui le risorse disponibili presso la struttura, il bias massimo accettabile per il misurando in studio e le prestazioni della procedura analitica. Tuttavia, il presente protocollo suggerisce alcune situazioni in cui un disegno è preferibile agli altri (i disegni sono elencati in ordine di preferenza, così come suggerito dagli autori del protocollo) (Tabella 2).

Qualora debbano essere comparate procedure analitiche identiche, il protocollo raccomanda l'utilizzo del disegno 2 e, qualora sia necessario valutare in un secondo tempo la comparabilità tra le procedure anche con campioni umani oppure in presenza di risultati non comparabili, i disegni 3-4 o il disegno 1 (terza scelta in considerazione dell'onerosità del disegno sperimentale).

Se le procedure analitiche non fossero identiche, il disegno 2 non potrebbe essere utilizzato, a meno di dimostrare la commutabilità dei materiali di controllo, ed il protocollo raccomanda l'utilizzo dei disegni 3 o 4 e, come seconda opzione, il disegno 1.

Infine, per verificare la comparabilità tra procedure analitiche e POCT, il protocollo raccomanda i disegni 4 o 3 e, come seconda opzione il disegno 1. Si noti, tuttavia, che nell'eventualità relativamente frequente che le procedure analitiche e i POCT presentassero variazioni di ripetibilità molto differenti, sarebbe necessario utilizzare le formule modificate per i disegni 1 e 3 come descritto nei rispettivi paragrafi.

Disegno 1 (replicati di campioni singoli o in pool o materiali di controllo commutabili)

Il disegno 1 può essere utilizzato per valutare dettagliatamente (ad esempio per approfondire un disallineamento tra procedure evidenziato con uno degli altri 3 disegni) la comparabilità dei risultati ad una specifica concentrazione. Rappresenta, tuttavia, una procedura onerosa in termini di risorse economiche, tempo e personale. Inoltre, una limitazione di questo disegno è rappresentata dalla necessità di disporre di un'adeguata quantità di materiale, poiché N replicati dello stesso campione devono essere analizzati su più procedure analitiche. Infine, con alcune piattaforme automatizzate, i replicati potrebbero essere analizzabili solo caricando i campioni fronte-macchina, appesantendo ulteriormente la procedura.

Materiali utilizzabili

Replicati di campioni di pazienti, singoli o in pool, o materiali di controllo commutabili.

Livelli di concentrazione

La verifica deve essere effettuata a 2 livelli di concentrazione (massimo 3), eventualmente prossimi a limiti decisionali, ove presenti per il misurando in esame, e comunque entro $\pm 25\%$ dalla concentrazione a cui è stata calcolata l'imprecisione entro il laboratorio.

Tabella 2
Possibile utilizzo dei differenti disegni sperimentali

Situazione	Disegno consigliato (in ordine di preferenza)
Procedure analitiche identiche (produttore e modello dello strumento, lotto per reagenti e calibratori) (no POCT)	1) disegno 2 2) disegni 3 o 4 3) disegno 1
Procedure analitiche non identiche (no POCT)	1) disegni 3 o 4 2) disegno 1
Procedure analitiche identiche e non identiche e POCT	1) disegni 4 o 3 2) disegno 1

Numero di replicati

Per il calcolo del numero di replicati r , è necessario fissare, oltre ad α , o errore di I tipo (probabilità di concludere erroneamente che le due procedure analitiche non sono comparabili quando in realtà lo sono), la potenza che in genere è pari a 0,8 (cioè con errore di secondo tipo o beta pari a 0,2), il bias massimo accettabile e l'imprecisione di misura. Definite le varie grandezze, si ha quindi che il numero dei replicati, quando $K=2$, per ogni procedura analitica è:

$$r = 2 \left[\frac{(z_\alpha + z_\beta) \sigma}{d} \right]^2,$$

dove:

- z_α dipende dal livello di significatività ($z=1,96$ per $\alpha=0,05$),
- z_β dipende dalla potenza statistica ($z=0,842$ per potenza=0,80; $z=1,282$ per potenza=0,90),
- σ = media delle imprecisioni entro il laboratorio delle 2 procedure analitiche
- d è il bias massimo accettabile con quella determinata potenza.

Nel calcolo di r è possibile utilizzare σ e d (entrambi in valore assoluto, cioè nelle stesse unità del misurando) oppure CV% e bias% (entrambi in valore percentuale). È da considerare che per $\sigma > d$, o per CV% > bias%, il numero di replicati aumenta molto velocemente e potrebbe essere necessario considerare un bias basato su un modello differente perché troppo oneroso in termini di risorse.

Nel caso di $K \geq 3$ procedure analitiche, per definire la dimensione campionaria, per ogni procedura analitica si procede come riportato di seguito:

Tabella 3

Calcolo della dimensione campionaria al variare di f e K , fissati $\alpha=0,05$ e potenza=0,80

K	f											
	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80
3	1286	323	144	82	53	37	28	22	14	10	8	7
4	1092	274	123	70	45	32	24	19	12	9	7	6
5	956	240	108	61	40	28	21	16	11	8	6	5
6	857	215	96	55	36	25	19	15	10	7	6	5
7	780	196	88	50	33	23	17	14	9	7	5	5
8	719	181	81	46	30	21	16	13	9	6	5	4
9	669	168	76	43	28	20	15	12	8	6	5	4
10	627	158	71	40	26	19	14	11	8	6	5	4
11	592	149	67	38	25	18	13	11	7	5	4	4
12	561	141	64	36	24	17	13	10	7	5	4	4
13	535	135	61	35	23	16	12	10	7	5	4	3
14	511	129	58	33	22	15	12	9	6	5	4	3
15	490	124	56	32	21	15	11	9	6	5	4	3

- si calcola il parametro

$$f = \frac{d}{\sigma} \times \frac{1}{2} \times \sqrt{\frac{(K+1)}{3(K-1)}}$$

dove d è il bias che si vuole identificare e σ la variabilità dei dati, ottenuta come media delle imprecisioni entro il laboratorio delle procedure analitiche da valutare;

- fissato $\alpha=0,05$, potenza=0,8, K =numero delle procedure analitiche e calcolato f , si cerca il valore della dimensione campionaria (numero di replicati r per ogni procedura analitica) utilizzando la Tabella 3.

Si consiglia comunque di utilizzare un numero di replicati NON inferiore a 5. Poiché il calcolo del numero di replicati dipende dall'imprecisione analitica (che può essere diversa lungo l'intervallo di concentrazione), si consiglia, a scopo conservativo, di utilizzare l'imprecisione analitica maggiore per ogni procedura analitica (e quindi il numero di replicati maggiore).

Conduzione dell'esperimento

Gli r replicati dei 2 (massimo 3) campioni (singoli o pool o materiali di controllo commutabili) sono misurati nella stessa serie analitica sulle $K \geq 2$ strumentazioni.

Analisi statistica

Individuazione ed eliminazione dei dati aberranti (outliers). Per ogni procedura, la lettura dei replicati r va eseguita in un'unica serie analitica. Nel caso in cui si individuino dati aberranti, occorre effettuare ulteriori misure fino ad ottenere gli r replicati previsti. La verifica

della presenza di aberranti è effettuata in primo luogo graficamente, valutando la distribuzione dei dati tramite dot plot oppure box plot, e successivamente tramite test statistico (test di Grubbs).

Per eseguire il test di Grubbs è necessario (60):

- calcolare, separatamente per ogni livello di concentrazione, la media e la DS di tutti gli r replicati dell'esperimento (calcolo da effettuare separatamente per ogni procedura analitica);
- individuare il valore di G dipendente da r (Tabella 4);
- calcolare i limiti dell'intervallo di accettabilità come $\text{media} \pm G \times \text{DS}$. Il valore più estremo ed esterno a questo intervallo è considerato valore aberrante. Il test di Grubbs identifica un valore aberrante alla volta ed è quindi necessario applicare più volte il test all'insieme dei dati rimasti dopo aver eliminato il sospetto aberrante (per eseguire il test di Grubbs si consiglia una numerosità minima di dati >6).

Tabella 4

Tavola dei valori critici per il test di Grubbs

r	G	r	G	r	G
5	1,7637	20	3,0008	70	3,6217
10	2,4821	25	3,1353	80	3,6729
15	2,8061	30	3,2361	90	3,7163
16	2,8521	35	3,3160	100	3,7540
17	2,8940	40	3,3807	120	3,8167
18	2,9325	50	3,4825	200	3,9777
19	2,9680	60	3,5599	300	4,0935

Esecuzione dei test statistici per la valutazione del bias. Per $K=2$ procedure analitiche, dette M_1 e M_2 le medie degli r replicati analizzati sulle due procedure analitiche, si calcola l'intervallo di confidenza della differenza in valore assoluto delle due medie:

$$95\%IC = |M_1 - M_2| \pm t_{(\alpha=0,05;gl=2r-2)} S \sqrt{\frac{2}{r}}$$

dove t è ricavato dalla Tabella 5 con gradi di libertà $gl=2r-2$, e

$$S = \sqrt{(DS_1^2 + DS_2^2)/2}$$

è la radice quadrata della media delle varianze dei replicati.

Il modulo di $M_1 - M_2$, o $|M_1 - M_2|$, rappresenta il bias stimato tra le due procedure analitiche. Eventuali altri valori di t possono essere ottenuti dalla Tabella 5 per interpolazione oppure utilizzando MS Excel con le formule =INVT(0,975;gl), oppure =INV.T(0,05;gl) (a seconda della versione software utilizzata), dove gl sono i gradi di libertà calcolati.

Tabella 5

Tavola dei valori di t per $\alpha=0,05$, a 2 code

gl	t	gl	t	gl	t	gl	t
4	2,776	22	2,074	40	2,021	58	2,002
6	2,447	24	2,064	42	2,018	60	2,000
8	2,306	26	2,056	44	2,015	70	1,994
10	2,228	28	2,048	46	2,013	80	1,990
12	2,179	30	2,042	48	2,011	90	1,987
14	2,145	32	2,037	50	2,009	100	1,984
16	2,120	34	2,032	52	2,007	110	1,982
18	2,101	36	2,028	54	2,005	120	1,980
20	2,086	38	2,024	56	2,003	Inf	1,960

gl, gradi di libertà

Mentre con $K=2$ procedure analitiche si ha un unico bias stimato (differenza tra le 2 medie) e relativo intervallo di confidenza, con $K \geq 3$ il numero di intervalli di confidenza aumenta, e risulta uguale a $K(K-1)/2$. È necessario considerare il numero di tutti i confronti possibili (dipendente da K) nel calcolo degli intervalli di confidenza, in quanto, in caso contrario, aumenterebbe l'errore alfa, o di tipo I, e quindi il numero di falsi positivi, cioè il numero di presunte situazioni di non comparabilità dei risultati quando in realtà le procedure analitiche forniscono risultati comparabili.

Per $K \geq 3$ procedure analitiche si procede quindi:

- calcolando le K medie (M_1, M_2, \dots, M_K) e le K deviazioni standard (DS_1, DS_2, \dots, DS_K);
- per ogni possibile confronto, si calcola la differenza tra 2 medie in valore assoluto (ad esempio $|M_1 - M_2|, |M_1 - M_3|, \dots, |M_{K-1} - M_K|$) per un totale di $K(K-1)/2$ differenze;
- per ogni possibile confronto, si calcola l'intervallo di confidenza della differenza in valore assoluto di due medie:

$$95\%IC = |M_i - M_j| \pm q_{(K,K(r-1),\alpha=0,05)} S \sqrt{(1/r)}$$

dove $|M_i - M_j|$ rappresenta una delle $K(K-1)/2$ differenze osservate tra 2 delle K procedure analitiche in valore assoluto, S la radice quadrata della media di tutte le K varianze e con q ricavato dalla distribuzione del Range Studentizzato (distribuzione di Tukey) con K e $K(r-1)$ gradi di libertà (vedi tabella nell'Appendice A, [SII](#)).

Le procedure sopradescritte per $K=2$ o $K \geq 3$ procedure analitiche, sono valide se le varianze dei replicati ottenuti con le due procedure analitiche sono simili. Poiché il numero dei replicati per le due procedure analitiche è uguale, tale requisito può essere generalmente considerato valido quando il rapporto tra

la varianza maggiore e quella minore è inferiore a 3. In caso contrario il calcolo dell'intervallo di confidenza deve essere modificato:

-per K=2 procedure analitiche:

$$95\%IC = |M_1 - M_2| \pm t_{(\alpha=0.05; gl=v)} \sqrt{\frac{DS_1^2}{r} + \frac{DS_2^2}{r}}$$

dove t è ricavato dalla Tabella 5 e DS_1^2 e DS_2^2 sono le varianze dei replicati analizzati rispettivamente sulle due procedure analitiche. Inoltre, i gl per t non sono più uguali a $2r-2$, ma calcolati con:

$$v = \frac{[(DS_1^2/r) + (DS_2^2/r)]^2}{[(DS_1^2/r)^2/(r-1) + (DS_2^2/r)^2/(r-1)]}$$

e arrotondati all'intero.

-per $K \geq 3$ procedure analitiche:

$$95\%IC = |M_i - M_j| \pm \frac{1}{\sqrt{2}} q_{(K;v;\alpha=0.05)} \sqrt{\frac{DS_i^2}{r} + \frac{DS_j^2}{r}}$$

dove $|M_i - M_j|$ rappresenta una delle $K(K-1)/2$ differenze in valore assoluto tra 2 delle K procedure analitiche, DS_i^2 e DS_j^2 sono le varianze dei replicati analizzati rispettivamente su due delle K procedure analitiche e con q ricavato dalla distribuzione del Range Studentizzato con K e v gradi di libertà (distribuzione di Tukey - Appendice A, SII). A differenza del caso con varianze simili, dove i gradi di libertà sono $K(r-1)$, nel caso di varianze diverse il numero di gradi di libertà si trova arrotondando per eccesso con:

$$v = \frac{(r-1)(DS_i^2 + DS_j^2)^2}{DS_i^4 + DS_j^4}$$

Si noti, a differenza della formula utilizzata in caso di varianze simili, la presenza del fattore moltiplicativo $1/\sqrt{2}$.

Generalmente, nella verifica della comparabilità dei risultati ottenuti su piattaforme automatizzate, ci si aspetta di osservare varianze simili. L'inclusione di formule, per gestire la valutazione anche in caso di procedure analitiche con varianze differenti, consente l'estensione di questo protocollo anche ai POCT. Le verifiche tra procedure analitiche utilizzate in laboratorio e POCT possono, come riportato in precedenza, essere condotte anche utilizzando il disegno 4.

Disegno 2 (dati del controllo di qualità interno)

La procedura è applicabile solo se i materiali sono commutabili (oppure quando le procedure analitiche sono identiche: stessi strumenti, lotto di reagenti, calibratori, e quant'altro), e a condizione che la procedura analitica sia stabile nel periodo selezionato (verificabile dall'osservazione delle carte dei controlli). Il principale vantaggio di questo disegno è quello di non richiedere ulteriori analisi di campioni (i dati sono già disponibili negli applicativi informatici) e di poter

effettuare la verifica più frequentemente. Poiché, tuttavia, la matrice tra i campioni dei pazienti ed i materiali di controllo è differente, è sempre consigliabile associare al disegno 2 una valutazione saltuaria utilizzando il disegno 1, 3 o 4, per monitorare eventuali differenze di comportamento tra i materiali di controllo ed i campioni di pazienti (il bias stimato utilizzando i materiali di controllo non deve essere maggiore di quello stimato sui campioni dei pazienti) (61).

Materiali utilizzabili

Dati dei CQI interni giornalieri analizzati per ogni procedura analitica in un periodo precedente e già disponibili negli applicativi informatici

Livelli di concentrazione

La verifica deve essere effettuata a 2 livelli di concentrazione (massimo 3), eventualmente prossimi ai limiti decisionali, ove presenti per il misurando in esame, e comunque entro $\pm 25\%$ dalla concentrazione a cui è stata calcolata l'imprecisione intra-laboratorio. Tuttavia, tale disegno non permette di effettuare la verifica a concentrazioni diverse da quelle dei materiali di controllo.

Numero di replicati

Il numero di dati del CQI da utilizzare è calcolato in modo analogo a quanto descritto nel disegno 1, con σ calcolato come media delle imprecisioni entro il laboratorio delle $K \geq 2$ procedure analitiche.

Occorre sottolineare che per l'utilizzo del disegno 2 risulta fondamentale la scelta del periodo e quindi dei dati ai quali applicare la verifica: il periodo deve infatti essere "stabile", cioè la distribuzione dei dati deve, per quanto possibile, essere gaussiana e non derivare da commistioni fra popolazioni aventi media e DS differenti; ovviamente i risultati del CQI, presi in considerazione per i calcoli, devono rientrare nei criteri di accettabilità definiti in conformità ai documenti di consenso (raccomandazioni, linee guida) approvati a livello nazionale ed internazionale (per esempio SIBioC, *Clinical Laboratory Standard Institute - CLSI*). Qualora non fosse possibile individuare un periodo in cui il sistema risulti stabile, la verifica va effettuata utilizzando un diverso disegno sperimentale.

Al pari del disegno 1, si consiglia di utilizzare un numero di replicati NON inferiore a 5.

Conduzione dell'esperimento

Dal database di laboratorio, per ognuna delle $K \geq 2$ procedure analitiche, vengono estratti r dati di CQI (con r calcolato secondo opportuni criteri statistici) selezionati in un periodo stabile (vedi paragrafo precedente).

Analisi statistica

Individuazione ed eliminazione dei dati aberranti (outliers). Se i risultati dei controlli sono stati selezionati,

come suggerito, in un periodo in cui sia garantita la stabilità della procedura analitica, la verifica della presenza degli aberranti non dovrebbe essere necessaria. Tuttavia, se lo sperimentatore lo ritiene necessario, può utilizzare la stessa procedura statistica presentata per il disegno 1.

Esecuzione dei test statistici per la valutazione del bias.

La procedura è analoga a quanto descritto per il disegno 1. Nell'analisi statistica del disegno 2, tuttavia, le medie, le DS e le varianze non sono calcolate sugli r replicati dello stesso campione misurato sulle $K \geq 2$ procedure analitiche ma sugli r dati del CQI analizzati in precedenza e già disponibili del database del laboratorio.

Disegno 3 (serie di campioni di pazienti)

In questo disegno si scelgono 2 (massimo 3) concentrazioni, ma invece di analizzare r replicati dello stesso campione (o di pazienti o di materiale commutabile) ad una singola concentrazione su K procedure analitiche, si analizzano r campioni con concentrazione entro $\pm 25\%$ delle 2 (massimo 3) concentrazioni scelte sulle K procedure analitiche (ad esempio se si scelgono 2 concentrazioni, 50 e 200 mg/L, e dall'analisi della dimensione campionaria sono risultati 20 replicati, si analizzeranno su ognuna delle K procedure analitiche 20 campioni con concentrazione entro $\pm 25\%$ di 50 mg/L, cioè da 37,5 a 62,5 mg/L, e 20 campioni entro $\pm 25\%$ di 200 mg/L, cioè da 150 a 250 mg/L).

Nel disegno 3 il consumo di risorse è inferiore rispetto al disegno 1, in quanto i campioni sono già stati analizzati su almeno una procedura analitica (ad esempio lo strumento che il laboratorio considera come "riferimento"), anche se è necessario considerare se determinazioni effettuate in tempi diversi (non contemporaneamente) possano inficiare i risultati per caratteristiche di stabilità del misurando. Inoltre, per alcuni misurandi potrebbe essere difficoltoso il reperimento dei campioni nell'intervallo $\pm 25\%$ della concentrazione scelta.

Materiali utilizzabili

Campioni di pazienti diversi in singolo, scelti nell'intervallo $\pm 25\%$ della concentrazione definita (ad esempio livello clinicamente rilevante allo scopo d'uso dell'esame).

Livelli di concentrazione

Analogamente ai disegni 1 e 2, la verifica deve essere effettuata a 2 livelli di concentrazione (massimo 3), eventualmente prossimi a limiti decisionali, ove presenti per il misurando in esame.

Numero di replicati

Il disegno 3, pur simile ai primi 2 disegni, richiede una modifica alle formule per il calcolo della dimensione

campionaria, in quanto in questo disegno i dati sono appaiati (vari campioni letti su $K \geq 2$ procedure analitiche).

Per $K=2$ procedure analitiche la formula diventa quindi:

$$r = \left[\frac{(z_\alpha + z_\beta) \sigma_d}{d} \right]^2$$

dove σ_d rappresenta la vera (della popolazione) DS delle differenze (non la DS delle osservazioni) tra le due procedure analitiche. σ_d può essere stimato da s_d come

$$s_d^2 = 2s^2 (1-\rho),$$

dove s rappresenta la media delle DS delle osservazioni ottenute con le 2 procedure analitiche in quell'intervallo di concentrazione e ρ il coefficiente di correlazione tra le osservazioni.

Se le ripetibilità (DS) delle due procedure analitiche sono molto differenti (>2 volte) occorre utilizzare

$$s_d^2 = s_1^2 + s_2^2 - 2\rho s_1 s_2$$

dove s_1 e s_2 sono le DS delle due procedure analitiche.

Nella verifica della comparabilità dei risultati, come peraltro accade nella procedura di comparazione di metodi analitici (26), ci si aspetta una correlazione molto elevata tra le osservazioni e quindi $\rho > 0,9$ [se ρ non è conosciuto utilizzare $\rho = 0,9$ oppure un valore inferiore verificato in studi precedenti (approccio conservativo = numero di replicati maggiore)].

Applicando il disegno 3 a intervalli di concentrazioni diverse, caratterizzati da ripetibilità e quindi DS diverse, è possibile ottenere un numero di r replicati diversi. In tale situazione, si consiglia di utilizzare il numero di replicati maggiore per tutte le verifiche.

Per $K \geq 3$, il calcolo della dimensione campionaria è piuttosto complicato ed è necessario utilizzare un software statistico professionale. In alternativa, si consiglia (approccio conservativo) di utilizzare il numero di replicati maggiore tra quelli calcolati per le varie procedure, applicando la formula precedente a tutte le coppie delle $K(K-1)/2$ procedure analitiche con relative imprecisioni.

Al pari dei precedenti disegni, si consiglia di utilizzare un numero di replicati NON inferiore a 5.

Conduzione dell'esperimento

Gli r campioni sono misurati nella stessa serie analitica sulle $K \geq 2$ strumentazioni.

Analisi statistica

Individuazione ed eliminazione dei dati aberranti (outliers). Il test di Grubbs può essere utilizzato anche nel caso del disegno 3 per le differenze delle coppie dei risultati (e non per le singole osservazioni). Il test deve essere applicato separatamente per le 2 (massimo 3) concentrazioni scelte.

Esecuzione dei test statistici per la valutazione del bias. L'analisi deve essere applicata separatamente per ogni

concentrazione, cioè per ogni intervallo $\pm 25\%$ intorno alle 2 (massimo 3) concentrazioni scelte, calcolando le r differenze tra i risultati ottenuti con le K procedure analitiche. Si tratta quindi di un disegno per dati appaiati (o di ANOVA per misure ripetute nel caso di $K \geq 3$ procedure analitiche).

Per $K=2$ procedure analitiche, si calcolano le differenze tra gli r risultati ottenuti con le 2 procedure analitiche. Dette quindi D e s_d rispettivamente la media e la DS delle r differenze, si calcola l'intervallo di confidenza come

$$95\%IC = |D| \pm t_{(\alpha=0,05/2; g^l=r-1)} \frac{s_d}{\sqrt{r}}$$

dove t è preso dalla Tabella 6 con $g^l=r-1$.

Per $K \geq 3$ procedure analitiche, la procedura è molto simile, ma occorre utilizzare q preso dalla distribuzione del Range Studentizzato (distribuzione di Tukey), per correggere per i confronti multipli, e derivare da q un nuovo coefficiente t^* (t star). Per ogni coppia di procedure analitiche su cui sono stati analizzati r campioni si calcolerà:

- D , cioè la media delle differenze dei campioni (ad esempio $D_{1,2}$ media delle differenze degli r campioni misurati con le procedure analitiche 1 e 2);
- s_d , cioè la DS delle r differenze di quella coppia di procedure (ad esempio $s_{d1,2}$ DS delle differenze degli r campioni misurati con le procedure analitiche 1 e 2);
- $q_{(K;r-1;\alpha=0,05)}$, preso dalla distribuzione del Range Studentizzato (distribuzione di Tukey) con K e $(r-1)$ gradi di libertà (vedi tabella nell'Appendice A, [SII](#));
- t^* , valore di t derivato da q come $t^*=q/\sqrt{2}$;
- l'intervallo di confidenza pari a:

$$95\%IC = |D_{ij}| \pm t^* \frac{s_{dij}}{\sqrt{r}}$$

dove $|D_{ij}|$ rappresenta la media delle differenze in valore assoluto, cioè il bias in valore assoluto, degli r campioni misurati con le procedure analitiche i e j , s_{dij} la DS delle r differenze e con t^* calcolato da q .

Si noti che non si è fatto uso, nel calcolo dell'intervallo di confidenza, dell'errore standard calcolato sulla base dell'informazione ottenuta da tutte le osservazioni (come avviene nell'ANOVA per misure ripetute), ma dei differenti (specifici) errori standard delle differenze per ogni coppia di procedure analitiche. Sebbene il numero di g^l sia inferiore, questa modalità semplifica i calcoli ed evita di dover verificare l'assunzione di sfericità.

Disegno 4 (campioni di pazienti lungo un ampio intervallo di concentrazioni)

Questa metodologia, più familiare al personale di laboratorio [simile all'esperimento di comparazione di 2 metodi analitici (26)], ha il vantaggio della semplicità (sia di pianificazione che di conduzione) e del minor

consumo di risorse rispetto al disegno 1. In questo disegno la comparabilità dei risultati è valutata preferenzialmente in termini di bias percentuale, al fine di evitare che un eventuale bias assoluto, anche maggiore del massimo accettabile, possa non essere rilevato quando calcolato come media di differenze di concentrazioni molto differenti tra loro.

Materiali utilizzabili

Campioni di pazienti diversi lungo un ampio intervallo di concentrazioni

Livelli di concentrazione

Si consiglia di utilizzare campioni di pazienti che coprano un intervallo di concentrazioni più ampio possibile; laddove non sia possibile per scarsità di campioni ad alcune concentrazioni (per esempio elevate o basse), è raccomandato valutare l'ambito di misura clinicamente rilevante. Più l'ampiezza dell'intervallo di concentrazioni a cui viene applicato il disegno 4 si riduce, più il disegno 4 diventa simile al disegno 3.

Numero di replicati

Il numero di campioni da analizzare sulle K procedure analitiche in questo disegno non è stabilito su basi statistiche ma scelto dall'operatore in base alle risorse del laboratorio, a esperienze professionali o alla letteratura scientifica disponibile. In linea generale si suggerisce di utilizzare un numero di campioni compreso tra 20 e 40 e mai inferiore a 10. Tuttavia, quando la numerosità è bassa (ad esempio inferiore a 40 campioni), scelta arbitraria per evidenti difficoltà dovute alle caratteristiche del misurando e/o alla numerosità e frequenza delle determinazioni, la potenza statistica potrebbe risultare inferiore all'80%.

Conduzione dell'esperimento

Gli r campioni sono misurati nella stessa serie analitica sulle $K \geq 2$ strumentazioni.

Analisi statistica

Individuazione ed eliminazione dei dati aberranti (outliers). Al pari del disegno 3, il test di Grubbs può essere utilizzato per le differenze delle coppie dei risultati (e non per le singole osservazioni).

Esecuzione dei test statistici per la valutazione del bias. La verifica della comparabilità prevede, in aggiunta al calcolo del bias, anche la visualizzazione della distribuzione delle differenze tramite il grafico di Bland-Altman (62-64), al fine di escludere la presenza di differenze molto ampie, che, se simmetriche intorno allo zero, potrebbero portare ad un bias percentuale calcolato falsamente prossimo a zero o comunque inferiore al massimo bias accettabile.

Considerando che l'analisi di Bland-Altman permette di valutare non più di due procedure analitiche contemporaneamente, se ve ne sono più di due, è

necessario ripetere l'analisi più volte. A titolo di esempio, nel caso vi siano tre procedure analitiche, denominate A, B e C, sarebbe necessario eseguire i confronti A versus B, A versus C e B versus C.

Per la costruzione del grafico di Bland-Altman si devono inizialmente definire le grandezze da porre sull'asse orizzontale e sull'asse verticale (62). Tra le diverse formulazioni del grafico di Bland-Altman è preferibile scegliere quella che riporta sull'asse verticale la differenza percentuale piuttosto che la differenza semplice. Infatti, la differenza percentuale è più adatta quando si confrontano valori che includono un ambito di concentrazioni ampio (63). Al contrario, potrebbe essere necessario utilizzare la differenza semplice per quegli analiti in cui molte osservazioni presentano valori prossimi allo zero, perché in tali situazioni anche minime differenze assolute possono portare a grandi differenze percentuali ma clinicamente non importanti. Questo protocollo raccomanda di utilizzare, come denominatore del rapporto per il calcolo della differenza percentuale, la media dei due risultati ottenuti con le 2 procedure analitiche (come il grafico di Bland-Altman convenzionale). Tuttavia, vi sono due situazioni nelle quali è preferibile utilizzare come denominatore non la media dei due risultati ma uno dei due. Quando si confrontano solo 2 procedure analitiche e una delle due è considerata la procedura di riferimento: in questo caso come denominatore del rapporto si utilizzerà il risultato della procedura di riferimento (per $K \geq 2$ procedure si consiglia di utilizzare comunque la media dei risultati); quando le medie dei risultati ottenuti con le 2 procedure sono molto differenti ($\geq 20\%$). In questa situazione è consigliabile utilizzare come denominatore, per il calcolo delle differenze percentuali, il risultato della procedura con media inferiore; infatti, l'utilizzo della media o del risultato ottenuto con l'altra procedura (quella con media maggiore) potrebbe determinare una sottostima del bias percentuale.

Per ogni coppia di procedure analitiche su cui sono stati analizzati gli r campioni occorre procedere con le seguenti fasi:

- calcolare le medie di tutti i risultati ottenuti con le due procedure analitiche (r medie);
- calcolare le differenze percentuali degli r campioni (in totale r differenze), utilizzando come denominatore la media dei risultati ottenuti con le due procedure: $\text{differenza}\% = [(\text{procedura 1} - \text{procedura 2}) / (\text{media delle 2 procedure})] \times 100$; se si confrontano solo 2 procedure analitiche e una delle 2 è considerata la procedura di riferimento del laboratorio, calcolare le differenze percentuali come $\text{differenza}\% = [(\text{procedura 1} - \text{procedura 2}) / \text{procedura 1}] \times 100$, dove procedura 1 è il valore ottenuto con la procedura di riferimento. Analogamente, in presenza di medie molto differenti ($\geq 20\%$) calcolare le differenze percentuali come $\text{differenza}\% = [(\text{procedura 1} - \text{procedura 2}) / \text{procedura 1}] \times 100$, dove procedura 1 è il valore ottenuto con la procedura che presenta una media inferiore; per analiti in cui molte osservazioni presentano

valori prossimi allo zero, calcolare le differenze come differenze semplici;

- porre in grafico, utilizzando uno scatter plot, le r differenze percentuali o semplici (asse y) verso le medie di tali differenze, oppure le concentrazioni ottenute con la procedura di riferimento (nel caso si confrontino 2 sole procedure ed una sia quella che il laboratorio considera di riferimento) (asse x), e osservare la distribuzione; se si osservano numerose differenze molto grandi, simmetriche o meno intorno allo 0 (ad esempio differenze percentuali negative per valori bassi dell'intervallo di concentrazioni e positive per valori elevati, o viceversa), concludere per una non comparabilità delle procedure analitiche;
- calcolare il bias come media delle differenze (ad esempio differenze dei risultati ottenuti con le procedure 1 e 2) e l'intervallo di confidenza al 95% di tale bias come

$$95\%IC = bias_{1,2} \pm t \frac{s_d}{\sqrt{r}}$$

dove s_d indica la deviazione standard delle r differenze, t è preso dalla Tabella 5 con gradi di libertà $gl=r-1$.

Interpretazione degli intervalli di confidenza del bias

Con r replicati (disegno 1-2) o r campioni (disegno 3-4) per l'interpretazione, avvalersi della Tabella 6.

Tabella 6
Interpretazione dei disegni 1-4

Intervallo di confidenza (IC) osservato	Risultati comparabili
IC al 95% comprende lo zero E il bias massimo accettabile è esterno all'intervallo	SI
IC al 95% comprende lo zero MA il bias massimo accettabile è interno all'intervallo	NON DETERMINABILE
IC al 95% NON comprende lo zero MA il bias massimo accettabile è esterno all'intervallo	SI
IC al 95% NON comprende lo zero E il bias massimo accettabile è interno all'intervallo	NO

Se l'intervallo di confidenza al 95% (95%IC) del bias stimato comprende lo 0 ed il bias massimo accettabile è esterno all'intervallo, si può concludere per la comparabilità dei risultati. Se, tuttavia, l'IC comprende lo zero ma il bias massimo accettabile è interno all'intervallo, il risultato è considerato inconcludente (non determinabile) e sarà necessario ripetere

successivamente l'esperimento di comparabilità, aumentando ad esempio il numero r di replicati o campioni, oppure utilizzando un altro disegno. Se l'IC non comprende lo 0 e tuttavia il bias massimo accettabile è esterno all'IC, si può comunque concludere per la comparabilità dei risultati. Infatti, in questa situazione, il bias osservato, pur statisticamente significativo, risulta accettabile (perché il limite superiore dell'IC $< \text{bias}_{\text{max}}$ accettabile oppure, ad esempio nel disegno 4, perché il limite inferiore dell'IC $> \text{bias}_{\text{max}}$ accettabile). Infine, se 95%IC non comprende lo zero e, inoltre, il bias massimo accettabile è interno all'intervallo, si concluderà per la non comparabilità dei risultati.

Per i disegni 1-3 in cui la dimensione campionaria è stata selezionata in base a criteri statistici (errore di tipo I e potenza statistica) è inoltre importante ricordare che anche in situazioni in cui il bias strumentale vero è pari a 0 (perfetta comparabilità dei risultati), vi è comunque un rischio del 5% di concludere, sbagliando, per una non comparabilità (IC che non comprende lo 0). Questo errore dipende dall'errore alfa fissato per il calcolo della dimensione campionaria. Al contrario, per bias strumentale vero maggiore del massimo bias accettabile, vi è comunque un rischio fino al 20% di concludere, sbagliando, per una comparabilità dei risultati. Questo errore dipende dalla potenza fissata per il calcolo della dimensione campionaria. Infine, in presenza di un bias vero > 0 ma inferiore al bias massimo accettabile, vi è una probabilità compresa tra 5% e 80% (con aumento del rischio all'aumentare del bias) di concludere, sbagliando, per risultati non comparabili.

Se si utilizza una numerosità campionaria inferiore a quella ottenuta in base al calcolo statistico (per problemi

di selezione di campioni idonei), diminuisce la potenza statistica e quindi aumenta la probabilità di falsi negativi (falsi allineamenti).

Per una più facile interpretazione, gli IC, unitamente al bias massimo accettabile, possono essere visualizzati utilizzando un grafico (alignment plot o plot di allineamento) costituito da due linee verticali, rispettivamente in corrispondenza dello 0 (linea tratteggiata) e del bias massimo accettabile, e da tante linee orizzontali, quanti sono i possibili confronti, che rappresentano le differenze in valore assoluto tra 2 procedure analitiche (identificate da punti) e il relativo IC. In Figura 2 sono rappresentate 4 possibili situazioni che si possono riscontrare quando si comparano due procedure analitiche. L'interpretazione è analoga a quanto mostrato in Tabella 6; le procedure saranno giudicate:

- comparabili nel caso in cui il bias massimo accettabile sia esterno all'intervallo (Figura 2A e 2C);
- non comparabili quando l'intervallo di confidenza del bias non includa lo 0 e il bias massimo accettabile sia interno all'intervallo (Figura 2D);
- inconcludente qualora l'intervallo comprenda lo 0 e tuttavia il bias massimo accettabile sia interno all'intervallo (Figura 2B).

Si noti che, a differenza degli altri disegni, nel disegno 4 non vengono calcolate differenze assolute: in questo caso nel grafico di allineamento il limite superiore dell' IC potrebbe anche essere inferiore a 0 e occorrerà verificare, in modo speculare a quanto osservato per i primi 3 disegni, se il limite inferiore dell' IC sia inferiore a $-\text{Bias}_{\text{max}}$ accettabile.

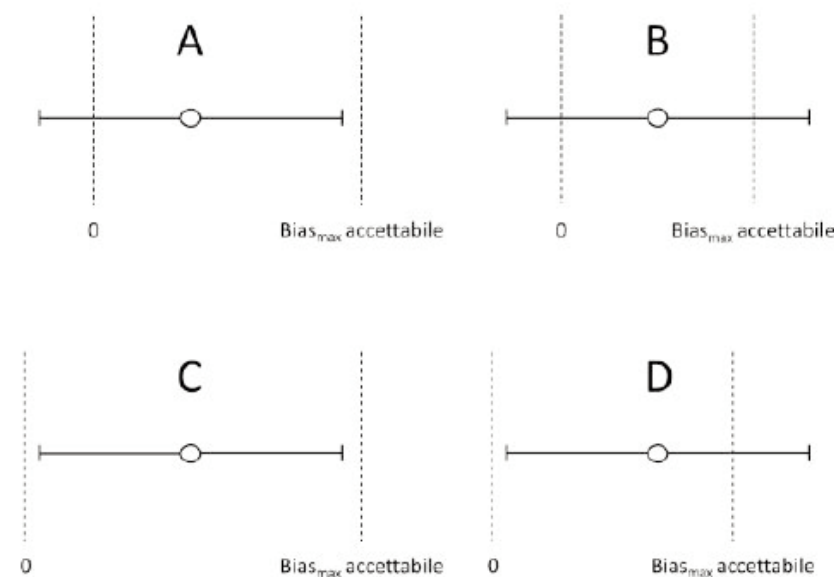


Figura 2

Possibili esiti quando si confrontano procedure analitiche. Pannello A e C, procedure comparabili; pannello B, risultato inconcludente, pannello D, procedure non comparabili.

Registrazione dei dati e implementazione di eventuali azioni correttive

Tutti i criteri adottati per la verifica della comparabilità dei risultati ed i relativi risultati e conclusioni (dati dell'esperimento, scelta dell'errore totale accettabile e relativa fonte bibliografica di riferimento, analisi statistica, grafico per l'interpretazione degli intervalli di confidenza o alignment plot) devono essere registrati ed archiviati nei documenti del sistema qualità del laboratorio (report finale).

Se una o più procedure analitiche forniscono risultati non comparabili, è necessario verificare i dati dell'esperimento e i risultati dell'analisi statistica per escludere eventuali errori grossolani. Inoltre, potrebbe essere necessario rivalutare il modello utilizzato per la scelta dei criteri di accettabilità, oppure riverificare la comparabilità con un altro disegno sperimentale.

È possibile, inoltre, utilizzando i disegni 1 e 2, evidenziare risultati comparabili a concentrazioni basse e non comparabili a concentrazioni alte (o viceversa). Questo può dipendere dal diverso numero di replicati utilizzato alle due diverse concentrazioni (a causa delle diverse imprecisioni lungo l'intervallo di concentrazioni), oppure dall'aver utilizzato un bias massimo percentuale sia per concentrazioni basse che alte (piuttosto che bias assoluti a basse concentrazioni e percentuali ad alte concentrazioni).

Le cause della non comparabilità dei risultati, osservata su una o più procedure analitiche in valutazione, devono essere indagate ed adeguate azioni correttive implementate al fine di evitare misinterpretazioni dei risultati nel contesto clinico-decisionale da parte degli utilizzatori.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

- Plebani M. La riorganizzazione dei laboratori clinici: accorpamenti ed aree vaste. *Biochim Clin* 2004;28:280-5.
- Trenti T, Plebani M. Diagnostic test accuracy: a valuable tool for promoting quality and patient safety. *Diagnosis (Berl)* 2018;5:175-8.
- Plebani M. System-related and cognitive errors in laboratory medicine. *Diagnosis (Berl)* 2018;5:191-6.
- Plebani M. Harmonization in laboratory medicine: more than clinical chemistry? *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1579-86.
- Plebani M. Analytical quality: an unfinished journey. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:357-9.
- Plebani M, Sciacovelli L. ISO 15189 Accreditation: navigation between quality management and patient safety. *J Med Biochem* 2017;36:225-30.
- Plebani M, Sciacovelli L, Chiozza ML, et al. Once upon a time: a tale of ISO 15189 accreditation. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1127-9.
- Sciacovelli L, Plebani M. The IFCC Working Group on laboratory errors and patient safety. *Clin Chim Acta* 2009;404:79-85.
- Calleja J. Parallel processing and maintaining adequate alignment between instruments and methods. *Clin Biochem Rev* 2008;29:S71-S77.
- ISO 15189:2012 Medical laboratories – particular requirements for quality and competence. International Organization for Standardization: Geneva 2012.
- Panteghini M, Ceriotti F, Jones G, et al. Task Force on performance specifications in laboratory medicine of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). Strategies to define performance specifications in laboratory medicine: 3 years on from the Milan Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1849-56.
- Fraser CG, Kallner A, Kenny D, et al. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:475-585.
- Sandberg S, Fraser FG, Horvath AR, et al. Defining analytical performance specifications: consensus statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:833-5.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Verification of Comparability of Patient Results Within One Health Care System; Approved Guideline (Interim Revision). CLSI document EP31-A_IR. CLSI Wayne, PA: 2012.
- Petersen PH, Fraser CG, Westgard JO, et al. Analytical goal-setting for monitoring patients when two analytical methods are used. *Clin Chem* 1992;38:2258-60.
- Fraser CG. Improved monitoring of differences in serial laboratory results. *Clin Chem* 2011;57:1635-37.
- Asberg A, Solem KB, Mikkelsen G. Allowable systematic difference between two instruments measuring the same analyte. *Scand J Clin Lab Invest* 2014;74:588-90.
- Petersen PH, Klee GG. Influence of analytical bias and imprecision on the number of false positive results using guideline-driven medical decision limits. *Clin Chim Acta* 2014;432:127-34.
- Theodorsson E, Magnusson B. Allowable bias when monitoring reference change values. *Scand J Clin Lab Invest* 2015;75:537-8.
- Petersen PH, Fraser CG, Lund F, et al. Confirmation of analytical performance characteristics required for the reference change value applied in patient monitoring. *Scand J Clin Lab Invest* 2015;75:628-30.
- Armbruster D. Metrological traceability of assays and comparability of Patient test results. *Clin Lab Med* 2017;37:119-35.
- Beastall GH, Brouwer N, Quiroga S et al. Traceability in laboratory medicine: a global driver for accurate results for patient care. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1100-8.
- Young IS. The enduring importance and challenge of commutability. *Clin Chem* 2018;64:421-3.
- JCGM 200:2008. International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples, 3rd Edition. CLSI document EP09c. Wayne, PA: 2018.
- Vidali M, Tronchin M, Dittadi R, per il Gruppo di Studio SIBioC - "Statistica per il laboratorio". Protocollo per la comparazione di due metodi analitici di laboratorio. *Biochim Clin* 2016;40:129-42.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Evaluation of commutability of processed samples. Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP14-A3. Wayne, PA: 2014.
- Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Preparation

- and validation of commutable frozen human serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures. Approved Guideline. CLSI document C37-A. Wayne, PA.; 1999.
29. Panteghini M, Sandberg S. Defining analytical performance specifications 15 years after the Stockholm conference. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:829–32.
 30. Carobene A. La variabilità biologica: le basi teoriche e l'esperienza dei Gruppi di Lavoro della Federazione Europea di Chimica Clinica e Medicina di Laboratorio. *Biochim Clin* 2018;42:15-25.
 31. Ceriotti F, Fernandez-Calle P, Klee GG, et al. Criteria for assigning laboratory measurands to models for analytical performance specifications defined in the 1st EFLM Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:189–94.
 32. Haeckel R, Wosniok W, Kratochvila J, et al. A pragmatic proposal for permissible limits in external quality assessment schemes with a compromise between biological variation and the state of the art. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50:833-9.
 33. Zaninotto M, Sciacovelli L, Pagani F, et al. External quality assessment for biochemical markers of myocardial damage: an Italian experience. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1434-41.
 34. Sciacovelli L, Zardo L, Secchiero S, et al. Quality specifications in EQA schemes: from theory to practice. *Clin Chim Acta* 2004;346:87-97.
 35. Secchiero S, Sciacovelli L, Zardo L, et al. Appropriateness of cholesterol and triglycerides reporting checked by External Quality Assessment programs. *Clin Chim Acta* 2003;333:221-30.
 36. Sciacovelli L, Secchiero S, Zardo L, et al. External Quality Assessment Schemes: need for recognised requirements. *Clin Chim Acta* 2001;309:183-99.
 37. EurA1c Trial Group. EurA1c: The European HbA1c trial to investigate the performance of HbA1c assays in 2166 laboratories across 17 countries and 24 manufacturers by use of the IFCC model for quality targets. *Clin Chem* 2018;64:1183-92.
 38. Horvath AR, Bossuyt PMM, Sandberg S, et al. Setting analytical performance specifications based on outcome studies – is it possible? *Clin Chem Lab Med* 2015;53:841–8.
 39. Attanasio F, Carrer P, Zurlo A, et al. . Prognostic value of cardiac troponin I assay in hospitalized elderly patients. *Aging Clin Exp Res* 2018 doi:10.1007/s40520-018-0965-2.
 40. Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, et al. on the behalf of the Study Group on Cardiovascular Risk Biomarkers of the Italian Society of Clinical Biochemistry (SIBioC). The 99th percentile of reference population for cTnI and cTnT assay: methodology, pathophysiology and clinical implications. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1634-51.
 41. Mueller C, Möckel M, Giannitsis E, et al.; ESC Study Group on Biomarkers in Cardiology of the Acute Cardiovascular Care Association. Use of copeptin for rapid rule-out of acute myocardial infarction. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2018;7:570-6.
 42. Paleari R, Mosca A. Standardization of the HbA(2) Assay. *EJIFCC*. 2018;29:298-302.
 43. Bonetti G, Carta M, Lapolla A, et al. SIBioC-SIPMeL Working Group on Diabetes and the Italian Diabetes Society (SID). Correct determination of glycemia in the diagnosis and management of diabetes: Recommendations for the optimization of the pre-analytical phase. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*2019;29:1-3.
 44. Kraus D, von Jeinsen B, Tzikas S, et al. Cardiac Troponins for the Diagnosis of acute myocardial infarction in chronic kidney disease. *J Am Heart Assoc* 2018.;doi: 10.1161/JAHA.117.008032.
 45. Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Desirable specification for total error, imprecision, and bias, derived from intra and inter- individual biologic variation. The 2014 update. Available from: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (ultimo accesso: aprile 2019).
 46. Carobene A, Braga F, Roraas T, et al. A systematic review of data on biological variation for alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and γ -glutamyl transferase. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:1997–2007.
 47. Carobene A. Reliability of biological variation data available in an online database: need for improvement. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53:871–7.
 48. Carobene A, Strollo M, Jonker N, et al. Sample collections from healthy volunteers for biological variation estimates'update: a new project undertaken by the working group on biological variation established by the European federation of clinical chemistry and laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1599-608.
 49. Carobene A, Røraas T, Sølvik UØ, et al. Biological variation estimates obtained from 91 healthy study participants for 9 enzymes in serum. *Clin Chem* 2017;63:1141-50.
 50. Carobene A, Marino I, Coşkun A, et al. The EuBIVAS Project: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Serum Creatinine Using Enzymatic and Alkaline Picrate Methods and Implications for Monitoring. *Clin Chem* 2017;63:1527-36.
 51. Aarsand AK, Díaz-Garzón J, Fernandez-Calle P, et al. The EuBIVAS: Within- and between-subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direct bilirubin, and glucose. *Clin Chem* 2018;64:1380-93.
 52. Carobene A, Guerra E, Locatelli M, et al. Biological variation estimates for prostate specific antigen from the European Biological Variation Study; consequences for diagnosis and monitoring of prostate cancer. *Clin Chim Acta* 2018;486:185-91.
 53. Carobene A, Guerra E, Locatelli M, et al. Providing correct estimates of biological variation-not an easy task. the example of s100- β protein and neuron-specific enolase. *Clin Chem*. 2018;64:1537-39.
 54. Aarsand AK, Røraas T, Fernandez-Calle P, et al. The Biological variation data critical appraisal checklist: a standard for evaluating studies on biological variation. *Clin Chem*. 2018;64:501-4.
 55. Buoro S, Seghezzi M, Manenti B, et al. Biological variation of platelet parameters determined by the Sysmex XN hematology analyzer. *Clin Chim Acta* 2017;470:125-32.
 56. Buoro S, Carobene A, Seghezzi M, et al. Short- and medium-term biological variation estimates of leukocytes extended to differential count and morphology-structural parameters (cell population data) in blood samples obtained from healthy people. *Clin Chim Acta* 2017;473:147-56.
 57. Buoro S, Carobene A, Seghezzi M, et al. Short- and medium-term biological variation estimates of red blood cell and reticulocyte parameters in healthy subjects. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:954-63.
 58. Coşkun A, Carobene A, Kilercik M, et al. Within-subject and between-subject biological variation estimates of 21 hematological parameters in 30 healthy subjects. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1309-18.
 59. Padoan A, D'Inca R, Scapellato ML, et al. Improving IBD diagnosis and monitoring by understanding preanalytical, analytical and biological fecal calprotectin variability. *Clin*

- Chem Lab Med 2018;56:1926-35.
60. Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). User verification of precision and estimation of bias; Approved guideline, 3rd ed. CLSI document EP15-A3. Wayne, PA: 2014.
 61. Paleari R, Ceriotti F, Hartevelde CL, et al. Calibration by commutable control materials is able to reduce inter-method differences of current high-performance methods for HbA(2). Clin Chim Acta 2018;477:60-65.
 62. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986;1(8476):307-10.
 63. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. Biochem Med (Zagreb). 2015;25:141-51.
 64. Dewitte K, Fierens C, Stöckl D, et al.. Application of the Bland-Altman plot for interpretation of method-comparison studies: a critical investigation of its practice. Clin Chem 2002;48:799-801.

Approccio alla chimica clinica

Lorenzo Prencipe

Montabone editore

Data di pubblicazione: 2018

ISBN: 8890513535

Pagine: 625

Prezzo: € 65,00

Il volume APPROCCIO ALLA CHIMICA CLINICA di Lorenzo Prencipe si presenta nella forma di un trattato, con l'intento quindi di toccare tutti gli argomenti inerenti la disciplina della Chimica Clinica anche se in formato necessariamente compatto.

Come altri trattati analoghi si compone di due parti. Nella prima metà sono trattate le questioni metodologiche generali suddivise nei capitoli come Qualità, Variabilità, Valori di riferimento, Trattamento dei campioni, Automazione; vengono inoltre ricordati i fondamentali della biochimica analitica: strumenti, soluzioni, statistica, e tutte le principali tecniche analitiche.

Nella seconda parte viene trattata la biochimica speciale dei singoli analiti raggruppati per interesse fisiopatologico. Tendenzialmente ognuno di questi capitoli segue una medesima struttura: ad una introduzione generale biochimico-metabolica segue una sintesi delle applicazioni diagnostiche dell'esame e una rassegna, critica, dei relativi metodi di analisi con particolare attenzione a quelli attuali. Ogni capitolo si conclude con una bibliografia.

L'intento coraggioso dell'opera è di estendere l'interesse a tutti i campi della Chimica Clinica moderna, dall'esame del liquido cefalorachidiano ad una disamina completa dell'esame urine, all'introduzione della biologia molecolare.

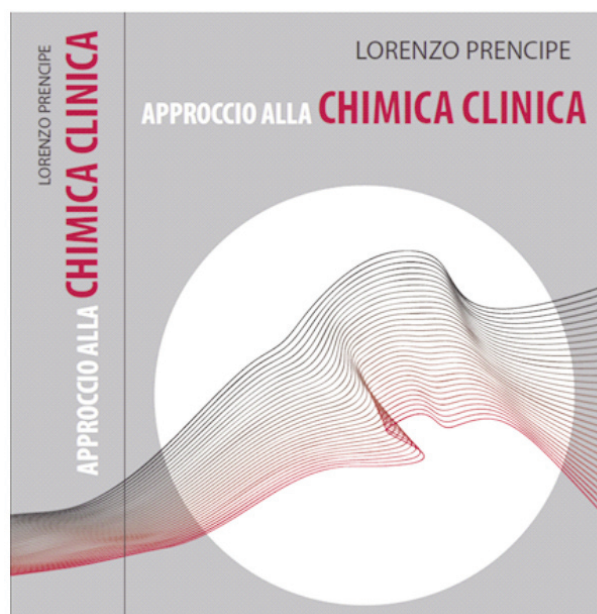
Lo stile redazionale è polimorfo e traspare dalla diversità dei capitoli dovuta alla stesura a più mani delle differenti sezioni, inevitabile nei lavori di questa entità. Sarebbe troppo facile elencare imprecisioni, lacune e espressioni colorite (che tradiscono l'immediatezza dell'indole dell'autore): si potranno sanare in una prossima edizione, pur mantenendo il formato editoriale familiare.

Complessivamente vanno invece riconosciuti una serie di meriti indubbi. Innanzitutto l'autore non teme di mettere sul tappeto alcune questioni ancora oggi oggetto di dibattito come il digiuno per il prelievo, la stima della velocità del filtrato glomerulare, materiali e metodi di riferimento, i nuovi approcci al controllo di qualità. Inoltre la descrizione dei metodi analitici, lungi dall'essere un mero elenco, rispecchia una attenzione critica ai limiti metodologici delle analisi e una dimensione storica in parte mutate dalla esperienza professionale dell'autore; si vedano, al proposito, le digressioni sugli analizzatori automatici, sulla creatinina, sull'acido urico.

Il lavoro di Prencipe è un dichiarato approccio alla chimica clinica che può essere utile a coloro che in laboratorio si avvicinano a questa disciplina (Tecnici di Laboratorio, Biologi, Medici) e necessitano di una raccolta sistematica e concisa dei problemi e delle tecniche analitiche della medicina di laboratorio.

Sergio Brenna

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, S.S. Biochimica Clinica, Azienda Ospedaliera Niguarda Ca' Granda, Milano



Lab Tests Online: un successo che parte da lontano

LAB TESTS ONLINE

La tua Guida di Fiducia

Prenditi cura della tua salute. Comprendi le tue analisi.

Margherita Berardi

web-editor e social media manager Lab Tests Online Italia

Nel 2007 SIBioC ha ottenuto dalla American Association of Clinical Chemistry (AACC) l'autorizzazione per tradurre ed adattare alla realtà italiana il sito labtestsonline.org. Questo sito è nato negli USA nel 2001 con lo scopo di fornire al cittadino una fonte attendibile d'informazioni circa le analisi di laboratorio, che fosse rigorosa da un punto di vista scientifico, ma di facile comprensione. I contenuti sono prodotti da professionisti della Medicina di Laboratorio e sono pensati in modo che il cittadino o chi lo assiste possa comprenderli facilmente; tutto questo senza voler interferire nel rapporto medico-paziente, ma per aiutare il paziente a comprendere meglio tutto ciò che concerne il proprio stato di salute nell'ottica, sempre più attuale, di metterlo al centro del percorso sanitario.

A seguito degli accordi dell'AACC con le Società Scientifiche di Laboratorio di vari paesi e con il supporto delle Associazioni Nazionali dei produttori di diagnostici (in Italia Assobiomedica) il sito statunitense è stato tradotto in 13 lingue e si è diffuso in ben 15 paesi nel mondo (USA, Australia, Regno Unito, Spagna, Francia, Grecia, Turchia, Romania, Polonia, Brasile, Cina, Corea, Repubblica Ceca, Ungheria, Italia). SIBioC è stata individuata come la Società Scientifica di riferimento in Italia e, nel 2007, ha lanciato la versione italiana del sito, labtestsonline.it.

Il sito contiene ad oggi più di 320 test e di 115 patologie, oltre che articoli di approfondimento e la rubrica LTO-News, notizie dal mondo della Medicina di Laboratorio, prodotte da specialisti SIBioC o tradotte dal sito americano. SIBioC, nell'ambito di uno specifico progetto denominato "Progetto Lab Tests Online -LTO", provvede alla traduzione dei contenuti statunitensi ed al loro adattamento alla realtà italiana.

Uno degli aspetti più rilevanti di labtestsonline.it è rappresentato dall'adesione allo standard Health On the Net (HON-Code) per l'affidabilità dell'informazione medica. Questo impone il rispetto di alcuni parametri importanti, tra i quali la complementarietà (le informazioni diffuse dal sito devono essere destinate ad

incoraggiare, e non a sostituire, le relazioni esistenti tra paziente e medico), la citazione delle fonti (presenti in ogni pagina del sito) e la presenza della data dell'ultimo aggiornamento. Il sito si propone inoltre di aggiornare i propri contenuti al massimo ogni tre anni, in modo da fornire informazioni quanto più in linea con lo stato dell'arte della Medicina di Laboratorio.

Negli ultimi anni sono state intraprese da parte di SIBioC molteplici azioni volte a migliorare il sito e a promuoverlo nel mare dell'informazione medico-scientifica disponibile sul web. Gli sforzi si sono incentrati in primo luogo sul miglioramento dei contenuti, il cuore di LTO. La traduzione, l'adattamento e l'aggiornamento dei contenuti del sito, inizialmente affidati a volontari, hanno visto un notevole impulso dal 2015, quando questi compiti sono stati affidati a figure a questo scopo individuate e dedicate a tempo pieno. La gestione dei contenuti del sito è stata quindi strutturata nell'ambito del "Progetto LTO" e migliorata, seguendo un percorso di riqualificazione che, ad oggi, ha permesso di allinearsi ai contenuti del sito USA (Esami: 341 USA versus 330 in Italia; Patologie/Condizioni Cliniche: 136 USA versus 118 in Italia). Ad oggi il numero di indagini di laboratorio con la data dell'ultimo aggiornamento risalente a prima del 2015 è solo il 2% del totale, e è il 14% per quanto riguarda le Patologie/Condizioni Cliniche. L'obiettivo fissato di aggiornare tutti i contenuti ogni tre anni è quasi raggiunto.

Le azioni intraprese nell'ambito del Progetto LTO non si sono però limitate al miglioramento della gestione dei contenuti. Nel 2018 si è conclusa, con molti sforzi da parte degli attori coinvolti nel processo, la migrazione alla nuova piattaforma Web (denominata Drupal), condivisa con AACC. Grazie a questo, il sito, oltre ad essere caratterizzato da un *web design* moderno e persuasivo, risponde meglio alle esigenze della Search Engine Optimization (SEO) al fine di migliorarne il posizionamento nei principali motori di ricerca (ad esempio Google) e quindi aumentarne la visibilità. Fanno parte di tali accorgimenti anche la velocità e

Corrispondenza a: Margherita Berardi, Lab Tests Online Italia. E-mail: margherita.berardi82@gmail.com

Ricevuto: 21.01.2019

Revisionato: 23.01.2019

Accettato: 23.01.2019

Pubblicato on-line: 12.04.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.013

facilità di navigazione, la compatibilità con i dispositivi mobili (maggiore fonte di accesso), la presenza d'immagini di qualità e la creazione di contenuti condivisibili sui social.

Sempre nel 2018, è stata avviata anche una campagna promozionale. Il 5 luglio 2018 si è tenuto nella Sala dell'Istituto di Santa Maria in Aquiro a Roma, un incontro dal titolo "SIBioC- LabTest online Informazione in Medicina di Laboratorio". Nel corso di una delle sessioni, moderata da Gerardo D'Amico, Vice direttore di Rai Salute, sono intervenuti i massimi rappresentanti di SIBioC, Assobiomedica oltre a molte autorità e associazioni di medici, pazienti e professionisti del settore sanitario o della comunicazione.

E' datato 19 giugno 2018 il primo post relativo a "labtestsonline.it" uscito sulla pagina Facebook della società (SIBioC-Medicina di Laboratorio, @SIBioCmedicinadilaboratorio), che ha inaugurato l'ingresso di LabTestsOnline Italia sui social. Il 12 novembre 2018, "labtestsonline.it" ha poi fatto il suo ingresso anche su Twitter, con una pagina dedicata: Lab Tests Online IT, @LabTestsIT. Ai social e al social media marketing è quindi stata affidata la nuova fase di promozione. E proprio grazie a questi, ciascun socio SIBioC può dare un contributo concreto alla promozione

e crescita del sito, seguendo le pagine dedicate e condividendone i contenuti.

Visto il crescente interesse nei confronti del Progetto LTO, in continua fase di espansione, sono state recentemente aperte le porte anche a sponsor, individuati tra i principali attori della diagnostica di laboratorio. La partecipazione degli sponsor è, secondo i requisiti HON-Code, chiaramente identificata e in nessun modo condizionante i contenuti. Questa operazione rappresenta un passo importante per gli investimenti finalizzati alla continua crescita del sito.

Il numero medio di accessi/mese nel 2014 è stato di circa 58.000, nel 2017 è salito a circa 120.000 e nel 2018 a circa 240.000 con punte negli ultimi mesi dell'anno di quasi 500.000 accessi. In parte questo è sicuramente dovuto alla migrazione verso una piattaforma più efficiente anche se l'impennata del numero di accessi è iniziata nel luglio 2018, mese in cui è iniziata la campagna promozionale. Quasi tutti i siti LTO passati alla piattaforma Drupal hanno registrato un incremento degli accessi, ma, per la maggior parte dei siti, inferiore a quello verificatosi in Italia in coincidenza con gli interventi promozionali, ed in particolare con l'ingresso nel mondo dei social (Figura 1).

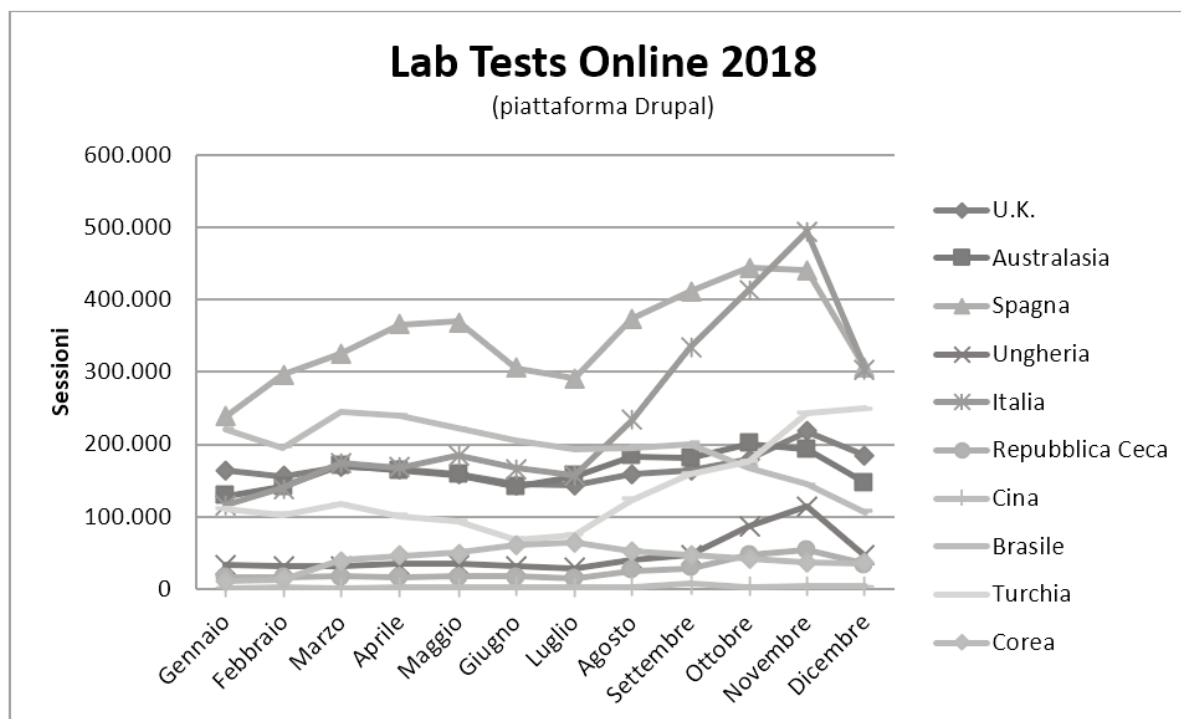


Figura 1

Siti Lab Tests Online passati alla nuova piattaforma (Drupal), esclusa US - Numero di sessioni* nel 2018

*Una sessione corrisponde al periodo di tempo in cui un utente interagisce con il sito web. Tutti i dati sull'utilizzo (visualizzazioni di schermate, eventi, e-commerce ecc.) vengono associati a una sessione

Lo stesso labtestsonline.org statunitense, ha registrato una media di accessi/mese pari a circa 2.160.000, rimanendo perlopiù stabile rispetto all'anno precedente. Nel mese di dicembre è stato tuttavia registrato un generale calo degli accessi da parte di quasi tutti i siti Drupal, verosimilmente dovuto alle festività natalizie e al temporaneo malfunzionamento della piattaforma che ha causato per qualche giorno l'impossibilità di accesso ai siti per molti utenti (Figura 1).

Il successo ottenuto è il frutto di un lavoro che parte da lontano e che ha visto negli anni l'avanzamento del Progetto LTO sotto molti aspetti. Gli sforzi futuri saranno incentrati sull'aumento della qualità, della quantità e dell'aggiornamento dei contenuti ma anche sulla promozione del sito tramite i canali social congiuntamente ad interventi più tradizionali, quali la pubblicità nel corso dei congressi dell'area medica. Il sito "labtestsonline.it" rappresenta una grande opportunità per SIBioC per presentarsi ancora meglio alle istituzioni ed ai cittadini; un modo per far conoscere la nostra professione al di fuori dei professionisti, valorizzandola sempre più. Ciascun socio è pertanto chiamato a contribuire alla crescita del sito e a partecipare al Progetto LTO, rispondendo alle attività proposte e pubblicizzando LTO anche tramite i propri canali social. Lab Tests Online può essere inoltre una risorsa per i professionisti della Medicina di Laboratorio. Per i giovani professionisti/specializzandi rappresenta, pur nella sua essenzialità, un valido riferimento ed ausilio allo studio/aggiornamento, grazie anche alle numerose fonti riportate su ciascun argomento; per i medici di medicina generale ed altri specialisti può costituire una valida fonte di informazione, espressa in termini piani e facilmente comprensibili ai loro pazienti.

In memoria del Professor Howard A. Morris

Annunciamo con rammarico la improvvisa scomparsa del Professor Howard Morris, il 18 Aprile 2019. Howard Morris era professore di Medicina di Laboratorio presso l'Università di Adelaide e Clinical Scientist in Chemical Pathology al SA Pathology, sempre in Adelaide, South Australia. Al momento della sua scomparsa era Presidente della International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) dove era anche stato Vice-Presidente nel biennio 2012-2014 nonché Coordinatore della Scientific Division tra il 2003 e il 2008. Gli interessi scientifici precipui del prof Morris hanno riguardato la fisiopatologia del metabolismo osseo con particolare riguardo alle strategie nutrizionali per la prevenzione dell'osteoporosi e alla misura della vitamina D, ma ha devoluto una grande parte della sua vita professionale alla promozione della nostra professione all'interno dei Sistemi Sanitari. Lo ricordiamo quale gradito ospite al nostro congresso nazionale del 2018 dove ha tenuto una seguitissima Lettura Magistrale dal titolo "The value of Laboratory Medicine" durante la quale ha appunto sottolineato ancora una volta il sostanziale e imprescindibile contributo della Medicina di Laboratorio nella gestione e cura del paziente.



Howard Morris aveva gentilmente accettato di far parte dell'International Advisory Board di Biochimica Clinica, mostrando una disponibilità e gentilezza poco comuni.

Desideriamo ricordare qui la sua lunga e fruttuosa attività professionale, all'interno della quale ha sempre congiunto un elevato valore scientifico (è autore di più di 240 pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali), doti dirigenziali preminenti, una capacità relazionale non comune e una grande disponibilità all'ascolto. Lo commemoriamo qui con grande rispetto per lo scienziato e l'uomo.

Maria Stella Graziani

È un piacere annunciare a tutti i Soci che il prof Mario Plebani è stato insignito del

2019 AACC Outstanding Contributions Through Service to the Profession of Clinical Chemistry Award

quale riconoscimento per una carriera tutta svolta alla promozione e al riconoscimento della professione a livello internazionale.

Il premio verrà conferito durante la Opening Plenary Session del 71st AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo, che si svolgerà ad Anaheim, California dal 4 al 8 Agosto prossimi.

Nel porgere le più vive congratulazioni al prof Plebani per questo importante traguardo, SIBioC esprime la propria soddisfazione che il riconoscimento sia andato a un Presidente della Società che ha contribuito così tanto alla sua crescita e affermazione in campo nazionale ed oltre.



La Medicina di Laboratorio Italiana è orgogliosa che un professionista Italiano sia stato insignito di un tale prestigioso riconoscimento.

Maria Stella Graziani

Ricevuto: 04.04.2019

Accettato: 04.04.2019

Pubblicato on-line: 29.04.2019

