

Diagnostica delle crioglobulinemie: l'alleanza laboratorio-clinica apre una nuova era per l'armonizzazione di un esame critico e complesso

Michele Mussap¹, Martina Zaninotto²

¹ Unità Molecolare, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università degli Studi, Cagliari

² QI.LAB.MED, Spin-off dell'Università di Padova

La diagnostica di laboratorio delle crioglobuline è uno degli esami di più lunga tradizione del laboratorio clinico (1); ciononostante, rimane a tutt'oggi tra le più critiche e complesse determinazioni che il professionista di medicina di laboratorio deve affrontare nella pratica routinaria. In generale, le difficoltà associate alla determinazione delle crioglobuline sono sottovalutate per due ragioni: la bassa numerosità rispetto a moltissimi altri esami (enzimi, substrati, ormoni, marcatori) e l'impossibilità di inserire questa determinazione nel ciclo di automazione del laboratorio. D'altra parte, la diagnosi di crioglobulinemia si basa sull'esame di laboratorio e ciò conferisce al risultato un'importanza clinica strategica (2). La determinazione e tipizzazione delle crioglobuline è fondamentale nelle discrasie plasmacellulari e più in generale nei disordini immunoproliferativi e nelle patologie su base autoimmunitaria, nonché in tutte le patologie caratterizzate da specifiche manifestazioni cliniche, associate o meno ai virus dell'epatite C (HCV) e B (HBV), come le vasculiti (ad esempio, il fenomeno di Raynaud, le porpore), le artralgie e artriti, la sindrome di Sjögren, le neuropatie periferiche, le astenie, la positività al fattore reumatoide, il deficit di fattore 4 del complemento (3,4). Ne deriva che, come per tutti gli altri esami, l'appropriatezza della richiesta è il primo, fondamentale passo per ottenere l'informazione più efficace dal risultato (5).

Le problematiche più rilevanti si possono riassumere in 3 punti: estrema criticità della fase pre-pre-analitica e pre-analitica; elevata variabilità della fase analitica, dovuta alla manualità del processo; scarsa armonizzazione della fase post-analitica, dovuta alla mancanza di un referto che contenga tutte le informazioni essenziali per generare la decisione clinica. Nonostante esistano dettagliate raccomandazioni, anche recenti, sulla gestione di tutto il processo che riguarda la diagnostica di laboratorio delle crioglobulinemie (6,7), sono ancora molti i punti critici irrisolti che possono compromettere l'affidabilità dei risultati.

Per questi motivi, risulta di grande utilità e interesse il lavoro di Patrizia Natali e del gruppo di studio SIBioC sulle proteine, pubblicato su questo numero di *Biochimica Clinica*; il lavoro riassume i contenuti di un incontro congiunto sull'argomento tenutosi a Modena nel settembre 2021 e presenta una disanima dettagliata sugli aspetti analitici e clinici della determinazione delle crioglobuline (8). Agli Autori va dato poi il grande merito di aver promosso una stretta collaborazione tra SIBioC e Associazione Italiana Lotta contro le Crioglobulinemie (ALCRI), allo scopo di condividere e tracciare una linea comune di indirizzo utile sia ai laboratoristi che ai clinici. Il percorso appare lungo e complesso, ma stimolante, perché da questa collaborazione deve nascere un "sistema condiviso" sulla gestione del campione di sangue per ricerca e tipizzazione di crioglobuline e sulla gestione dell'informazione clinica che il laboratorio fornisce in base ai risultati.

Il lavoro di Patrizia Natali contiene dettagliate raccomandazioni su come ottenere e migliorare la qualità delle varie fasi del processo e rappresenta un chiaro esempio di come SIBioC, per mezzo dei suoi gruppi di studio e dei professionisti che li animano, sia un supporto fattivo per l'attività lavorativa dei soci. Al di là delle fondamentali indicazioni riportate nel lavoro, noi vogliamo sottolineare due aspetti preliminari altrettanto essenziali: la formazione del personale e l'acquisizione di idonei supporti tecnologici e informatici. Negli ospedali, la formazione del personale di reparto è un aspetto cruciale che deve essere gestito dal laboratorio clinico in collaborazione con la direzione delle professioni sanitarie, sia attraverso un'attività teorico-pratica focalizzata soprattutto sull'importanza strategica di mantenere a temperatura controllata tutta la fase pre-pre-preanalitica, che con idonei mezzi visivi (ad esempio, cartelli-poster da appendere in reparto, brevi filmati esplicativi di 1-2 minuti) che riassumano in poche immagini le fasi del processo di prelievo, conservazione e trasporto del campione. Il principale obiettivo è quello di promuovere la consapevolezza che il mancato rispetto delle corrette procedure a temperatura controllata, anche quelle che appaiono meno importanti (come la pre-termostrazione dei dispositivi di prelievo), si riflette significativamente sul risultato, con conseguenze negative per la gestione del paziente. Dal momento che non tutti i sistemi di posta pneumatica possono consentire il corretto trasporto dei campioni in contenitori isotermici, occorre istruire il personale addetto al trasporto manuale, soprattutto nelle realtà dove non esiste la posta pneumatica e in quelle dove i reparti sono dislocati in

Corrispondenza: Michele Mussap, Laboratorio molecolare, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università degli Studi, Cittadella Universitaria S.S. 554, 09042 Monserrato, Cagliari, E-mail: michele.mussap@unica.it;

Ricevuto: 13.04.2022

Accettato: 14.04.2022

Publicato on-line: 27.05.2022

DOI: 10.19186/BC_2022.025

padiglioni diversi da quello del laboratorio clinico. Analogamente, nei distretti socio-sanitari nei quali si effettua attività ambulatoriale di laboratorio, la formazione deve coinvolgere sia i prelevatori che i trasportatori, con le medesime modalità usate nell'ospedale. Un breve manuale di formazione condiviso e pubblicato da SIBioC-ALCRI può essere un ottimo strumento da presentare alle direzioni strategiche e sanitarie delle strutture ospedaliere e territoriali per poi promuoverne la diffusione.

Alla formazione occorre affiancare l'acquisizione sia di dispositivi che consentano di effettuare e mantenere il processo preanalitico a temperatura controllata (come i citati contenitori isotermitici) che di supporti telematici in grado di fornire dati in tempo reale al laboratorio sulla tracciabilità degli orari di prelievo e spedizione del campione, sul monitoraggio della sua temperatura e della sua ubicazione fino all'arrivo in laboratorio. La realizzazione di questi due obiettivi mette in condizione il laboratorio di attuare il controllo del processo e quindi di valutare l'idoneità del campione pervenuto, evitando di esaminare campioni scorretti che possono dare origine a risultati falsi negativi o comunque scarsamente affidabili, come nel caso di formazione del coagulo non avvenuta a +37°C.

La fase pre-analitica in laboratorio deve essere standardizzata il più possibile; vanno accuratamente evitate "scorciatoie" pericolose, come ad esempio l'interruzione anche breve del mantenimento della temperatura del campione a +37°C fino al momento della separazione del siero dalla parte corpuscolata in apposite provette coniche graduate traslucide e nei tubi di Wintrobe. Inutile sottolineare che la temperatura di centrifugazione è importantissima, e che le condizioni di centrifugazione lo sono altrettanto, come pure la temperatura di conservazione del siero per 5-7 giorni che va attentamente controllata e monitorata.

Riguardo alla fase analitica, che prevede la valutazione del crioprecipitato, l'eventuale presenza di interferenti, come i lipidi, la quantificazione del crioprecipitato (criocrito) e, in caso di positività, la sua tipizzazione mediante immunofissazione, è importante concordare con tutto il personale coinvolto rigorose istruzioni operative per garantire la standardizzazione di tutte le fasi di lavoro, minimizzando la variabilità inter-operatore. In questo senso, il lavoro di Patrizia Natali, è un'ottima fonte di informazione per la stesura di istruzioni operative corrette. Inoltre, si richiama l'obbligo della partecipazione ai programmi di verifica esterna della qualità per le crioglobuline che, come descritto nel lavoro, sono disponibili sul mercato.

Infine, ancora una volta occorre concordare con i clinici il tipo di messaggio più efficace derivante dall'analisi dei risultati: il referto dovrebbe essere standardizzato in modo da ottenere finalmente l'armonizzazione della risposta tra i laboratori e rendere i risultati confrontabili per un monitoraggio ottimale del paziente e dell'efficacia terapeutica. Questo aspetto così rilevante può essere un altro spunto di stretta collaborazione SIBioC-ALCRI; per esempio, è auspicabile un documento congiunto di indirizzo sulla presentazione dei risultati, sui commenti interpretativi e su altri approfondimenti come ad esempio, quando e se riportare la descrizione dell'aspetto del crioprecipitato o come procedere in caso di crioprecipitati molto scarsi, cioè se vale la pena di quantificarli e tipizzarli in ogni caso o se per valori molto bassi concordare un commento interpretativo adeguato, come raccomandato in precedenza da SIBioC (5). Molto importante è anche il ragionamento che il professionista di laboratorio deve intraprendere per la corretta interpretazione dei risultati; uno degli aspetti più cruciali, infatti, è quello di valutarli nel contesto di altri esami specifici, come ad esempio il fattore reumatoide, il complemento, l'elettroforesi sieroproteica, e così via. Anche in questo caso, la diffusione di un documento condiviso SIBioC-ALCRI tra i clinici e nei laboratori contribuirebbe in modo rilevante all'armonizzazione del referto e al miglioramento del dialogo laboratorio-clinica.

Non meno importante appare la corretta informazione ai Medici di Medicina Generale, che, attraverso l'attività dei delegati regionali SIBioC e ALCRI potrebbe coinvolgere gli ordini provinciali, presentando un documento più articolato ed esteso preparato e condiviso dalle due società.

In definitiva, noi auspichiamo che il meritevole lavoro di Patrizia Natali sia solo il primo passo di un'attività formativa e operativa più ampia per fornire al professionista di laboratorio e al clinico gli strumenti indispensabili per risolvere le maggiori criticità e valorizzare i risultati delle diagnostiche biochimiche specialistiche, nell'interesse primario della cura del paziente. La sfida di applicare poi, nella pratica routinaria, quanto previsto nelle raccomandazioni non può prescindere dalla formazione continua del personale e dall'acquisizione di adeguate risorse; entrambe queste attività richiedono uno specifico impegno capillare ed una maturata credibilità di fronte ai colleghi clinici e alle direzioni aziendali da parte dei professionisti dell'area della medicina di laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Wang AC, Wells JV, Fudenberg HH, et al. Chemical analyses of cryoglobulins. *Immunochemistry* 1974;11:341-45.
2. Motyckova G, Murali M. Laboratory testing for cryoglobulins. *Am J Hematol* 2011;86:500-2.
3. Roccatello D, Saadoun D, Ramos-Casals M, et al. Cryoglobulinaemia. *Nat Rev Dis Primers* 2018;4:11.
4. Voma CB, Levinson SS. Analysis, detection and quantitation of mixed cryoglobulins in HCV infection: brief review and case examples. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1853-59.
5. Natali P, Debbia D, Trenti T, et al. Frequency and results of Cryoglobulin retesting in 4,963 Patients: Comment on the article by Kolopp-Sarda et al. *Arthritis Rheumatol* 2020;72:1955-6.
6. Passerini G, Basile U. per il Gruppo di Studio SIBioC Proteine. Ricerca, quantificazione e caratterizzazione delle crioglobuline: indicazioni per un protocollo condiviso. *Biochim Clin* 2010;34:218-22.
7. Kolopp-Sarda MN, Miossec P. Practical details for the detection and interpretation of Cryoglobulins. *Clin Chem* 2022;68:282-90.
8. Natali P, Debbia D, Sheldon J, , et al. Diagnosi di crioproteinemia: preziosa collaborazione tra laboratorio e clinica per la corretta gestione di una patologia rara. *Biochim Clin* 2022.