

Aggiornamenti in tema di medicina di laboratorio e Doping. La nuova campagna del CONI "Io non rischio la salute!"

Giuseppe Lippi e Giancesare Guidi

Istituto di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Biomediche e Morfologiche, Università degli Studi di Verona, Verona

ABSTRACT

Updates on Laboratory Medicine and Doping. The new CONI Campaign "Io non rischio la salute!"

Few months afterward the worrying re-explosion of the "doping scandal", following the exclusion of the already winner of the 1999 edition of the Giro d'Italia, Marco Pantani, the approach to face the heterogeneous problem of doping in sport has changed. Part of these changes come from the numerous criticisms issued on the doubtful actions of the Antidoping Scientific Committee, who has sanctioned athletes on the only base of abnormal hematocrit values, as only proof of erythropoietin consumption or blood doping. The numerous reproaches, often authoritative and intended to abjure the inaccurate and non-rigorous approach, have produced some tangible effects. The notorious Campaign "Io non rischio la salute!" has shown some uncertainties, especially in terms and time of application and the formal accusations, supported by reliable scientific bases, have forced CONI to a substantial revision of the protocol. These changes concerned also Laboratory Medicine that, as expected, is now "reassuming its prominent role", as attested by the recent inclusion of influential representatives of this discipline in the Scientific Committee and by the more prominent role occupied by the Laboratory Medicine in the revised version of the protocol. The main aspects of the new Campaign are synthesized and discussed in the following parts of this article.

RIASSUNTO

A distanza d'alcuni mesi dalla prorompente riesplorazione dello "scandalo doping", a seguito dell'esclusione dell'ormai trionfatore Marco Pantani dal Giro ciclistico d'Italia del 1999, alcune cose sono mutate nel modo di fronteggiare l'eterogeneo problema del doping nello sport. Parte di questi cambiamenti è scaturita dal polverone di critiche sollevato a seguito dell'operato della Commissione Scientifica Antidoping, che comminava sanzioni disciplinari agli atleti sulla base di risultati anomali dell'ematocrito quale spia indiretta d'assunzione d'eritropoietina o di pratica di altre tecniche illecite. Le numerose prese di posizione, spesso anche autorevoli, volte a sconsigliare quest'approccio poco scientifico e rigoroso al problema hanno sortito l'effetto desiderato. La Campagna del CONI, "Io non rischio la salute!" ha dimostrato lacune sostanziali, soprattutto nei tempi e nei modi d'attuazione e le numerose accuse formali, suffragate da rigorose basi scientifiche, hanno costretto il CONI stesso ad una parziale revisione del protocollo. I cambiamenti hanno coinvolto inevitabilmente anche la Medicina di Laboratorio che, come auspicato, "si sta riappropriando del ruolo che le spetta", come testimoniato dalla recente inclusione di autorevoli esponenti di questa disciplina nella Commissione Scientifica e del ruolo più importante occupato dalla Medicina di Laboratorio nella nuova versione del protocollo. In questo articolo sono riassunti e discussi i punti salienti della nuova Campagna del CONI.

INTRODUZIONE

Il ricorso a tecniche illecite, volte al potenziamento delle prestazioni atletiche, ha subito un prepotente incremento nel corso degli ultimi anni, favorito dal progresso scientifico e dall'approccio sempre più commerciale alla pratica dello sport agonistico ed amatoriale. Una recente metanalisi, che ha sintetizzato i risultati di oltre 29 studi epidemiologici, ha stimato la prevalenza del doping dal 3% al 5% nei bambini, fino a raggiungere valori compresi dal 15% al 25% negli adulti che praticano sport competitivo (1). Si prevede, inoltre, che l'uso improprio di ormoni naturali rappresenterà la piaga più grave delle prossime Olimpiadi in Australia (2). Alla luce della preoccupante diffusione del fenomeno doping, la Commissione Scienti-

fica Antidoping del Comitato Olimpico Nazionale Italiano (CONI), d'intesa con le Federazioni Sportive Nazionali (FSN), ha emanato un protocollo d'indagine, versione riveduta e corretta di quello in vigore fino al 1999, in cui sono stabilite norme che disciplinano l'applicazione delle procedure per la tutela della salute nello sport e che comportano un sostanziale coinvolgimento della Medicina di Laboratorio. Il protocollo attuale si rivolge principalmente agli atleti di sport di resistenza, i quali traggono benefici maggiori dalla pratica di tecniche volte all'innalzamento dell'ematocrito, soprattutto mediante assunzione di eritropoietina ricombinante (rHuEpo). Il riconoscimento di atleti dediti ad assunzione impropria di rHuEpo si configura oggi come una vera e propria emergenza; la somministrazione

dell'ormone ricombinante per scopi diversi da quello terapeutico comporta rischi riconosciuti per la salute, giacché il conseguente incremento del valore di ematocrito e della viscosità del sangue può creare ragguardevoli problemi circolatori, anche in soggetti apparentemente sani (3, 4).

PRINCIPI ISPIRATORI

Nel documento ufficiale del CONI, al punto primo (Principi ispiratori e generalità sul Progetto) si legge testualmente "L'attività sportiva si può considerare tale, solo se - alla sua base - vi è il rispetto delle regole. La Campagna Nazionale *"lo non rischio la salute!"*, ideata dalla Commissione Scientifica Antidoping ed approvata dal Consiglio Nazionale del CONI, il 27 novembre 1997 (Deliberazione n° 976), s'inserisce, pertanto, in questo nuovo contesto, caratterizzato da un accresciuto grado di consapevolezza e da una maggiore diffusione delle informazioni, proponendosi come un sistema innovativo ed integrativo rispetto ai controlli antidoping".

Il messaggio principale è tuttavia riportato in seguito, laddove il CONI riconosce formalmente che "La Campagna rappresenta un'esplicita assunzione di responsabilità da parte delle massime Istituzioni Sportive Italiane che, di fronte all'attuale impossibilità, attraverso i controlli antidoping, di rilevare la presenza nelle urine di diverse sostanze vietate, non rimangono inerti, ma pongono, doverosamente, in essere ogni sforzo possibile, per salvaguardare la salute dei praticanti, la correttezza delle attività sportive e, perciò stesso, la loro sopravvivenza.

Essa persegue, principalmente, lo scopo di tutelare la salute dei praticanti e, perciò, va opportunamente distinta dalle procedure adottate per i controlli antidoping, anche se - è inutile negarlo - s'inquadra anch'essa in una strategia generale di lotta al doping ed intende svolgere, dunque, un'azione sinergica ai controlli antidoping. Da questo punto di vista, la Campagna *"lo non rischio la salute!"* rappresenta la concreta attuazione di un programma di monitoraggio dello stato di salute dell'atleta, rispetto ai rischi derivanti da eventuale abuso di farmaci". Proprio in quest'ottica si coglie il tentativo, al di là delle competenze specialistiche, di rivalutare la professionalità della Medicina di Laboratorio, con riflessi medici in più occasioni frustrati e sconfessati (leggi revoca della prescrizione terapeutica a medici specialisti in servizio presso Laboratori di Analisi) (5).

Il maggior risalto al ruolo della Medicina di Laboratorio nella Campagna è testimoniato anche dalla considerazione seguente: ".. essa si propone di reiterare, nel corso dell'anno, l'accertamento dell'idoneità annuale, attraverso la diagnosi precoce di eventuali patologie e del riconoscimento tempestivo dei segnali biochimici di possibili danni derivanti dall'uso improprio dei farmaci, non giustificato da documentate patologie, bensì finalizzato all'ottenimento di più elevate prestazioni sportive".

I PROTAGONISTI DEL PROGETTO

A causa della complessità del problema, molti soggetti

e figure professionali sono chiamati a svolgere un ruolo determinante per favorire il raggiungimento degli obiettivi fissati dalla Campagna: sono menzionati allenatori, pediatri e medici di famiglia, medici specialisti in medicina dello sport, le famiglie stesse, la Scuola nel suo complesso, gli organi d'informazione, i dirigenti sportivi, le istituzioni parlamentari, gli organi ministeriali, le società sportive, gli ordini dei medici e dei farmacisti, la magistratura e le autorità di Polizia, oltre, ovviamente, agli stessi atleti. Forse a causa d'amnesia involontaria o d'idiosincrasia, appare lacunoso il riferimento alla Medicina di Laboratorio. E' pur vero che appartenenti a questa specializzazione sono presenti nella Commissione; tuttavia, un cenno non avrebbe guastato ed avrebbe legittimato un ruolo presente formalmente nelle pagine seguenti. In effetti, come evidenziato nel seguito del documento, nonostante la strategia d'applicazione del protocollo coinvolga anche altre figure professionali, l'ideazione e l'attuazione dello stesso non può prescindere dal coinvolgimento della Medicina di Laboratorio, mediante esperti in materia e Centri accreditati.

APPLICAZIONI PRATICHE

Non v'è dubbio che, nonostante le innumerevoli e positive revisioni apportate, la sfida lanciata dalla Campagna *"lo non rischio la salute!"* appare tuttora difficile. Alla luce di recenti acquisizioni in materia, il protocollo è stato sostanzialmente rivisto. Nel caso specifico dell'abuso di eritropoietina (epo), è proposto un nuovo protocollo d'indagine ematochimiche molto dettagliato ed articolato, al fine di evidenziare i segnali indiretti delle avvenute assunzioni farmacologiche illecite ed i conseguenti rischi per la salute. Nelle intenzioni dei Promotori, tutti gli atleti di nazionalità italiana o altra nazionalità tesserati con Federazioni o Discipline associate al CONI sono assoggettabili ai controlli previsti dalla Campagna. In particolare, la Campagna è applicata:

1. Agli **sport di resistenza** (con protocollo analitico volto al rilevamento di eventuali patologie ed al riconoscimento della possibile assunzione di farmaci in grado di potenziare principalmente il metabolismo aerobico).

2. Agli **sport di potenza** (protocollo in itinere, mancando ad oggi dati scientifici definitivi relativi al rilevamento d'eventuali patologie ed al riconoscimento dei possibili danni derivanti da assunzione di farmaci in grado di potenziare principalmente l'espressione della forza muscolare).

3. Agli **sport di concentrazione**, essenzialmente tiro con l'arco, ippica, motorismo (protocollo *in itinere*, mancando ad oggi dati scientifici definitivi relativi al rilevamento d'eventuali patologie ed al riconoscimento dei possibili danni derivanti da assunzione di farmaci in grado di influenzare le prestazioni richieste per la pratica agonistica delle suddette discipline sportive).

Aggiuntivamente, la Campagna, pur rivolta a tutti i praticanti, presenta elementi distintivi per fasce d'età e di qualificazione:

1. Atleti d'età **fino a 14 anni**: il protocollo prevede originariamente l'esecuzione d'analisi volte al riconosci-

mento di condizioni morbose e all'identificazione dell'uso improprio di farmaci e metodi vietati, oltre che dannosi per la salute.

2. Atleti con età compresa **fra 15 e 19 anni**: il protocollo, oltre a perseguire gli obiettivi di cui sopra, si propone di effettuare controlli ematici a campione, allo scopo di prevenire e scoraggiare la diffusione di pratiche proibite.

3. Atleti d'**elevata qualificazione**, compresi nelle liste dei **probabili olimpici**: il protocollo prevede l'effettuazione di controlli longitudinali periodici al fine di evidenziare anomalie e possibili conseguenti rischi per la salute che impongano la sospensione temporanea dell'attività sportiva e l'avviamento a Centri di riferimento per approfondire il problema.

Ulteriori controlli saranno, altresì, possibili nei casi in cui la Commissioni Mediche delle rispettive Federazioni ravvisassero - e rendessero nota alla Commissione Scientifica Antidoping - la necessità di sottoporre loro atleti ad accertamenti e ad approfondimenti, per dirimere eventuali dubbi.

MODALITÀ E TEMPI D'ATTUAZIONE

I controlli della Campagna del CONI potranno avvenire nel luogo ove si svolgano le gare, presso la sede di raduni (Centri d'allenamento Federali) ma anche nel luogo usuale d'allenamento di ciascun atleta. Nonostante le finalità siano idealmente diverse, quest'ultimo aspetto rappresenta un progresso significativo rispetto ai controlli antidoping, abitualmente eseguiti dopo lo svolgimento delle competizioni ufficiali. Esistono, infatti, molte pratiche di doping che si svolgono ben prima e ben lontano dai luoghi di gara. Per i suoi effetti metabolici, la stessa assunzione di epo difficilmente avviene in tempi e luoghi prossimi a quelli delle competizioni, il che ne rende molto improbabile l'identificazione.

Il CONI stabilisce che tutti i controlli, compresi quelli di riacquisizione d'idoneità, siano effettuati presso laboratori di analisi di cui sia stato preventivamente accertato l'elevato standard qualitativo delle procedure e la disponibilità ad esaminare i campioni biologici degli atleti, secondo le modalità ed i criteri previsti nell'ambito del protocollo. La scelta del laboratorio di analisi sarà determinata, volta per volta, di concerto con le FSN ed associate di appartenenza, in modo da minimizzare la necessità di spostamento ed i disagi organizzativi per l'atleta. Quest'ultima disposizione è il risultato della decisione di decentrare la gestione delle analisi, un tempo confinate pressoché esclusivamente presso il Laboratorio del CONI o suoi centri mobili. Si è forse compreso che laboratori clinici ben attrezzati ed accreditati possono svolgere le medesime funzioni, rispettando gli stessi tempi ed evitando pericolose manipolazioni dei campioni. Inoltre, l'esperienza e la professionalità delle diverse figure professionali che prestano la propria opera in laboratorio offrono garanzie d'assoluta qualità. Per inciso, è auspicabile che, anche alla luce di questo fatto, il processo di accreditamento dei laboratori clinici in Italia assuma quell'impulso che permetterebbe anche al

nostro Paese di conformarsi alla realtà di altre Nazioni.

Allo scopo di arrecare meno disagi agli atleti durante le corse ciclistiche a tappe, la Commissione Scientifica, di concerto con la Federazione Ciclistica Italiana (FCI) e l'Unione Ciclistica Internazionale (UCI), prevede l'attuazione degli esami idonei, la comunicazione dei relativi risultati e le eventuali verifiche nella giornata stessa del prelievo. La Commissione eviterà inoltre di sottoporre gli atleti a controlli ematici durante le competizioni che prevedano più turni eliminatori prima delle fasi finali, nel corso della medesima giornata. Il Medico della Federazione Medico Sportiva Italiana (FMSI) presente al controllo, con l'assistenza del Funzionario Delegato del CONI, provvede alla verbalizzazione delle diverse fasi della procedura. Durante tutte le fasi del prelievo, ai presenti sarà chiesto di prestare particolare attenzione al rispetto della privacy dell'atleta, alla tutela del segreto professionale ed alla disponibilità verso eventuali richieste di chiarimenti da fornire agli atleti. In questa fase, cruciale per l'attendibilità del risultato finale, la presenza del Laboratorio è assicurata da uno o più medici prelevatori, inviati direttamente dal laboratorio presso il quale saranno svolte le analisi. Quest'ultimo aspetto rappresenta una grande innovazione nel protocollo poiché, solo garantendo la presenza di personale idoneo e specializzato alla delicata fase del prelievo è possibile limitare l'incidenza d'eventuali errori nella fase preanalitica. In accordo, è necessario definire inequivocabilmente le modalità di prelievo, che devono essere sempre rispettate ed, inevitabilmente, uguali per tutti. Trattandosi pur sempre di analisi di laboratorio ed, a maggior ragione poiché eseguite su soggetti teoricamente sani, non deve essere lasciato spazio all'approssimazione. Pertanto, l'uso del laccio emostatico, l'impiego di provette con anticoagulante liquido piuttosto che in polvere, il riempimento della provetta e la sua miscelazione, il tempo intercorso dal prelievo all'analisi sono tutti parametri essenziali che devono essere controllati con assoluta certezza da personale idoneo.

Le procedure previste per i controlli richiedono la scelta di locali idonei ad assicurare condizioni igieniche ed ambientali favorevoli per l'esecuzione dei prelievi ematochimici. Inoltre, gli ambienti prescelti dovranno garantire l'effettuazione delle analisi in condizioni confortevoli e rispettose della privacy dell'atleta. Dovranno inoltre essere provvisti di bagno ed essere opportunamente riscaldati (almeno 18 °C). Saranno pertanto scelte in prima istanza eventuali prestazioni sanitarie e/o di Pronto Soccorso già predisposte nella sede del controllo.

A corollario del protocollo, sono elencate alcune procedure di sicurezza e garanzia a favore dell'atleta sottoposto ai controlli che coinvolgono direttamente la Medicina di Laboratorio. Esse comprendono:

1. Garanzia di ripetibilità delle analisi (precisione). Il protocollo prevede giustamente che siano immediatamente eseguite analisi di verifica nel caso in cui si riscontrino parametri ematochimici al di fuori dell'intervallo di normalità. Per questo motivo, sono prelevati due campioni biologici di sangue e, se ritenuto necessario, due campioni di urina: uno dei due campioni è destinato alle

prime analisi, il secondo è conservato adeguatamente presso lo stesso laboratorio ed è destinato, se necessario, alle analisi di verifica.

2. **Garanzia di non manomissibilità dei campioni.** Il protocollo prevede che sia garantita all'atleta la non manomissibilità del campione, mediante conservazione in contenitori appositi che saranno riaperti, alla presenza delle parti interessate, in occasione dell'eventuale analisi di verifica.

3. **Garanzia di non identificabilità dei campioni.** Il protocollo prevede tassativamente la non identificabilità del campione biologico fino all'avvenuta comunicazione dei risultati all'atleta stesso ed alle parti interessate. Per questo motivo, il campione non sarà contrassegnato dal nome dell'atleta ma da un codice alfanumerico.

PROTOCOLLO DELLE INDAGINI EMATOCHIMICHE

Il protocollo delle indagini ematochimiche e delle conseguenti procedure di tutela della salute dell'atleta negli sport di resistenza è stato realizzato per conto della Commissione Scientifica Antidoping del CONI dal Prof. Carlo Bernasconi e si è avvalso della collaborazione dei Professori Carlo Brugnara, Robin Parisotto e Mario Plebani. Si legge testualmente nelle premesse "La Campagna nazionale *lo non rischio la salute!* ha costituito un'importante iniziativa per tutelare la salute dell'atleta e per scoraggiare forme di doping finalizzate ad aumentare la massa eritrocitaria, in particolare l'utilizzo di rHuEpo. Varie considerazioni, tuttavia, suggeriscono che è ora opportuno rivedere, aggiornandola, la procedura basata sulla determinazione dell'ematokrito (con valore soglia di 50% per i maschi e del 48% per le femmine) e della creatinuria (con valore soglia di 4 mmol/l). L'impiego di un valore soglia fisso per l'ematokrito, metodo tuttora adottato dall'UCI, risente, infatti, delle seguenti limitazioni:

- a) Non garantisce uniformità di trattamento, in quanto gli atleti con valori medi individuali bassi possono fare ricorso a rHuEpo, senza superare mai la soglia del 50%;
- b) Può indurre alcuni atleti a fare un uso accorto di rHuEpo, modulandone i dosaggi sulla base di ripetuti controlli dell'ematokrito e ricorrendo, eventualmente, ad emodiluizione, in vista dei controlli ematici ufficiali;
- c) Tende a generare, negli atleti e nelle persone che li assistono, l'aberrante convinzione che non è l'abuso di rHuEpo a costituire una pratica scorretta, bensì il superamento della soglia di ematokrito".

Questa precisazione rappresenta una sostanziale innovazione e implicitamente sconfessa le procedure iniziali d'accertamento del CONI, basate sulla sola misurazione dell'ematokrito. Non deve essere dimenticato che l'applicazione del protocollo iniziale ha generato alcuni contestati e, alla luce dei fatti, immotivati procedimenti disciplinari nei confronti d'atleti professionisti. Inoltre, esistono motivi addizionali, non menzionati dal CONI, che rendono inadeguato l'impiego del solo parametro ematokrito. Come già affermato in passato (6), il limite di 50% è arbitrario poiché

esso dipende largamente da razza, età, residenza (altura o pianura); in letteratura sono considerati ancora "normali" valori di ematokrito fino al 53%, indipendentemente dall'impiego di strumentazione basata su metodi ottici o ad impedenza (7). È stato poi recentemente dimostrato che tale limite è frequentemente superato non solo da una significativa percentuale d'atleti (10%) che, in apparenza, non fanno uso di pratiche dopanti, ma anche da molti individui sani (4.5%) che non avrebbero alcun motivo, ne trarrebbero particolari vantaggi, dall'innalzamento della propria massa eritrocitaria oltre tale limite (8). Infine, l'analisi di questo parametro non può essere scorporata dalla valutazione della differenza critica, intesa in sintesi come minimo cambiamento significativo del *set-point* omeostatico di una variabile biologica misurata (9). Analisi attendibili dimostrano che la differenza critica dell'ematokrito si attesta solitamente a valori compresi tra 6.5 e 9.7% (9, 10). Alla luce di queste osservazioni, è maturata una nuova coscienza nella Commissione che, avvalendosi del contributo di Esperti, ha apportato sostanziali modifiche al protocollo iniziale, al fine di ottenere un profilo ematochimico completo, con maggiori probabilità di riconoscere pratiche illecite o condizioni morbose. Pertanto, il protocollo prevede ora l'attuazione di un pannello sufficientemente ampio che comprende:

- Esame emocromocitometrico completo e comprensivo quindi di emoglobina, ematokrito, eritrociti e molti indici aggiuntivi, tra i quali MCV, MCH, MCHC ed RDW;
- Conteggio reticolocitario automatizzato e, ove possibile, raccolta di parametri aggiuntivi, ovvero contenuto emoglobinico medio dei reticolociti e volume reticolocitario;
- Valutazione completa dello stato del ferro corporeo: sideremia, saturazione della transferrina, ferritina sierica e recettore solubile della transferrina;
- Bilirubina totale e diretta, LDH ed aminotransferasi;
- Proteina C reattiva;
- Eritropoietina sierica.

È quindi prevista la misurazione di una serie aggiuntiva di parametri, il cui risultato non è richiesto nella giornata del prelievo, rivolti alla valutazione di situazioni cliniche ben definite:

- a) Parametri fondamentali ricollegabili all'uso di steroidi anabolizzanti:
 - FSH, LH, PT, APTT, colesterolo totale, LDL-colesterolo, gamma-GT e fosfatasi alcalina.
- b) Parametri complementari ricollegabili all'uso di steroidi anabolizzanti:
 - Testosterone, estradiolo, estrone, proteina S, d-dimero, t-PA, PAI-I, antitrombina, apolipoproteina A ed LDL-colesterolo.
- c) Parametri fondamentali ricollegabili all'uso dell'ormone della crescita:
 - GH, LH, FSH, colesterolo totale e trigliceridi.
- d) Parametri complementari ricollegabili all'uso dell'ormone della crescita:
 - IGF-1, IGF-2, IGF-BP2, IGF-BP3, NEFA e glicemia.
- e) Parametri fondamentali ricollegabili all'uso di beta-bloccanti:

- TSH, HDL-colesterolo e trigliceridi.
- f) Parametri complementari ricollegabili all'uso di beta-bloccanti:
 - T3, T4, fT3 ed fT4, insulina e renina.

PARAMETRI DECISIONALI

Sulla base dei dati della letteratura corrente, l'applicazione del protocollo di analisi ematochimiche descritto in precedenza consentirebbe di evidenziare effetti indiretti della somministrazione di rHuEpo. Il protocollo prevede la valutazione di parametri fondamentali (ematocrito, emoglobina, reticolociti, ferritina sierica e recettore solubile della transferrina) e parametri aggiuntivi "di approfondimento". In via transitoria, nell'attesa di disporre di dati longitudinali individuali sufficienti, si assumono come "normali" per ematocrito ed emoglobina alcuni ambiti predefiniti; la progressiva disponibilità di dati individuali consentirà l'impiego di valori di riferimento medi individuali calcolati su almeno due valori precedenti considerati "normali", in quanto associati a valori di reticolociti, ferritina e recettore solubile della transferrina nell'ambito del rispettivo intervallo di riferimento.

Parametri fondamentali

- a) Ematocrito: il valore si considera patologico se lo scostamento dal valore medio individuale, calcolato come indicato in precedenza, è pari o superiore al 10%;
- b) Emoglobina: il valore si considera patologico se lo scostamento dal valore medio individuale, calcolato come indicato in precedenza, è pari o superiore al 10%;
- c) Numero dei reticolociti: il valore deve essere espresso sia in numero assoluto che in percentuale rispetto al numero dei globuli rossi; il valore è considerato patologico se almeno una delle due misure si colloca al di fuori del rispettivo ambito di riferimento (cioè da 0.4 a 2% per il valore percentuale e da 20 a 100.10⁹ per il valore assoluto);
- d) Ferritina sierica: il valore si considera patologico se si colloca al di fuori dell'ambito di riferimento per sesso ed età (generalmente 20-250 ng/ml per i maschi e 10-150 ng/ml per le femmine).
- e) Recettore solubile della transferrina: il valore si considera patologico se si colloca al di fuori dell'ambito di normalità indicato nel kit utilizzato.

Tabella 1

Effetto dell'altitudine sulla massa eritrocitaria (VPRC: Volume Packed Red Cells) (7)

Altitudine		n	VPRC (1/1)
Piedi	Metri		
0	0	721	0.47
4.400	1.340	744	0.495
7.457	2.280	100	0.51
12.240	3.740	40	0.54
14.900	4.540	32	0.61

Parametri ausiliari

- a) Aumento della percentuale degli eritrociti ipocromici (MCHC < 28g/dl);
- b) Aumento della percentuale degli eritrociti macrocitici (MCV > 120 fl);
- c) Aumento del volume reticolocitario;
- d) Aumento del contenuto emoglobinico reticolocitario;
- e) Aumento del rapporto fra emoglobina totale e reticolocitaria;
- f) Aumento del rapporto tra concentrazione del recettore solubile della transferrina e ferritina sierica.

Il laboratorio di analisi esegue due determinazioni per ogni parametro e la Commissione Scientifica Antidoping utilizzerà per il calcolo la media dei due valori. Appare legittimo sollevare alcuni dubbi sulla reale indipendenza di emoglobina, ematocrito, reticolociti, parametri reticolocitari e parametri del ferro corporeo da condizioni caratterizzate da iperproduzione di epo endogena, come ad esempio il soggiorno prolungato in altura. In effetti, nonostante quest'osservazione appaia suffragata da attendibili riferimenti scientifici ed accurate ricerche condotte dall'Australian Institute of Sport (11-13), le indicazioni in letteratura sono tuttora contrastanti, soprattutto quelle relative alle variazioni della massa eritrocitaria, dell'ematocrito, dell'emoglobina e del numero dei reticolociti (7, 14-16). In dettaglio, l'analisi delle possibili variazioni medie della massa eritrocitaria in rapporto al soggiorno in altura (Tabella 1) suggerisce ineluttabilmente una maggiore cautela nell'affrontare il problema ed evidenzia la necessità d'indagini più approfondite.

Per quanto concerne le modalità di prelievo, il protocollo suggerisce di eseguire il prelievo il mattino a digiuno, idealmente tra le 7 e le 9, preferibilmente da una vena cubitale con aghi di generose dimensioni (possibilmente 19 G o 21 G). Il soggetto da controllare deve rimanere seduto per almeno 10 minuti in un ambiente con temperatura confortevole e, di regola, il laccio va usato solo per prendere la vena mentre, durante tutto il prelievo, esso va rimosso al fine evitare stasi venosa ed emocoagulazione. Ogni prelievo dubbio (difficoltoso, segni evidenti d'emolisi) deve essere scartato.

LE DECISIONI OPERATIVE

Le decisioni operative, messe in atto qualora un atleta presentasse parametri eccedenti quelli prestabiliti dal CIO,

sono due (Fig. 1):

1. Presenza di una singola anomalia dei parametri fondamentali considerati oppure di uno o più parametri complementari: l'atleta prosegue temporaneamente l'attività agonistica ma viene inviato presso un Centro specialistico di riferimento per svolgere i necessari approfondimenti;

2. Presenza di più di almeno due anomalie dei parametri fondamentali, di cui almeno uno rappresentato da ematocrito o emoglobina: l'atleta viene sospeso dall'attività sportiva fino alla normalizzazione dei suoi valori, attestata da un nuovo controllo ematico, sulla base del quale la Commissione Scientifica Antidoping propone alla Federazione Sportiva di competenza di autorizzare la ripresa dell'attività e, quindi, di sancire la riacquisita idoneità alla pratica sportiva.

Nel secondo caso è quindi decisa la sospensione dell'attività sportiva che si configura come una revoca temporanea dell'idoneità alla pratica agonistica. Tale idoneità, nella concezione più ampia ed appropriata che le va riconosciuta, significa - infatti - assenza di condizioni di rischio che possano mettere a repentaglio la salute e l'incolumità dell'atleta che pratica lo sport.

Secondo le intenzioni del Promotore, le anomalie ematochimiche eventualmente riscontrate nel corso della suddetta Campagna e che possono condurre al provvedimento di revoca temporanea del giudizio d'idoneità, pur assimilabili alle condizioni di "positività" che derivano dagli esami antidoping sulle urine, se ne differenziano formalmente. In effetti, mentre gli esami antidoping si basano sul riconoscimento diretto di sostanze illecite o loro metaboliti come spia d'assunzione, negli esami della Campagna "*Io*

non rischio la salute!" manca il riconoscimento diretto e quindi, seppur con elevata probabilità matematica, l'esito non può differire da quello di un "sospetto biochimico" (6).

IL COINVOLGIMENTO DEL LABORATORIO

La recente versione della campagna "*Io non rischio la salute!*", propone finalmente una partecipazione attiva e decisiva della Medicina di Laboratorio, che sembrerebbe aver finalmente ripreso "quel ruolo che gli è proprio" (6, 17). In effetti, la Medicina di Laboratorio è coinvolta in molte fasi del processo, le più importanti analiticamente. E', pertanto, compito del Laboratorio:

1. L'invio di una propria équipe medica secondo la necessità della Campagna sul luogo d'effettuazione del controllo, anche nei giorni festivi e prefestivi. Il numero di medici da inviare è proporzionale al numero dei prelievi; è previsto un medico fino a 20 prelievi, più medici per raccolte più numerose;

2. L'esecuzione diretta del prelievo, impiegando personale altamente specializzato e mediante mezzi tecnici adeguati;

3. Il trasporto e la custodia dei campioni in sede ad opera di personale competente ed impiegando mezzi tecnici idonei;

4. L'effettuazione delle analisi entro i tempi stabiliti; in particolare, devono essere trasmessi nella giornata del prelievo i risultati di emocromo completo, conteggio reticolocitario, recettore solubile della transferrina, ferritina ed esame urine completo; la possibilità di misurare in giornata altri parametri specialistici (percentuale di eritrociti ipocromici, di eritrociti macrocitici, contenuto emoglobinico me-

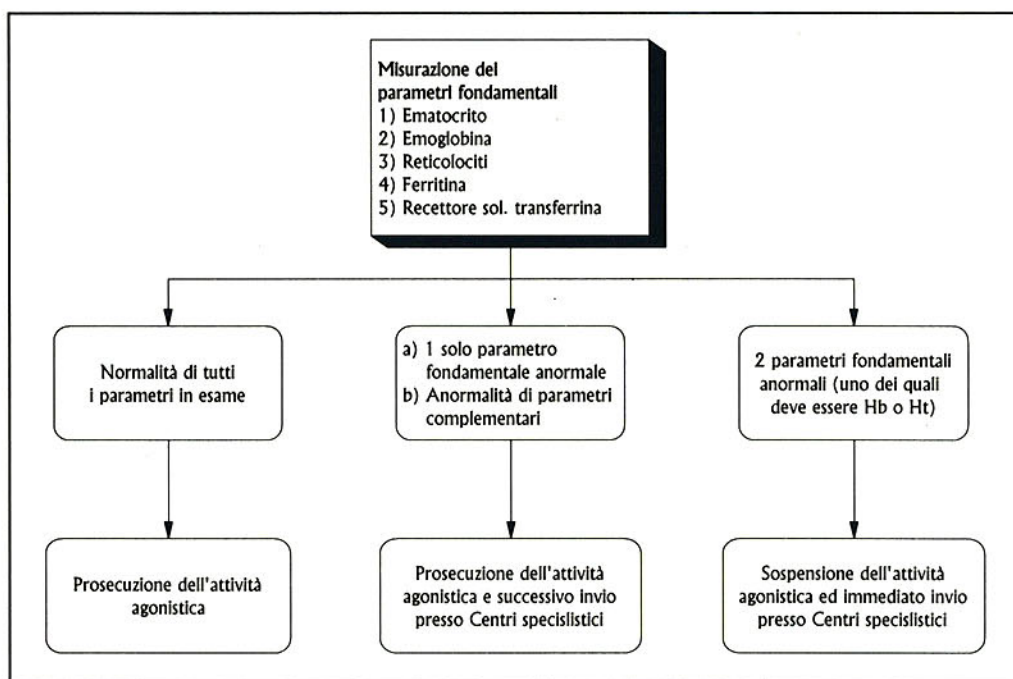


Figura 1

Algoritmo decisionale per la valutazione dei risultati delle analisi della Campagna "*Io non rischio la salute!*"

dio reticolocitario e volume corpuscolare medio reticolocitario) rappresenterà elemento di preferenza nel caso in cui più di un laboratorio della stessa regione richieda l'accreditamento;

5. L'esecuzione d'analisi di verifica utilizzando il secondo campione prelevato;

6. La comunicazione tempestiva dei risultati ottenuti alla Commissione Scientifica Antidoping.

Dall'analisi del protocollo si coglie una seconda, decisiva innovazione: l'indipendenza del laboratorio dalla Commissione Scientifica Antidoping, durante tutto lo svolgimento del processo analitico. Concretamente, questo implica autonomia di modalità operative, dalla raccolta del campione fino alla trasmissione del risultato, includendo libertà di scelta di tecniche analitiche e di monitoraggio dei risultati (l'elevato standard qualitativo è comunque garantito dall'accreditamento della struttura, requisito necessario affinché il Centro sia incluso nel Progetto). È evidente che, in altre fasi dell'iter procedurale previsto dal protocollo (selezione degli atleti da sottoporre al controllo, raccolta della documentazione clinica e comunicazione d'eventuali decisioni di sospensione), il Laboratorio non può e non deve interferire con l'operato della Commissione.

I campioni prelevati perverranno al laboratorio di analisi prescelto in forma anonima, contraddistinti da un codice alfanumerico, dal sesso e dall'età. Questi ultimi due parametri sono essenziali, affinché i valori riscontrati possano essere confrontati con gli intervalli di riferimento in uso nello stesso laboratorio. Al fine di partecipare alla Campagna, il laboratorio dovrà indicare le proprie coordinate geografiche e le principali caratteristiche, indicando l'eventuale accreditamento, tipologia e frequenza dei controlli di qualità per ogni singolo settore, orari di lavoro, comprensivi di turni di reperibilità o guardia attiva (le gare si svolgono anche nei giorni festivi), la disponibilità a svolgere libera professione, la modalità di refertazione, l'affidabilità dei vari operatori (personale laureato, tecnico, amministrativo e di supporto) ed i nominativi di un responsabile e di altro personale eventualmente coinvolto direttamente nel Progetto. Inoltre, è fatta richiesta d'indicare, mediante apposita modulistica, la disponibilità all'esecuzione dei parametri indicati dalla Commissione, la modalità consueta d'esecuzione dell'analisi (test routinario, d'urgenza, altro), i tempi di accettazione, esecuzione e refertazione, marca e modello dello strumento in uso e principio della reazione su cui si basa il test, unità di misura e relativi intervalli di riferimento distinti per sesso ed età. Infine, al fine di valutare la preparazione scientifica in previsione di un eventuale contributo all'attività di ricerca, è richiesto di specificare il numero di pubblicazioni del personale del laboratorio negli ultimi 5 anni ed il relativo Impact Index totale.

L'esecuzione delle analisi prevede il rimborso completo per prestazione secondo tariffa elencata dal laboratorio e la somma forfetaria di compenso per il medico prelevatore di L. 200.000 (al lordo delle ritenute di legge) per giornata di prelievo ed un rimborso delle spese di viaggio nel caso di sedi distanti di più di 100 km dal laboratorio. Per lo specifico aspetto dei costi, ogni laboratorio che

intenda accreditarsi fa pervenire la propria offerta più vantaggiosa per tutti i parametri previsti, fondamentali o complementari, dividendo la spesa per singola determinazione o per determinazioni multiple (5, 10, 15, 20, oltre).

Infine, l'identificazione dei laboratori accreditati che partecipano alla Campagna è totalmente a discrezione della Commissione Scientifica Antidoping, la quale dovrebbe selezionare un numero limitato di sedi su tutto il territorio nazionale (non più di 10-15 laboratori per ovvie ragioni di attendibilità e confrontabilità dei dati).

CONCLUSIONI

Il tema della lotta al doping è recentemente assorto ad interesse prioritario della Medicina di Laboratorio, poiché proprio questa Disciplina offre le armi più efficaci per arginare il fenomeno ormai dilagante. N'è prova il fatto che proprio il rapporto fra Medicina di Laboratorio e doping sarà uno dei temi salienti del prossimo Congresso Nazionale della SIBioC (Rimini 12-15 settembre 2000), anticipato da una lettura plenaria dal titolo "Il problema del doping".

L'analisi accurata del nuovo protocollo del CONI "Io non rischio la salute!" porta alla formulazione di alcune considerazioni conclusive. Innanzi tutto, non si coglie ipocrisia nella definizione del preciso ruolo della Campagna che, pur mirando principalmente alla tutela della salute dell'atleta, non nasconde l'ambizione di affiancare ed integrare i comuni controlli antidoping senza, almeno per ora, pretese d'avvicendamento. In sostanza, si tratta di un approccio rivisto al problema, che appare ora più accurato, riflessivo e ponderato, che si avvale della collaborazione attiva di rappresentanti delle varie branche specialistiche coinvolte direttamente nel progetto. Nella sua veste rivista, la Campagna non rappresenta solamente un "check-up" biochimico finalizzato ad identificare patologie o illeciti, ma soprattutto, un forte ed incontestabile deterrente alla pratica del doping. Malgrado l'assenza di riferimenti certi sulla pratica del doping rappresenti un ostacolo per l'accurata quantificazione epidemiologica del fenomeno, recenti osservazioni sembrerebbero confermare il rilevante potere dissuasivo dei test antidoping. In un recente studio prospettico che avuto come oggetto una popolazione di biatleti professionisti, Manfredini e Colleghi osservano un perentorio calo nel corso degli anni del valore medio di ematocrito e della percentuale di soggetti con valori superiori al 50%, con variazioni molto considerevoli in corrispondenza dei Campionati del Mondo (18). Benché non sia possibile formulare delle ipotesi definitive su queste osservazioni, è verosimile che controlli antidoping più accurati e frequenti abbiano contribuito a dissuadere alcuni atleti dalla pratica di tecniche illecite o potenzialmente nocive (18).

Se si prescindono dagli aspetti burocratici, il giudizio sulle procedure operative, quelle di maggior pertinenza laboratoristica, è globalmente positivo. Le innovazioni più sostanziali riguardano la revisione del protocollo d'esame, non più pretenziosamente basato sulla misura del solo

ematocrito ma, a seguito di forte pressione da parte di letteratura scientifica sempre più rilevante (19-24), integrato da parametri aggiuntivi più accurati e specifici, quali la misurazione della concentrazione sierica del recettore solubile della transferrina (20-24) e gli indici reticolocitari (25). Un aspetto decisivo è l'attribuzione integrale di responsabilità al laboratorio per quanto concerne le molteplici fasi del processo analitico e che si articolano dalla raccolta del campione alla refertazione dell'analisi. Il previsto decentramento operativo, da un unico laboratorio centralizzato a 10-15 strutture accreditate sul territorio, è garanzia di funzionalità e qualità, sempre che sia confermato l'impiego di criteri di accuratezza ed assoluta imparzialità nella scelta.

Uno degli aspetti salienti, invocato a gran voce da molti a seguito del "caso Pantani" (6, 17), è il modo totalmente rivisto d'interpretare i risultati. Scompare, almeno per i due parametri più criticati (ematocrito ed emoglobina), il riferimento all'intervallo di normalità, sostituito dal più analiticamente corretto "scostamento dal valore medio individuale" (si rammenta che non v'è omogeneità assoluta tra popolazione normale, teoricamente sedentaria, e popolazione di atleti, molto attiva fisicamente). La presunta anormalità, definita sulla base di un valore più aderente alla realtà dell'individuo, rettifica l'attendibilità interpretativa del risultato, ora scorporato dalla componente per nulla trascurabile della variabilità inter-individuale. In pratica, il limite di scostamento dal valore medio individuale del 10%, esattamente conforme a quanto suggerito tempo addietro nelle pagine di questa stessa rivista (6), si mantiene ora nell'ambito della differenza critica (9, 10). Ulteriore garanzia d'attendibilità si coglie nell'accuratezza della formula di calcolo del valore medio individuale e dai limiti d'applicazione, secondo cui valori di ematocrito o emoglobina sono esclusi dal calcolo se rilevati in presenza di anomalie di almeno uno degli altri tre parametri fondamentali in esame (reticolociti, ferritina sierica e recettore solubile della transferrina). I provvedimenti messi in atto per la tutela della salute dell'atleta, in caso di positività di almeno due dei cinque parametri fondamentali (uno dei quali necessariamente rappresentato da ematocrito o emoglobina) (Fig. 1), sono più cauti e riflessivi poiché, come già ricordato, "l'incriminazione di un atleta ne può compromettere spesso ineluttabilmente immagine e carriera" (6). La stessa revoca all'esercizio dell'attività agonistica deve essere interpretata alla luce della tutela della salute dell'atleta e non come mero provvedimento disciplinare. E' peraltro evidente che, accanto agli obiettivi più "sanitari", la Campagna avrà un ineluttabile e naturale riflesso preventivo e dissuasivo sulla pratica di tecniche illecite e potenzialmente dannose, senza tuttavia ricorrere a disposizioni troppo repressive e criminalizzanti. Altra nota positiva riguarda i suggerimenti per l'ottimizzazione del prelievo e della conservazione del campione, al fine di ridurre l'incidenza delle variabili preanalitiche. Nel Protocollo è fatta esplicita menzione a tutte le norme per assicurare accuratezza ed omogeneità in una fase determinante del processo analitico.

In conclusione, il fenomeno del doping nello sport

professionistico appare la classica "punta dell'iceberg". Sulla base d'osservazioni attendibili, è possibile stimare che la pratica di tecniche illecite volte al potenziamento delle prestazioni agonistiche coinvolga il 3-5% dei bambini ed il 15-25% degli adulti dediti a sport competitivi (1). E' quindi evidente che il previsto allargamento della Campagna ad atleti non professionisti e, soprattutto, ai bambini sortirà un effetto decisivo, gettando solide basi di prevenzione, di effettiva tutela della salute e garantendo contestualmente il ritorno alla genuinità del gesto atletico che caratterizza intimamente le competizioni sportive.

BIBLIOGRAFIA

1. Laure P. Epidemiologic approach to doping in sport. A review. *J Sport Med Phys Fitness* 1997;37:218-4.
2. Honour JW. Misuse of natural hormones in sport. *Lancet* 1997;349:1786.
3. Erikssen G, Thaulow E, Sandvik L, Stormorken H, Erikssen J. Haematocrit: a predictor of cardiovascular mortality? *J Intern Med* 1993;234:493-9.
4. Gagnon DR, Zhang TJ, Brand FN, Kannel WB. Hematocrit and the risk of cardiovascular disease. The Framingham study: a 34-year follow-up. *Am Heart J* 1994;127:674-82.
5. Corretto uso del ricettario. *Verona Medica* 1999;34:17.
6. Lippi G. Medicina di laboratorio e doping. *Biochim Clin* 1999;23:216-26.
7. Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9th edition. Philadelphia. Lea & Febiger ed. 1993.
8. Vergouwen PC, Collee T, Marx JJ. Haematocrit in elite athletes. *Int J Sports Med* 1999;20:538-41.
9. Franzini C. Relevance of analytical and biological variations to quality and interpretation of test results: examples of application to hematology. *Ann Ist Super Sanità* 1995;31:9-13.
10. Fraser CG, Wilkinson SP, Neville RG, Knox JD et al. Biological variation of common hematologic laboratory quantities in the elderly. *Am J Clin Pathol* 1989;92:465-70.
11. Parisotto R. Recombinant human erythropoietin abuse in elite athletes. Detection through reticulocyte parameter analysis. Australian Institute of Sport Interim Report, 1999.
12. Gore CJ, Craig NP, Hahn AG, Rice AJ, Bourdon PC, Lawrence SR, Walsh CBV, Barnes PG, Parisotto R, Martin DT, Pyne DB. Altitude training at 2690m does not increase total haemoglobin mass or sea level VO₂max in world champion track cyclists. *J Sci Med Sport* 1998;1:156-70.
13. Ashenden MJ, Gore CJ, Martin DT, Dobson GP, Hahn AG. Effects of a 12-day "live-high, train low" camp on reticulocyte production and haemoglobin mass in elite female road cyclists. *Eur J Appl Physiol* 1999;80:472-8.
14. Chapman RF, Stray-Gundersen J, Levine BD. Individual variation in response to altitude training. *J Appl Physiol* 1998;85:1448-56.
15. Friedmann B, Jost J, Rating T, Weller E, Werle E, Eckardt KU, Bartsch P, Mairbaurl H. Effects of iron supplementation on total body hemoglobin during endurance training at moderate altitude. *Int J Sports Med* 1999;20:78-85.
16. Akdag R, Energin VM, Kalayci AG, Karakelleoglu C. Reference limits for routine haematological measurements in 7-14-year-old children living at an intermediate altitude (1869m, Erzurum, Turkey). *Scand J Clin Invest* 1996;56:103-9.
17. Franzini C. I risultati di laboratorio devono essere sempre correttamente interpretati. Esperienze dal "caso Pantani".

- Biochim Clin 1999;23:203-4.
18. Manfredini F, Tschukin A, Moran M, Mangolini C, Buzzoni D, Haberstroh J. Blood testing in biathlon: observation of hematocrit values during competitive periods 1994-1997. *Int J Sports Med* 1999;20:403-6.
 19. Beguin Y. Prediction of response to optimize outcome of treatment with erythropoietin. *Semin Oncol* 1998; 25 (Suppl.7): 27-34
 20. Gareau R, Gagnon MG, Thellend C, Chenard C, Audran M, Chanal JL, Ayotte C, Brisson GR. Transferrin soluble receptor: a possible probe for detection of erythropoietin abuse by athletes. *Horm Metab Res* 1994;26:311-2.
 21. Bressolle F, Audran M, Gareau R, Baynes RD. Population pharmacodynamics for monitoring epoetin in athletes. *Clin Drug Invest* 1997;14:233-42.
 22. Audran M, Gareau R, Matecki S, Durand F, Chenard C, Sicart MT, Marion B, Bressolle F. Effects of erythropoietin administration in training athletes and possible indirect detection in doping control. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31:639-45.
 23. Lippi G. Il ruolo del laboratorio nell'identificazione degli atleti dediti ad assunzione impropria di eritropoietina. *Med Lab* 1999;7:310-11.
 24. Lippi G, Guidi G. Laboratory screening for erythropoietin abuse in sport: an emerging challenge. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:1-7.
 25. Schaefer RM, Schaefer L. Hypochromic red blood cells and reticulocytes. *Kidney Int Suppl* 1999;69:S44-8.