

Problematiche nell'organizzazione e gestione dell'attività di laboratorio nelle allergopatie

Giulio Vignati, Dalia Griffanti, Antonietta Maronati, Emiliana Pastori
Centro Malattie Endocrine e Metaboliche, Ospedale "G.Fornaroli" Magenta (MI)

ABSTRACT

Organizing and managerial problems in laboratory activity for allergometry

The organizing and managerial problems in laboratory diagnostics for allergometry presents many critical state, due in particular to heterogeneity of allergens typology (for the analytical aspects) and of requests (from allergists or general practitioner). In this paper we examine these aspects using, as model, the evolution of our laboratory, particularly for request management, use of methods able to give and maintain good analytical results during long time (it means perform suitable programs for QCI and VEQ), and give to clinicians correct expression of results. Using experimental data from our laboratory we evaluate and compare new possible organizing solutions for total automation of sIgE determination evaluating productivity, TAT and real time of operator job.

RIASSUNTO

La diagnostica allergologica di laboratorio presenta aspetti di indubbia criticità in termini di organizzazione e di gestione delle attività; problematiche legate in particolare alle caratteristiche delle sostanze da misurare (eterogeneità nella tipologia degli allergeni) e delle richieste che pervengono al laboratorio dai diversi prescrittori (specialisti o medici di base). In questo contributo vengono esaminati tali aspetti usando come filo conduttore il modello evolutivo che ha caratterizzato il nostro laboratorio; con particolare attenzione alla gestione delle richieste, all'utilizzo di metodologie analitiche in grado di garantire e mantenere nel tempo elevati livelli qualitativi dei risultati forniti con la impostazione e gestione di idonei programmi per la verifica costante della loro qualità, alle modalità di espressione dei risultati. Utilizzando dati ottenuti presso il nostro laboratorio abbiamo inoltre considerato le caratteristiche delle possibili soluzioni organizzative in automazione totale (di recente disponibilità) valutandone le relative prestazioni in termini di produttività dei risultati forniti, tempi di risposta ed impegno del personale addetto.

Risale agli anni 60 il primo lavoro di Johansson (1) che quasi un decennio dopo la nascita della radioimmunologia (2,3) ha esteso i vantaggi di questa tecnica analitica, nata per applicazioni tipicamente legate alla diagnostica endocrinologica, alle indagini allergologiche aprendo alla diagnostica di laboratorio un campo sino a quel momento inesplorato.

Proprio per il tipo di tecnica utilizzata queste determinazioni hanno obbligatoriamente trovato spazio nei laboratori attrezzati (ed autorizzati) per l'utilizzo degli isotopi radioattivi determinandovi, a volte, per la tipologia intrinseca delle richieste, carichi di lavoro importanti.

La progressiva evoluzione delle tecniche immunochimiche verso l'impiego di traccianti non isotopici ha aperto alla diagnostica allergologica da un lato la via dell'automazione e dall'altro la porta di un numero sempre crescente di laboratori venendo meno i vincoli autorizzativi imposti dalla manipolazione dei traccianti radioattivi. (4) Si può facilmente prevedere che l'attuale tendenza al crearsi di strutture sanitarie (pubbliche e private) caratterizzate dall'accorpamento dei servizi di laboratorio in realtà di dimensioni crescenti ed il conseguente diffondersi (in maniera più o meno giustificata) di soluzioni organizzative finalizzate al consolidamento di tipologie e numerosità di

analiti il più elevato possibile su piattaforme analitiche omogenee possa coinvolgere anche la determinazione delle IgE specifiche (sIgE), parametro cardine della diagnostica allergologica *in vitro*.

Parallelamente all'affinarsi delle metodiche analitiche si è verificata, anche per questi dosaggi, un percorso di standardizzazione (riferimento dei risultati ad una Preparazione Internazionale di Riferimento e loro espressione in termini quantitativi)(5,6) e di miglioramento della qualità dei risultati (riduzione delle variabilità intra ed interlaboratorio dei dosaggi)(7) pur perdurando, sotto questo punto di vista, la necessità di ridurre le divergenze, a volte importanti, tra i risultati ottenibili impiegando metodiche e tecnologie diverse(8).

Attualmente nei laboratori di analisi si opera sempre più secondo concetti di qualità totale ed anche alla diagnostica allergologica si richiede la soddisfazione di criteri recentemente acquisiti sulla base delle emergenti esigenze di natura logistica, informatica, regolamentare. Anche il laboratorio è costretto, da scelte di politica sanitaria generale, a rivoluzionare l'organizzazione del personale (bene ormai in via di estinzione), della strumentazione, del trattamento e trasmissione dei dati con indirizzi orientati dall'implementazione di sistemi di qualità certificati e dalle

pressanti necessità a confrontarsi con budget di spesa sempre più ristretti. E' con questi obiettivi che presso i laboratori dovrebbe essere operata la selezione e la conseguente scelta per l'utilizzo dei sistemi analitici che, riteniamo, debbano prioritariamente fornire ottime prestazioni in termini analitici e clinici ma anche (a volte in maniera irrinunciabile) la possibilità di eseguire elevati carichi di lavoro richiedendo il più basso livello possibile di impiego del personale.

Nel settore dell'allergometria, sino ad oggi tipicamente legato alla esecuzione dei test con operatività *in batch* e quindi con tempi di risposta necessariamente allungati dalla necessità di raccogliere una adeguata numerosità di campioni, un test per il dosaggio delle IgE allergene specifiche deve attualmente poter essere effettuato velocemente, in linea con i tempi dettati dai normali test di chimica clinica garantendo però nel contempo oltre a risultati disponibili per il clinico in tempi rapidi prestazioni efficienti in termini di qualità analitica.

Le problematiche organizzative che il laboratorio ha affrontato e sta affrontando relativamente a queste determinazioni presentano spesso aspetti di peculiarità legati, oltre alla caratteristica delle sostanze da misurare, alla elevatissima eterogeneità delle richieste: un laboratorio che si occupi in maniera efficiente di diagnostica allergologica deve poter gestire circa 200 allergeni che, a volte, equivalgono in termini di problematiche da affrontare ad altrettanti analiti diversi soprattutto per quanto attiene la qualità analitica.

Obiettivo del presente contributo è quello di evidenziare gli aspetti critici caratterizzanti la diagnostica allergologica di laboratorio ripercorrendo problemi e relative soluzioni che hanno segnato l'attività del nostro laboratorio che, inserito nel contesto di un laboratorio generale di un ospedale di medie dimensioni, da oltre un trentennio è caratterizzato dall'utilizzo di tecniche immunochimiche finalizzate alla diagnostica endocrinologia (attività istituzionale), di marcatori tumorali, farmaci e appunto alla diagnostica allergologica *in vitro*.

La nostra certezza è che le stesse problematiche siano comuni alla maggioranza dei laboratori che si occupano di allergologia, la nostra speranza che le soluzioni man mano adottate nella nostra realtà possano costituire utile spunto per chi questi problemi li dovrà affrontare.

ORGANIZZAZIONE DI UN LABORATORIO DI ALLERGOLOGIA: LE RICHIESTE

Uno degli aspetti critici della diagnostica allergologica in generale e di quella *in vitro* in particolare è legato alla numerosità degli allergeni potenzialmente coinvolti e necessari al completamento del percorso diagnostico(9). A fronte di situazioni ben definite relative a richieste di determinazione delle sIgE che pervengono al laboratorio da strutture specialistiche, nel qual caso le indicazioni riguardano, in genere, allergeni chiaramente identificati; da sempre risultano di difficile gestione le richieste che pervengono al laboratorio senza l'opportuno filtro costituito dallo specialista ma che fanno parte di un percorso diagnostico

iniziale gestito dal medico non specialista che negli ultimi anni hanno assunto un ruolo ed un peso significativi. In tale situazione, e pensiamo che tutti i laboratori debbano quotidianamente confrontarsi con richieste generiche che variano solo in funzione della fantasia del prescrittore, (RAST, RAST completo, test allergici di laboratorio, dosaggio sIgE per allergia, test per allergia alimentare, sono solo alcuni esempi tratti dalla nostra esperienza) il responsabile del laboratorio si trova spesso in difficoltà nel soddisfare le legittime aspettative del paziente.

In generale si possono configurare due diversi atteggiamenti dettati, a volte, dal maggiore o minore interesse del laboratorio per l'aspetto remunerativo della prestazione. In alcune realtà si opta per l'esecuzione, in maniera indiscriminata, di pacchetti predeterminati dal laboratorio o a volte direttamente dal produttore dei diagnostici impiegati (i famosi "pannelli") costituiti da un numero elevato di allergeni, molto spesso senza nessuna garanzia di poter contribuire realmente alla soluzione del problema diagnostico del singolo paziente ma sicuramente con costi elevati per il paziente stesso o per il Servizio Sanitario Nazionale. In altre strutture si tende a rinviare "cliente" e richiesta al medico prescrittore alla ricerca di improbabili delucidazioni riguardo le determinazioni da eseguire creando, spesso, solo disagio all'incolpevole paziente (10).

La nostra esperienza ci ha portato, operando in collaborazione con i servizi di allergologia della struttura ospedaliera, ed attraverso un percorso di coinvolgimento e sensibilizzazione dei medici di medicina generale e dei pediatri di base del nostro bacino di utenza a predisporre un meccanismo di razionalizzazione delle richieste che negli anni (il nostro laboratorio esegue il dosaggio delle sIgE dal 1977) ci ha consentito di mantenere piuttosto basso e costante nel tempo il numero di allergeni eseguiti per richiesta (Fig.1) riducendo nel contempo accessi inutili alle strutture specialistiche e contribuendo alla riduzione dei tempi di attesa per i pazienti realmente meritevoli di approccio specialistico.

Per tradizione, riguardando la maggioranza delle nostre richieste indicazioni specialistiche, non abbiamo mai dato seguito alle richieste generiche; dopo una fase iniziale, compatibile con la non elevata numerosità dei pazienti coinvolti, in cui le richieste senza indicazione dettagliata degli allergeni venivano inviate per una opportuna valutazione all'ambulatorio specialistico di pertinenza (pediatrico o di allergologia generale) si è optato per un meccanismo di coinvolgimento più stretto dei medici curanti fornendo loro la stessa modulistica di richiesta utilizzata dagli specialisti, riportante tutti i tipi di test allergometrici e di allergeni eseguibili presso il laboratorio (Fig.2) e proponendo loro, per quei pazienti nei quali il sospetto diagnostico poteva ricomprendere problematiche di tipo allergologico, percorsi diagnostici a più livelli gestibili direttamente dal laboratorio con il meccanismo dei test di approfondimento (*reflex test*) in funzione di alcuni parametri iniziali.

Tale modello consente al medico curante di avere un riscontro iniziale circa la conferma o meno del proprio sospetto diagnostico decidendo, in base ai test eseguiti ed alla propria valutazione clinica, l'inoltro o meno del pazien-

te alla struttura specialistica già con una indicazione dei possibili allergeni coinvolti o in alternativa, in caso di completa negatività delle indagini e senza ulteriori indicazioni cliniche in tal senso, l'orientamento verso patologie di altro genere.

Lo schema è stato affinato negli anni (integrando o variando numerosità e tipologia degli allergeni secondo le indicazioni degli specialisti ed in funzione dei riscontri epidemiologici e di prevalenza della popolazione locale) sino all'attuale configurazione differenziata per fasce di età ed in base alle problematiche cliniche (sospetto di allergia ad inalanti e/o ad alimenti) (Tab. 1).

A tale proposito ricordiamo in Tabella 2 le incidenze in termini di positività e negatività dei test iniziali eseguiti in seguito a richieste non specialistiche afferenti alla nostra struttura; tali dati evidenziano che, nella nostra realtà, mediamente solo meno della metà dei soggetti (circa il 40%) per i quali il medico curante aveva ipotizzato una possibile patogenesi allergica nelle problematiche segnalate dal paziente era realmente meritevole (fatte salve eventuali diverse valutazioni di tipo clinico apparentemente in contrasto con la negatività dei test

eseguiti) di un approfondimento specialistico in quella direzione; in tal modo evitando ingiustificati sovraccarichi alle strutture specialistiche che possono operare al meglio nei confronti dei pazienti effettivamente di loro competenza.

Il tipo di modulistica utilizzata, riportando direttamente le codifiche utilizzate dal sistema informatico di laboratorio, consente anche una notevole semplificazione dell'attività del personale amministrativo che provvede all'inserimento diretto, in fase di accettazione del paziente, dei test richiesti che verranno poi gestiti in maniera automatica dai sistemi analitici.

Ci sembra di poter affermare che in tal modo il laboratorio possa venire incontro alle esigenze cliniche di tutti i soggetti coinvolti (paziente, medico di base, specialista) con indubbi vantaggi per ciascuno di loro e contenendo in maniera ragionevole i costi sostenuti dai soggetti richiedenti (in termini di contributo alla spesa) e/o deputati al rimborso della prestazione secondo il tariffario regionale ma soprattutto fornendo informazioni clinicamente efficaci.

Tabella 1

Protocolli diagnostici per indagini allergologiche di laboratorio (utilizzati per richieste non specialistiche)

Richieste per test allergologici in bambini (0 - 5 anni)		Richieste per bambini oltre i 5 anni ed adulti	
Eseguito: PHADIATOP INFANT		Eseguito: PHADIATOP ^a + W1 Ambrosia elatior	
=		=	
Positivo		Positivo	
↓		↓	
Alimenti +	PHADIATOP ^a + W1 Ambrosia elatior	G2 Cynodon dactylon	G5 Lolium perenne
F1 albume	=	W5 Artemisia absinthium	W9 Plantago lanceolata
F2 latte	Positivo	W19 Parietaria officinalis	T3 betulla
F3 pesce	↓	T9 olivo	T23 cipresso
F4 grano	G5 Lolium perenne	D1 Dermatophagoides pter.	D2 Dermatophagoides far
F13 arachidi	W5 Artemisia absinthium	E1 apitelio di gatto	E5 forfora di cane
F14 grano	W19 Parietaria officinalis	M2 Cladosporium	M3 Aspergillus fumigatus
F25 pomodoro	T3 betulla	M6 Alternaria tenuis	
F27 carne di bue	D1 Dermatophagoides pter.		
F35 patate	E1 apitelio di gatto		
	E5 forfora di cane		
	M6 Alternaria tenuis		
		Per sospetto diagnostico di allergia alimentare	
		Eseguito : Profilo alimentare adulti	
		F1 albume	F2 latte
		F4 grano	F12 piselli
		F13 arachidi	F14 semi di soia
		F17 nocciola	F24 gambero
		F25 pomodoro	F35 patata
		F49 mela	F84 kiwi
		F87 melone	

a) La scelta degli allergeni eseguiti in caso di Phadiatop positivo tiene conto, oltre che delle valutazioni epidemiologiche e di prevalenza relative alla popolazione locale, delle reazioni crociate esistenti e documentate in letteratura tra le diverse famiglie di allergeni. Analogamente si è proceduto nella scelta degli alimenti del profilo alimentare

Tabella 2

Incidenze risultati positivi sui test di prima esecuzione relativi a pazienti inviati da medici di medicina generale e pediatri non specialisti (anno 2003)

Test eseguito	n	Pazienti positivi (%)	Pazienti negativi (%)
Phadiato p infant	338	44,4	55,6
Phadiatop	1180	44,6	55,4

GESTIONE DI UN LABORATORIO DI ALLERGOLOGIA

Come per le altre attività di laboratorio notevoli progressi si sono registrati negli anni anche per la diagnostica allergologica *in vitro*; a far tempo dalle prime metodologie disponibili con tecnica basata sui dischi di cellulosa ed isotopo radioattivo (RAST - Radio Allergo Sorbent Test; termine talmente consolidato da divenire, pur impropriamente ed anche per i clinici, sinonimo di diagnostica allergologica di laboratorio) passando, con maggior o minor successo, attraverso l'impiego di altre fasi solide o degli allergeni in fase liquida, dei traccianti non isotopici (enzimatici, fluorescenti, luminescenti) sino alle soluzioni che hanno introdotto fasi solide ad elevata capacità e l'utilizzo di strumentazione in automazione totale.

In generale l'evoluzione delle tecnologie utilizzate ha comportato sensibili miglioramenti, oltre che in termini di praticabilità e produttività, anche per quanto attiene la qualità analitica soprattutto dal punto di vista della riproducibilità dei risultati nel tempo almeno nell'ambito dello stesso laboratorio e tra diversi laboratori che utilizzano la medesima tecnologia analitica (Fig. 3) (11). Nonostante la quasi totalità dei metodi disponibili dichiarati identità di calibrazione nei confronti della medesima preparazione internazionale di riferimento (2nd WHO International Reference Preparation 75/502 per IgE totali) (12,13) permangono

no importanti differenze, metodo dipendenti, in termine di accuratezza tali da comportare, per alcune metodologie e soprattutto per alcuni allergeni, differenze nella classificazioni dei campioni e quindi nello stato clinico dei pazienti (atopico/non atopico) in funzione della metodica utilizzata. (14)

Uno degli aspetti gestionali più impegnativi si è legato nel tempo alla necessità di ridurre al minimo l'impiego del personale da dedicare a queste determinazioni tenendo conto delle fasi pre analitiche (accettazione amministrativa e strumentale delle richieste) del processo analitico vero e proprio (tempi di esecuzione e tempestività delle risposte) e delle fasi post analitiche (accoppiamento risultato-allergene e refertazione).

La determinazione delle sIgE, in epoca RAST ed almeno sino all'avvento delle prime proposte strumentali, richiedeva notevole impegno sia temporale che di attenzione da parte degli operatori, ne derivava la tendenza soprattutto per i laboratori con numerosità delle richieste non elevata ad eseguire le sedute analitiche *in batch* con conseguente dilatazione dei tempi di risposta che, pur non rivestendo quasi mai tali indagini carattere di richiesta urgente, portavano a ritardi consistenti nella refertazione finale anche degli altri parametri relativi alla stessa richiesta ed eseguibili in tempi molto più rapidi.

La attuale disponibilità di soluzioni in automazione totale su strumenti dedicati o su sistemi analitici spesso già utilizzati nel laboratorio per le tradizionali determinazioni con tecnica immunochimica ha ricondotto anche queste determinazioni alle tempistiche ed alle necessità di personale degli altri parametri di laboratorio a patto che vengano utilizzate idonee soluzioni di tipo gestionale ed informatico.

Nella nostra struttura la determinazione delle sIgE ha seguito questo percorso (riteniamo condiviso da molti altri laboratori) partendo dalla metodica su disco di cellulosa eseguita manualmente, sostituita, con la disponibilità della tecnologia CAP System, dalla sua esecuzione in semiautomazione (AutoCAP) indi in automazione con il sistema

UniCAP 100 incrementando nel tempo ed in funzione del carico di lavoro il numero delle unità strumentali (UniCAP Cluster 3) gestiti tramite un unico software (UniCAP 100 RM) sino alla recentissima evoluzione verso una soluzione ad ancor più elevata automazione e produttività (ImmunoCAP 250) che è in corso di installazione e di attivazione proprio in queste settimane e dalla quale ci attendiamo, oltre ad una assoluta equivalenza in termini qualitativi impiegando gli stessi reagenti delle soluzioni precedenti, un importante contributo in termini di reale riduzione del tempo operatore da dedicare alla diagnostica allergologica. Tutte le soluzioni impiegate hanno avuto come interlocutore un unico produttore anch'esso passato attraverso diversi cambi di denominazione sino all'attuale: Pharmacia Diagnostics; tale scelta è dovuta alla

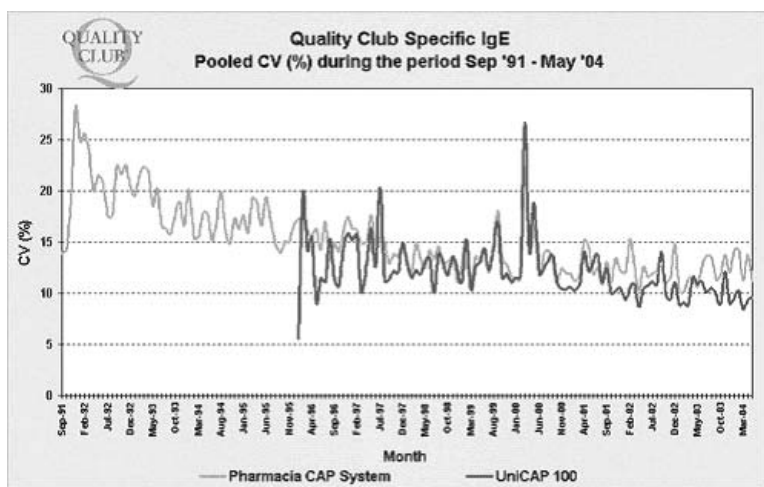


Figura 3
Andamento imprecisione (CV%) intrametodo e interlaboratorio nel tempo

volontà del laboratorio e degli specialisti che con esso interagiscono di mantenere la continuità delle prestazioni in termini di qualità analitica.

Nella versione attuale le diverse fasi del percorso analitico sono connesse dalle soluzioni informatiche utilizzate per il resto del laboratorio, adattate alle peculiari esigenze delle determinazioni allergologiche secondo il modello organizzativo da noi utilizzato.

Nella Figura 4 è riportato il diagramma dei flussi di richieste e risultati gestiti in modo completamente automatico tramite dialogo tra il sistema informatico di laboratorio (OliLab, EngiSanità - Milano) ed il programma di gestione del sistema analitico UniCAP Cluster.

In tale percorso il sistema gestionale degli strumenti (UniCAP 100 RM) riceve, in continuo, le richieste accettate dal personale amministrativo determinando un "serbatoio" di determinazioni dal quale l'operatore sceglie i campioni (e implicitamente gli allergeni ad esso associati) da sottoporre al processo analitico sui vari strumenti connessi al software gestionale operando in maniera del tutto casuale ma in modo da ottimizzare le posizioni disponibili su ciascun strumento (sino a 46 campioni e sino a 48 posizioni analitiche) tenendo anche in considerazione eventuali necessità di calibrazioni in funzione dei lotti di reagente impiegati e delle programmazioni relative ai campioni di controllo di cui parleremo successivamente.

Una volta predisposto il piano di lavoro vengono posizionati sullo strumento campioni e reagenti in maniera guidata dallo stesso programma di gestione avviando poi la fase analitica che procede in maniera completamente automatica sino alla produzione, in meno di tre ore, dei risultati finali. In tale intervallo l'operatore non ha necessità di presidiare lo

strumento ma può dedicarsi ad altre attività; tanto che molto spesso gli strumenti vengono attivati (per una ulteriore seduta analitica) al termine dell'orario lavorativo consentendo di ritrovare i risultati da valutare il mattino successivo (operatività in completa e reale modalità *walk away*). Effettuata la validazione analitica in base ai risultati ottenuti per i controlli della calibrazione ed i sieri di controllo programmati gli esiti relativi ai campioni vengono trasmessi in maniera automatica al sistema informatico di laboratorio che, in presenza di test di 1° livello (Phadiatop e/o Phadiatop Infant) positivi provvede a generare, per i relativi pazienti, un elenco di allergeni da eseguire ritrasmettendoli al sistema analitico per la successiva determinazione. In tal modo, operando secondo gli schemi di Tabella 1 si completa il percorso analitico dei vari pazienti procedendo alla relativa refertazione finale insieme ad eventuali ulteriori accertamenti richieste contemporaneamente. Il tutto si verifica con un Turn Around Time (TAT) di 24, massimo 36 ore dal momento dell'accettazione.

DIAGNOSTICA ALLERGOLOGICA DI LABORATORIO: CONTROLLO DELLA QUALITA'

Uno degli aspetti che abbiamo sempre ritenuto prioritario e non sacrificabile sull'altare di nessun processo di miglioramento organizzativo o strumentale per la diagnostica allergologica, come per altro deve essere per qualsiasi determinazione di laboratorio anche in un momento in cui le soluzioni di automazione totale spesso privilegiano la volontà di consolidare un numero elevato di analiti anche se la qualità intrinseca di qualcuno di essi suggerirebbe altre soluzioni metodologiche, è il mantenimento della qualità dei risultati a livelli il più possibile elevati. Ciò

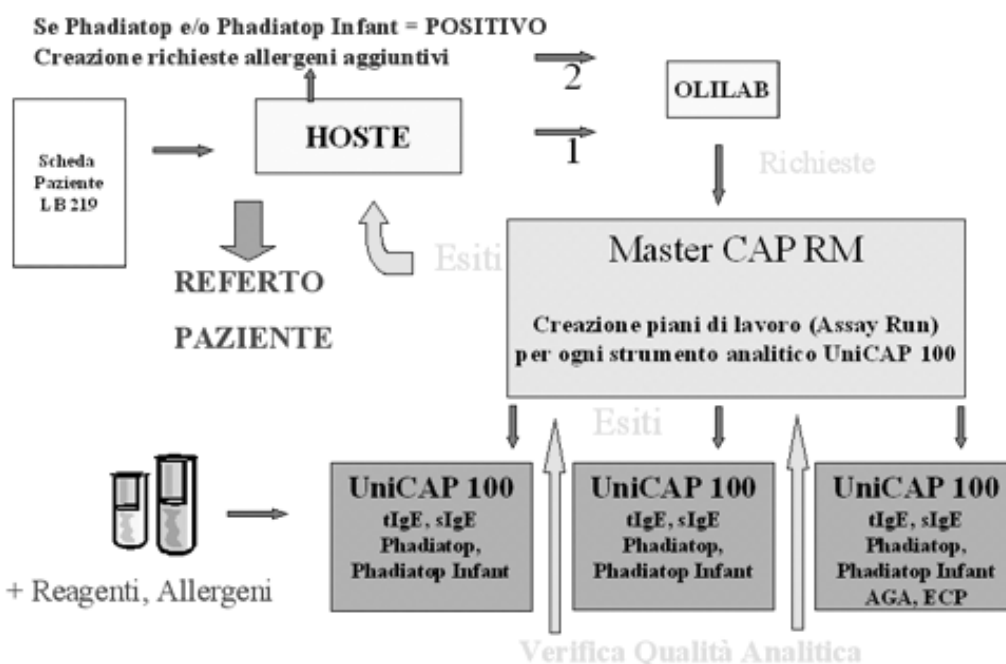


Figura 4
 Dosaggi allergologici: flussi richieste e risultati

comporta notevole attenzione nel momento in cui vengono scelte le metodologie da impiegare ed uno stretto monitoraggio della qualità dei risultati forniti giorno per giorno

In un modello di esecuzione quotidiana delle richieste, con le soluzioni analitiche utilizzate presso il nostro laboratorio, uno degli aspetti da controllare con attenzione è legato al fatto che le determinazioni delle sIgE anche riferite allo stesso paziente possono essere eseguite in sedute analitiche e su unità strumentali diverse che quindi debbono risultare perfettamente allineate fra di loro. In considerazione che i diversi allergeni possono presentare livelli estremamente diversificati tra loro e che, nello stesso campione, si possono avere livelli completamente negativi per alcuni allergeni e superiori al limite di linearità per altri ci siamo posti il problema di predisporre un idoneo programma di controllo di qualità interno (CQI) che ci garantisca la verifica del mantenimento delle stesse specifiche analitiche per tutti gli strumenti e per il maggior numero possibile di allergeni a tutti i livelli di concentrazione senza che questo incidesse in maniera insostenibile sui costi di produzione dei risultati.

Utilizzando sieri di controllo commerciali sia negativi sia positivi per sIgE (Specific IgE Negative Control e sIgE Control, Pharmacia Diagnostics, Uppsala SW) abbiamo attivato lo schema di controllo quotidiano riportato in Tabella 3. Riteniamo in tal modo di poter garantire il livello qualitativo dei risultati, in generale e per tutti gli allergeni del singolo paziente, qualunque sia la unità strumentale e la seduta analitica (AR) in cui i test vengano eseguiti.

Data la notevole mobilità territoriale dei pazienti riteniamo inoltre fondamentale che il laboratorio si confronti in maniera sistematica con le altre strutture che forniscono risultati per le medesime determinazioni utilizzando lo stesso tipo di metodologia: tale aspetto è facilmente verificabile partecipando ad idonei programmi di verifica esterna di qualità (VEQ) proposti da organismi istituzionali (Regioni) o reperibili sul mercato. Le informazioni che il laboratorio può e deve ricavare dai riepiloghi di tali programmi sono inoltre di estrema utilità per verificare il livello qualitativo (almeno in termini di riproducibilità tra laboratori) delle diverse metodologie disponibili sul mercato ed utilizzate dai partecipanti costituendo quindi una fonte oggettiva di informazione circa i livelli di prestazione

dei diversi metodi o sistemi analitici.

Il fatto poi che alcuni programmi utilizzino campioni derivati da pazienti molto ben definiti dal punto di vista clinico (VEQ Regione Emilia Romagna) o certificati analiticamente con metodi indipendenti eseguiti in strutture di riferimento come ad esempio tecniche di immunoblotting ottenute presso l' Istituto Superiore di Sanità per alcuni campioni del programma di VEQ della Regione Lombardia (Fig.5) consente di trarre giudizi, pur se non assoluti e generalizzabili a tutti gli allergeni, anche sulla accuratezza delle metodiche.

Riportiamo a tale proposito alcuni esempi tra i rapporti prodotti dai diversi programmi di VEQ disponibili (Figg. 6-9) con l'intento non certo di tracciare giudizi di merito tra i vari metodi partecipanti (compito che lasciamo ai singoli laboratori interessati) ma per confermare le precedenti affermazioni circa la tendenza ad una progressiva riduzione della variabilità interlaboratorio (riconducibile per alcuni metodi a valori di CV spesso inferiori al 10%) ma soprattutto, e purtroppo, la estrema variabilità intermetodo sia per quanto riguarda i diversi livelli di imprecisione sia la estrema disomogeneità dei valori di concentrazione ottenuti.

Vale la pena ricordare a questo punto che ormai tutte le metodiche dichiarano la propria taratura rispetto allo stesso standard di riferimento (anche se si tratta di preparazione di IgE totali) e che buona parte dei laboratori fornisce i risultati relativi alla determinazione delle sIgE in termini di concentrazione avendo abbandonato la obsoleta espressione secondo le classi di positività; ciò nonostante possiamo verificare valori estremamente dispersi ottenuti sullo stesso campione sino a differenze francamente inaccettabili e ingiustificabili.

ORGANIZZAZIONE DI UN LABORATORIO DI ALLERGOLOGIA: LE RISPOSTE

La diagnostica allergologica di laboratorio è nata e si è evoluta come parametro integrativo alla consolidata diagnostica in vivo basata sui test cutanei (prick test e test intradermici). Tale genesi ha portato con sé l'abitudine, stante la mancanza di standardizzazioni di riferimento dei primi dosaggi e per consentire ai clinici una migliore confrontabilità con i risultati dei test cutanei, alla espressione dei risultati secondo classi di positività i cui livelli soglia di

Tabella 3
Schema Controllo di Qualità Interno (CQI)^a

	UniCAP 100 n.1			UniCAP 100 n.2			UniCAP 100 n.3		
	AR1	allergene	AR2	AR1	allergene	AR2	AR1	allergene	AR2
lunedì	POS	d2	NEG	NEG	f1	POS	POS	w1	NEG
martedì	NEG	e1	POS	POS	t7	NEG	NEG	d1	POS
mercoledì	POS	f1	NEG	NEG	w6	POS	POS	t3	NEG
giovedì	NEG	g3	POS	POS	e5	NEG	NEG	g6	POS
venerdì	POS	w1	NEG	NEG	m2	POS	POS	f1	NEG

^a nelle settimane successive viene effettuata una rotazione degli schemi tra i tre strumenti

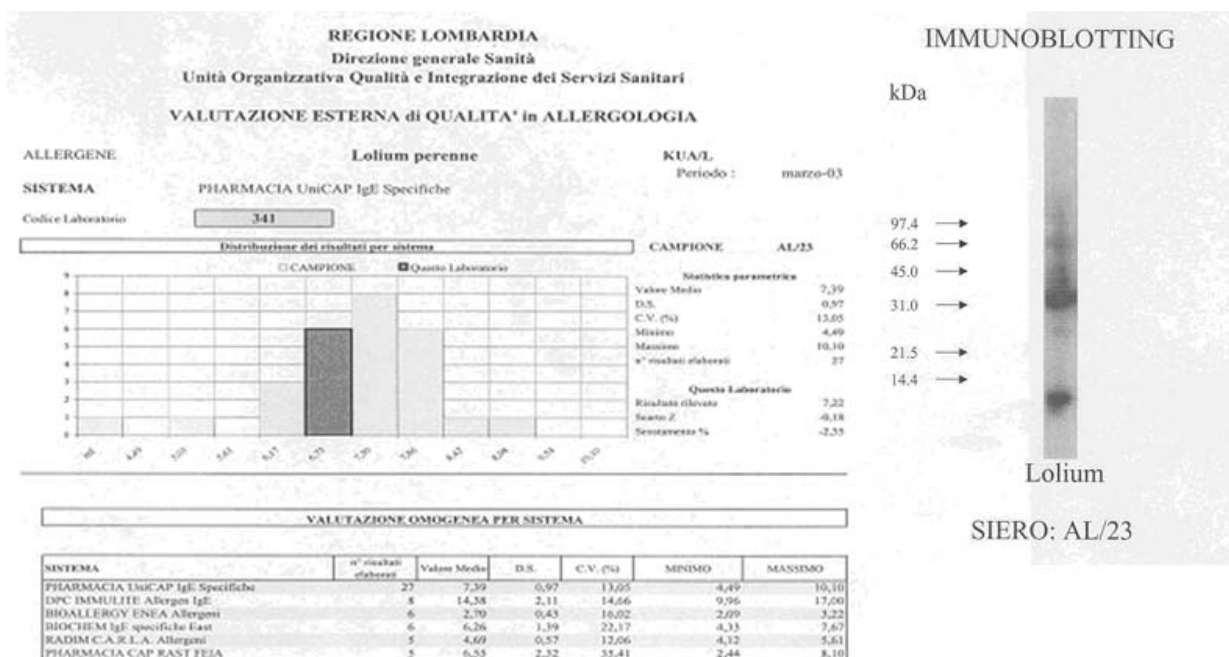


Figura 5
 VEQ Regione Lombardia: esempio di rapporto relativo ad un campione caratterizzato tramite tecnica di immunoblotting

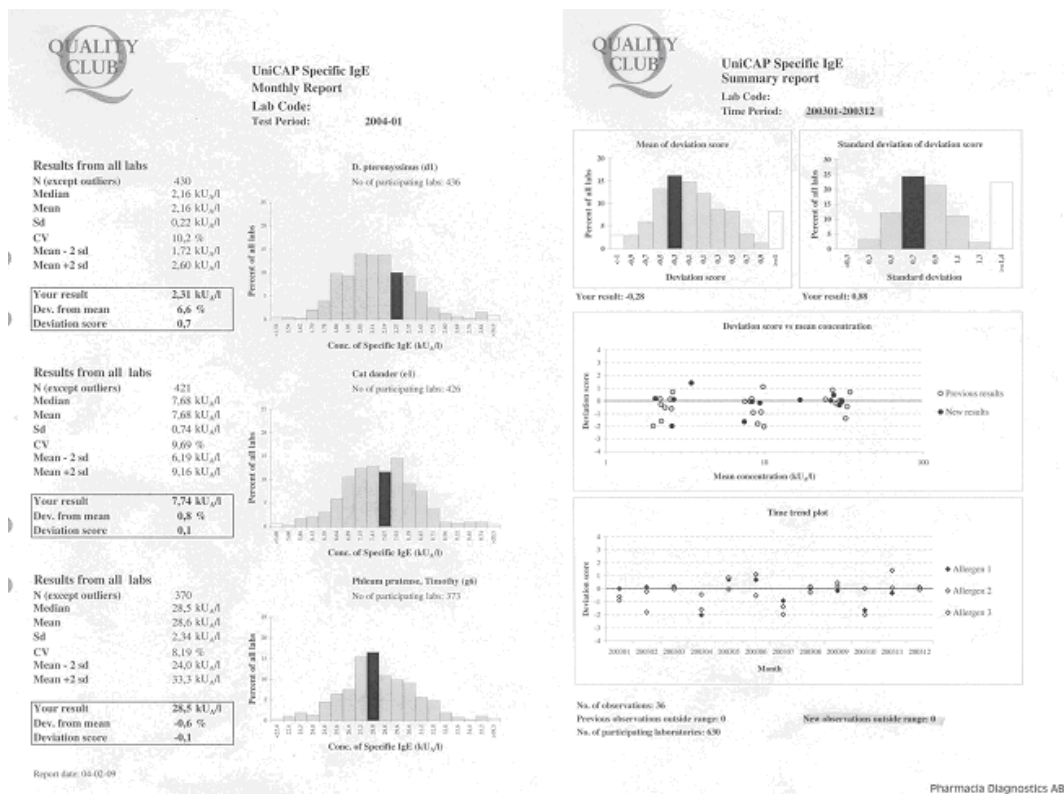


Figura 6
 Quality Club (Pharmacia Diagnostics): VEQ riservata a laboratori utilizzanti la medesima tecnologia analitica (CAP System). Esempio, riferito al nostro laboratorio, di rapporti mensile e cumulativo; si possono evidenziare i CV% interlaboratorio decisamente contenuti e la stabilità dei risultati nel lungo periodo

VALUTAZIONE ESTERNA DI QUALITA'									
Ateneo Ospedaliero di Bologna Policlinico S. Croce-Maggioli					Ateneo Ospedaliero Policlinico di Modena				
Regione Emilia Romagna									
Desaggio delle IgE specifiche per iW19 Parietaria officinalis - A163									
Numero di risposte: 78 Numero di aberranti (*): 2									
DPC, ALASTAT/Interp. [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
AL	3,36	---	2	0,70	3,50	91,43			
DPC, IMMULITE 2000 [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
CG	0,61	-44,65	1	0,35	0,70	79,29	110		
KC	0,78	-40,38	2	0,70	3,50	2,86	110		
EA6	0,83	-79,12	2	0,70	3,50	4,64	110		
E3	1,07	-71,08	2	0,70	3,50	13,21	103		
OL	1,09	-72,88	2	0,70	3,50	13,93	110		
KH4	1,12	-71,82	2	0,70	3,50	13,90	116		
ND	1,24	-68,80	2	0,70	3,50	19,29	103		
KH1	1,35	-66,03	2	0,70	3,50	23,21	110		
LU	1,40	-64,78	2	0,70	3,50	23,00	103		
XV	1,53	-61,51	2	0,70	3,50	29,64	103		
BT	32,70	72,74	4	17,50	32,50	43,43	111		
ADALTEP, ALERGEN [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
PD4	2,46	-31,21	2	0,72	3,60	61,11			
HA	2,59	-28,79	2	0,72	3,60	64,93	14DNG		
PD4	2,73	-24,39	2	0,72	3,60	70,49	14CO3E		
CD1	3,07	-15,59	2	0,72	3,60	81,60	14B03B		
SM	3,51	-3,49	2	0,72	3,60	96,88	14B03A		
T7	3,68	1,18	3	3,60	18,00	6,56	14D3SL		
SD1	4,23	16,30	3	3,60	18,00	4,38	14CO3F		
PD	4,53	19,60	3	3,60	18,00	5,21	14CO3F		
XD	4,72	20,78	3	3,60	18,00	7,78	14CO3E		
KC9	4,99	37,20	3	3,60	18,00	9,65			
FHARM, CAP SYST, FIEA [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
N4	7,08	---	3	3,50	17,50	23,60	429A8		
P4	8,02	---	3	3,50	17,50	32,29	429A8		
Z3	16,00	---	3	3,50	17,50	46,43	429A8		
FHARM, UniCAPsys, IgE [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
KR6	6,67	-18,65	3	3,50	17,50	22,64	429A8		
ED1	6,71	-17,96	3	3,50	17,50	22,93	429A8		
PA2	7,21	-11,84	3	3,50	17,50	28,50	429A6		
FR	7,31	-10,62	3	3,50	17,50	27,21	429A8		
IAL1	7,77	-5,00	3	3,50	17,50	30,50	1441601		
Y7	7,82	-4,18	3	3,50	17,50	30,86	429A8		
KC2	7,93	-3,64	3	3,50	17,50	31,66	429A8		
K5	7,96	-2,67	3	3,50	17,50	31,86	429A8		
CB2	8,00	-2,18	3	3,50	17,50	32,14	429A7		
NE	8,03	-1,84	3	3,50	17,50	32,29	429A8		
E4	8,18	0,02	3	3,50	17,50	33,43	429A8		
AJ	8,40	2,71	3	3,50	17,50	35,00	429A7		
R1	8,50	3,50	3	3,50	17,50	35,71	429A7		

Numero di risposte: 78 Numero di aberranti (*): 2									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
8,54	4,42	3	3,50	17,50	36,00	429A8			
8,58	4,91	3	3,50	17,50	36,29	429A7			
15,67	6,01	3	3,50	17,50	36,83	429A7			
8,80	7,60	3	3,50	17,50	37,86	429A8			
8,85	8,21	3	3,50	17,50	38,21	429A8			
9,04	10,33	3	3,50	17,50	39,57	429A8			
9,07	10,90	3	3,50	17,50	39,79	429A8			
9,72	18,85	3	3,50	17,50	44,43	429A8			
IRLA [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
2,20	-44,31	2	1,01	5,01	29,75				
2,74	-30,64	2	1,01	5,01	43,25				
2,79	-29,38	2	1,01	5,01	44,50				
2,90	-26,59	2	1,01	5,01	47,25	0008			
3,11	-21,28	2	1,01	5,01	52,50	0008			
3,39	-14,19	2	1,01	5,01	59,50	0008			
3,82	-3,31	2	1,01	5,01	70,25	0008			
3,91	-1,03	2	1,01	5,01	72,50	0008			
4,12	4,29	2	1,01	5,01	77,75	0008			
4,30	8,84	2	1,01	5,01	82,25	0008			
4,40	11,37	2	1,01	5,01	84,75	0008			
4,61	16,69	2	1,01	5,01	90,00	0008			
4,83	22,26	2	1,01	5,01	95,50	0008			
4,99	26,31	2	1,01	5,01	99,50	0008			
5,09	28,84	3	5,01	25,01	0,40				
6,01	52,13	3	5,01	25,01	5,00	0008			
6,92	75,16	3	5,01	25,01	9,55				
7,39	87,06	3	5,01	25,01	11,90				
REALTEST [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
5,69	---	3	5,00	10,00	13,80	10103			
EA SYST II [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
8,05	---	3	3,50	17,50	32,50	10122			
15,53	---	3	3,50	17,50	85,93	10122			
17,04	---	3	3,50	17,50	96,71	14013			
EA SYST III [AU/L]									
Lab	Valore	Bias	Classe	da	8	Val.Norm.	Abbr.	Letto	
12,40	-16,11	3	3,50	17,50	63,47				
13,30	-10,02	3	3,50	17,50	70,00				
13,47	-8,87	3	3,50	17,50	71,21	10122			
14,60	-1,22	3	3,50	17,50	78,29	10122			
14,86	0,53	3	3,50	17,50	81,14	10122			
15,00	1,48	3	3,50	17,50	82,14	10122			
15,18	2,70	3	3,50	17,50	83,43	10122			
15,50	4,86	3	3,50	17,50	85,71	10122			
16,40	10,95	3	3,50	17,50	92,14	10122			
17,10	15,69	3	3,50	17,50	97,14	10122			

Figura 7 VEQ Regione Emilia Romagna: dati relativi ad un allergene di un invio qualsiasi, si possono notare notevoli differenze nei valori forniti da laboratori utilizzando differenti tecnologie analitiche

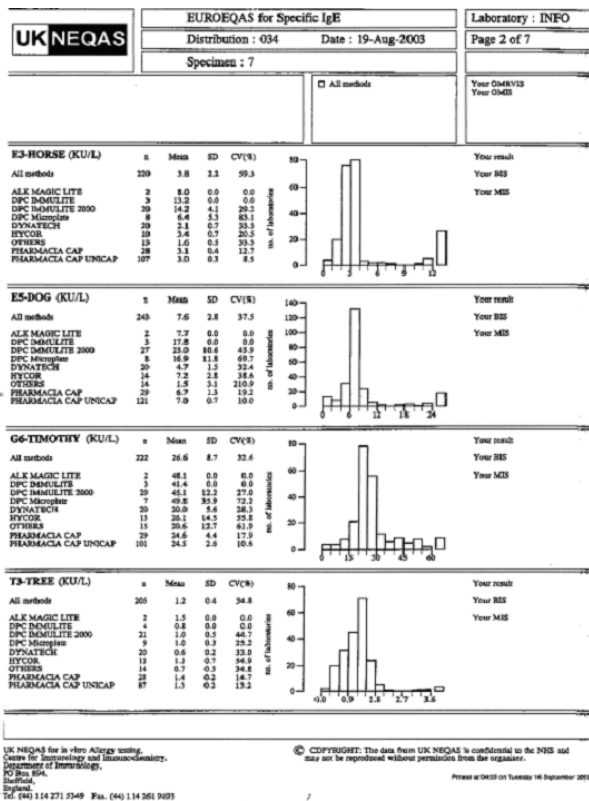


Figura 8 VEQ UK-NEQAS: si confermano, in ambito internazionale, le osservazioni di Figura 7

Prestazione del Laboratorio nell'ambito del proprio METODO ANALITICO

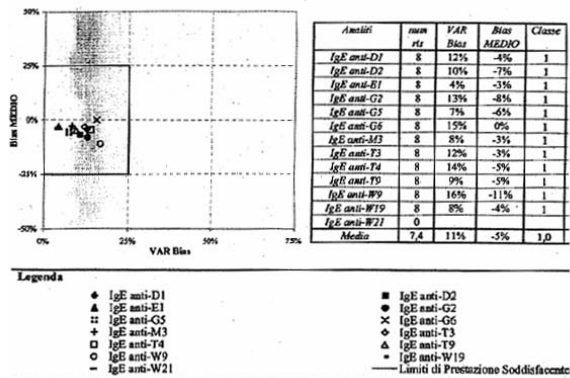


Figura 9 VEQ Allergia DICO Care: differente qualità analitica associata ai diversi allergeni impiegando tecnologie analitiche differenti. Trattasi dei risultati dello stesso invio ma riferiti a laboratori che impiegano metodiche differenti

discriminazione si sono posti, in maniera piuttosto arbitraria, corrispondenti ai valori assegnati ai diversi calibratori dei metodi *in vitro*. La già accennata disponibilità di standard di riferimento consente ormai al laboratorio di esprimere i suoi risultati, anche per la determinazione delle sIgE in termini di valori numerici di concentrazione esattamente come avviene per tutte le misure quantitative.

Le tradizioni consolidate sono però difficili da superare e l'abitudine ancora attuale dei laboratori (il nostro non fa eccezione) è di mantenere, se non la espressione dei risultati in classi almeno una chiave di lettura generale tesa ad evitare lo sforzo mentale agli utilizzatori clinici nel momento in cui abbiano la necessità di porre a confronto i livelli di sIgE ottenuti per i singoli allergeni con quanto ottenuto dalla diagnostica cutanea. Tale abitudine ci sembra da scoraggiare in considerazione dell'elevata variabilità associata alla esecuzione e valutazione dei test cutanei che, pur con gli indubbi passaggi di standardizzazione effettuati (15), rimangono fortemente legati alla abilità ed esperienza dell'operatore ed a livelli nettamente superiori a quanto oggi ottenibile anche con i peggiori metodi di laboratorio. Ci sembra inoltre poco logico disponendo di metodi di dosaggio sufficientemente precisi ed affidabili in termini analitici far perdere significato ai valori forniti riconducendoli a valutazioni di tipo semiquantitativo; la espressione o il riferimento dei valori alle classi di positività fa assumere lo stesso significato interpretativo a valori di sIgE compresi, ad esempio, fra 3,5 e 17,5 KU/L che fra loro differiscono del 400%.

Il laboratorio stesso dovrebbe farsi parte attiva nei confronti dei propri utilizzatori clinici trasmettendo loro la reale affidabilità e accuratezza diagnostica raggiunta dalla determinazione delle sIgE (in un buon laboratorio che utilizzi un buon metodo) spingendoli ad utilizzare il valore quantitativo del parametro esattamente come farebbero nei confronti di qualsiasi altro dato di laboratorio (nessun clinico si sognerebbe di valutare la glicemia o il PSA secondo fasce di concentrazione).

Un altro aspetto strettamente connesso alla modalità di espressione dei risultati che coinvolge direttamente, purtroppo in senso negativo, il laboratorio è che vorremmo enfatizzare si può dedurre dalle numerose pubblicazioni riguardanti gli aspetti di confronto analitico fra metodi prodotte da svariati laboratori (preferiamo non fornire su questo aspetto riferimenti bibliografici in quanto l'elenco sarebbe molto nutrito) ove i risultati vengono valutati e comparati facendo riferimento alle classi di positività e non ai valori di concentrazione ed alla classificazione clinica dei pazienti, giudicando come "accettabili ai fini clinici" dati che fra loro divergono per non più di una classe di appartenenza. A noi pare un approccio da bandire in modo assoluto in quanto vanifica completamente tutti i progressi che si sono verificati nelle metodologie analitiche per il dosaggio delle sIgE e toglie qualsiasi ruolo alla validità delle metodologie più affidabili.

Un passaggio evolutivo che ci sembra interessante è legato alla considerazione che i diversi allergeni manifestano spesso diversità di comportamento analitico pur nell'ambito della stessa metodologia come pure appaiono

diversi i livelli dei singoli allergeni che assumono un significato clinico. Pur essendo valido l'assunto generale che più è elevata la concentrazione di sIgE di un determinato allergene e maggiore è la probabilità di sviluppare una reazione allergica verso lo stesso allergene diverso è il significato della stessa concentrazione, ad esempio 3,5 KU/L, se la essa si riferisce ad una graminacea piuttosto che al latte, all'uovo o al veleno di imenotteri e quindi diverso dovrebbe essere il comportamento del clinico nei suoi confronti. Diventano ormai autorevoli e significativi i contributi che, utilizzando i rapporti di verosimiglianza e l'analisi delle curve ROC per i singoli allergeni suggeriscono livelli decisionali ottimali per le sIgE nei confronti dei diversi allergeni (16-19). E ci sembra proprio questa la strada su cui il laboratorio, in stretta collaborazione con i clinici, debba muoversi per aumentare il significato diagnostico del test pur non dimenticando, sempre in termini di espressione dei risultati, che la attuale standardizzazione, riconosciuta ed accettata da tutti gli operatori e produttori di diagnostici, è in realtà riferita non alle sIgE bensì alle IgE totali e che quindi anche in questa direzione esistono ampi spazi di miglioramento in termini di standardizzazione.

ALLERGOLOGIA E LABORATORIO: LA TENDENZA

Abbiamo già accennato alla tendenza emergente presso i laboratori a consolidare il maggior numero possibile di analiti sulla stessa piattaforma strumentale o su strumenti interconnessi da percorsi robotizzati; recentemente anche per la diagnostica allergologica *in vitro*, in genere eseguita su strumentazione dedicata, si sono resi disponibili metodi di dosaggio delle sIgE in automazione totale su sistemi analitici già presenti sul mercato per le tradizionali determinazioni con tecnica immunochimica: Immulite 2000 (DPC, Los Angeles, CA USA - rappresentante italiano Medical Systems - GE) ed ADVIA Centaur (Bayer Diagnostici - MI).

Grazie alla presenza presso il nostro laboratorio di entrambe le strumentazioni abbiamo avuto l'opportunità di una verifica sufficientemente approfondita delle due soluzioni che, almeno dal punto di vista concettuale, possono aprire soluzioni di consolidamento alla diagnostica allergologica di laboratorio con il resto delle determinazioni immunochimiche e, su questo percorso, con le abituali determinazioni di chimica clinica.

Non entreremo in questo contesto nelle valutazioni di tipo qualitativo delle soluzioni proposte e di cui abbiamo già reso documentazione in altre occasioni (14), vorremmo qui esporre alcuni aspetti organizzativi che ci sembrano meritevoli di attenzione proprio per consentire, a chi interessato, la costruzione di un quadro di valutazione oggettivo delle prestazioni ottenibili con queste soluzioni in termini di automazione e, come ci si aspetta in questi casi, di risparmio di personale impiegato.

La strategia impostata per la verifica delle prestazioni ci ha portati a simulare, per entrambi i sistemi considerati e per un periodo rappresentativo di due settimane di

lavoro, il trasferimento della abituale attività di routine relativa alle richieste di sIgE su Immulite 2000 e su ADVIA Centaur verificando in tal modo il reale impatto della soluzione sull'organizzazione del laboratorio sia nel caso si volessero integrare completamente, come le regole del consolidamento imporrebbero, ed in maniera del tutto randomizzata le richieste di sIgE con gli altri test immunochimici, sia nella situazione in cui, invece, le determinazioni venissero eseguite, pur sullo stesso strumento, in tempi completamente separati. Dalla Tabella 4 sono rilevabili i parametri quantitativi della simulazione e nella quale i carichi di lavoro utilizzati sono una fedele riproduzione della abituale attività routinaria afferente al nostro laboratorio per queste determinazioni. Per consentire una totale sovrapposizione alle situazioni analitiche reali, i sistemi sono stati adattati alla ricezione automatica dei piani di lavoro dal sistema informatico anche per le sperimentazioni allergologiche come già in atto per le altre determinazioni immunochimiche. Durante tutta la sperimentazione sono stati registrati i tempi impiegati dagli operatori per la predisposizione ed esecuzione dei vari passaggi analitico - strumentali. I tempi medi, relativi alle varie fasi, sono riportati nella Tabella 5; i dati equivalenti relativi al sistema UniCAP 100, nella configurazione Cluster a 3 strumenti, sono ricavati da una nostra indagine precedente (20).

Dalle valutazioni effettuate abbiamo ricavato le produttività reali riferite al nostro modello organizzativo e per gli analiti abitualmente determinati sui singoli strumenti (Tab. 6); occorre per completezza d'informazione ricordare che le produttività teoriche dei sistemi analitici dichiarate dai produttori fanno riferimento a situazioni analitiche caratterizzate da combinazioni ideali di test che quasi mai si realizzano nell'attività di routine. In particolare ed a titolo di esempio, sul sistema Immulite 2000 sono abitualmente eseguiti presso il nostro laboratorio parametri che, per le loro caratteristiche, impiegano nella maggioranza dei casi tempi d'incubazione raddoppiati (60' anziché i tradizionali 30') con conseguente penalizzazione in termini di produttività finale del sistema stesso. Gli indici di produttività vengono oggi considerati con sempre maggiore attenzio-

ne se per produttività arriviamo ad intendere non solo il dato in termini di risultati per unità di tempo ma, in maniera più estesa, il bilancio dei costi e dei tempi-lavoro necessari per generare un risultato ricomprendendo in dette valutazioni tutti gli eventi e le risorse impiegate dal momento del campionamento sino alla refertazione finale per il paziente. Nel caso specifico della presente sperimentazione siamo arrivati a valutare, per i diversi sistemi, gli Indici di Produttività Relativa (RPI) espressi dal numero di dosaggi effettuabili da un sistema analitico per ora di tempo-lavoro dell'operatore (Tab. 7); tale approccio presenta il vantaggio teorico di consentire la confrontabilità delle prestazioni anche fra sistemi strutturalmente ed operativamente diversi. Teoricamente potremmo confrontare, valutando i tempi di reale impegno dell'operatore, dosaggi eseguiti manualmente con tempi morti prolungati - ad esempio le incubazioni nei test immunochimici - rispetto a soluzioni in automazione totale ma che a volte richiedono la presenza costante dell'operatore davanti allo strumento senza dare per scontato che strumenti apparentemente più "veloci" ma magari più impegnativi in termine di personale addetto siano necessariamente più produttivi, per le nostre necessità, rispetto a soluzione più "lente" ma che richiedono minori tempi di presenza dell'operatore che quindi può dedicarsi ad altre attività.

CONCLUSIONI

Alla luce di quanto precedentemente esposto ci sembra di poter concludere questa breve, e sicuramente incompleta disamina sulle problematiche che la diagnostica allergologica di laboratorio ha affrontato e dovrà ancora affrontare con alcune considerazioni da intendere esclusivamente come frutto delle nostre esperienze personali.

La patologia allergica è in crescita continua, quasi epidemica negli ultimi decenni, in tutto il mondo industrializzato; l'European Community Respiratory Health Survey riporta prevalenze della rinite allergica che in alcuni paesi europei arriva al 40%(21). Tale situazione coinvolge in maniera sempre più pressante l'assistenza medica di primo livello, in particolare medici di medicina generale e pediatri di base per

Tabella 4

Schema simulazione sui sistemi analitici considerati e carichi di lavoro relativi

Sistema	Schema A (n = 5 giorni lavorativi) Processare simultaneamente ed in modo randomizzato: IMMUNOCHEMICA DI ROUTINE ^a + TEST ALLERGICI						Schema B (n = 5 giorni lavorativi) Processare in modo sequenziale: IMMUNOCHEMICA DI ROUTINE ^a INDI, A SEGUIRE: TEST ALLERGICI					
	Immunochimica			Allergia			Immunochimica			Allergia		
	analiti	tubi	esiti	allergeni	tubi	esiti	analiti	tubi	esiti	allergeni	tubi	esiti
AD. CENTAUR												
totale		738	1809		154	543		503	1685		158	517
media/gg	24	148	362	10	31	109	24	101	333	10	31	103
IMM 2000												
totale		344	597		54	540		341	638		88	469
media/gg	15	67	119	26	13	108	15	68	127	21	17	94

^a: pazienti e relative determinazioni così come pervengono da richieste ambulatoriali e degenze

i quali il problema diagnostico, interessando una elevata percentuale di pazienti, non sempre può essere trasferito in tempi brevi alle strutture specialistiche. In tale situazione la determinazione delle sIgE sta assumendo un ruolo significativo in termini di primo inquadramento diagnostico coprendo il ruolo che precedentemente era assunto dai test *in vivo* eseguiti dallo specialista.

In un simile scenario il laboratorio deve essere in grado di adottare, in accordo con specialisti e medici di base, idonei percorsi diagnostici che consentano di andare incontro alle esigenze di pazienti e prescrittori. Dovere prioritario del laboratorista, oltre che affrontare e risolvere al meglio gli aspetti tecnico organizzativi che caratterizzano questa particolare tipologia di determinazioni (appropriatezza delle richieste, modo e tempi di esecuzione, correttezza delle refertazioni) è comunque quello, pur considerando con estremo interesse soluzioni innovative dal punto di vista organizzativo, di mantenere elevato l'aspetto qualitativo dei risultati che fornisce agli utilizzatori pena la perdita di fiducia dei clinici nel dato di laboratorio che invece, in buone mani e con buoni approcci metodologici, dimostra sempre di più la sua valenza in termini di accuratezza diagnostica: i livelli di sensibilità e specificità clinica attualmente riconosciuti al dosaggio delle sIgE da svariati e controllati studi multicentrici si attestano su valori superiori al 90% conferendo a questo parametro un ruolo prioritario nella diagnostica allergologica (22,23).

BIBLIOGRAFIA

1. Wide L, Bennich H, Johanson SGO, Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies Lancet, 1967; 2:1105-7
2. Yalow RS, Berson SA Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods Nature 1959; 184: 1648-9
3. Ekins RP The estimation of thyroxine in human plasma by an electrophoretic technique Clin Chim Acta 1960; 5: 453-9
4. Yman L. Die neue generation der allergie-testung: Pharmacia CAP System. In vitro Diagnostica Special 1990; 1: 18-22
5. Yman L Standardization of the IgE antibody assays J Int Fed Clin Chem 1991; 3:198-203
6. Yman L Allergy In: The Immunoassay Handbook 2nd edition. Wild D (Ed), Nature Publishing Group, London UK 2001; 664-80
7. Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, Sullivan TJ. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: Establishing a standard J Allergy Clin Immunol 2000; 105: 1221-30
8. Szeinbach SL, Barnes JH, Sullivan TJ, Williams PB. Precision and accuracy of commercial laboratories' ability to classify positive and/or negative allergen-specific IgE results Ann Allergy Asthma Immunol 2001; 86: 373-81
9. Host A, Andrae S, Charkin S, et al. Allergy testing in children: why, who, when and how? Allergy 2003; 58: 559-69
10. Fiorucci G, Mazzariello M.G, Ferrari M. et al. per Gruppo di Studio SiBioC - Sezione Piemonte Stato dell'arte sulla determinazione e utilizzo delle IgE Specifiche allergologiche nella Regione Piemonte LigandAssay , 2001; 6: 241-4

Tabella 5
Temporizzazione attività sui sistemi analitici considerati

	ADVIA CENTAUR		IMMULITE 2000		UniCAP 100
	Schema A	Schema B	Schema A	Schema B	Cluster (3 strumenti)
Fase preanalitica strumentale (min)	5.0	5.8	27.4	24,6	30 ^a
Calibrazioni e QCI					
- min / calibratore	0.8	0.8	4	3	
- min / controllo	21 (ALL)	25 (ALL)	1.3	1.2	
				0.8 (ALL)	
Caricamento tubi primari					
- min / tubo	0.1	0.1	0.3	0.3	
- min / seduta	20	11 (IMM)	27	21 (IMM)	
		2.8 (ALL)		4 (ALL)	
Fase analitica	3 h 48'	3 h 15' (IMM)	4h 48'	3 h 59' (IMM)	2h 45' ^b
		1 h 48' (ALL)		1 h 54' (ALL)	
- 1° esito IMM	+18'	+18'	+38'	+40'	
- 1° esito ALL	+80'	+47'	+60'	+73'	
Fase postanalitica (min)	3	3	25	25	6 + 15 ^c

IMM=dosaggio immunochimico; ALL = test allergologici

^a ricomprende: creazione dei piani di lavoro per i singoli strumenti, predisposizioni strumentali e caricamento di campioni, calibratori, controlli e reagenti (vedi rif. 6)

^b in assenza di operatore

^c lavaggio a fine seduta analitica non necessaria presenza dell'operatore

Tabella 6
Produttività a confronto

	ADVIA CENTAUR		IMMULITE 2000		UniCAP 100
	Schema A	Schema B	Schema A	Schema B	Cluster (3 Strumenti)
Esiti prodotti (n)					
- Immunochimica	362	336	119	127	
- Allergia	108	103	108	94	138
- Totale	470	436	227	221	
Tempo impiegato (min)					
- Immunochimica		195		239	
- Allergia		108		114	201 ^a
- Totale	228	303	288	353	
Tempo di produzione per esito (secondi)					
- Immunochimica		35		112	
- Allergia		65		72	87
- Totale	29	42	76	95	
Produttività (esiti/ora)					
- Teorica (dichiarata)	240	240	200	200	60
- Reale (sperimentazione Magenta)					
- Immunochimica		102		32	
- Allergia		57		50	
Globale	124	86	47	38	

^a di cui 35' di reale impegno dell'operatore

Tabella 7
Indici di Produttività Relativi (RPI)^a

	ADVIA CENTAUR ^b		IMMULITE 2000 ^b		UniCAP 100	ImmunoCAP 250 ^c
	Allergia	Allergia + Immunochimica	Allergia	Allergia + Immunochimica	RM Cluster	
Esiti prodotti	103	470	94	227	138	250
Esiti ora	57	124	50	47	41	60
Tempo produzione / esito (secondi)	63	29	72	76	87	60
Tempo operatore / esito (secondi)	63	29	72	76	14	2,4
RPI	57	124	50	47	251	1500

^a Esiti prodotti per ora di impegno dell'operatore

^b per i due strumenti si è assunto che l'operatore sia presente durante tutta la fase analitica

^c sistema in corso di installazione presso il nostro laboratorio e per il quale i dati di produttività, a differenza degli altri ottenuti presso il nostro centro, sono quelli forniti dal produttore

11. Liappis N, Lantto O, Nilsson G, Ryden B. The role of interlaboratory comparison in quality improvement of specific IgE measurements with the Pharmacia CAP System RAST RIA and FEIA Clin Laboratori 1996; 42:707-13
12. Seagroatt V, Anderson S.G. The second International Reference for human serum immunoglobulin E and the first British standard for human serum immunoglobulin E J Biol Standardization, 1981; 9: 431-7
13. Yman L. Standardization of IgE antibody assay J. Int. Fed. Clin. Chem. 1991; 3: 198-203
14. Vignati G, Pastori E, Portalupi S, Temporiti R. In vitro allergy diagnosis: comparison of a new method for fully automated determination of specific IgE, using Immulite 2000 compared with UniCAP 100 Allerg Immunol 2003; 35: 285-94
15. Società Italiana di Allergologia ed Immunologia Clinica. Memorandum sulla diagnostica delle allergopatie Giorn It Allergol Immunol Clin 1992; 2: 351-8
16. Plebani M, Borghesan F, Basso D, Faggian D. Receiver Operating Characteristic (ROC) curves: a fundamental tool for improving the clinical usefulness of in vitro IgE test Allergy 1996; 51: 407-11
17. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy J Allergy Clin Immunol 2001; 107: 891-6
18. Simel DL, Samsa GP, Matchar DB. Likelihood ratios for continuous test results - making the clinicians' job easier or harder? J Clin Epidemiol 1993; 46: 85-93
19. Soderstrom L, Kober A, Ahlstedt S et al. A further evaluation of the clinical use of specific IgE antibody testing in allergic diseases Allergy 2003; 58: 921-8
20. Vignati G, Griffanti D. L'allergometria in laboratorio: analisi di un modello organizzativo LigandAssay, 2000; 5: 316-20
21. Janson C, Anto J, Burney P, et al. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? Eur Respir J 2001; 18: 598-611
22. Pastorello EA, Incorvaia C, Pravettoni V, et al. A multicentric study on sensitivity and specificity of a new in vitro test for measurement of IgE antibodies Ann Allergy 1991; 67: 365-70
23. Paganelli R, Ansotegui IJ, Sastre J, et al. Specific IgE antibodies in the diagnosis of atopic disease. Clinical evaluation of a new in vitro test system, UniCAP, in six European allergy clinics Allergy 1998; 53: 763-8