

Esami di laboratorio e matrici alternative

Matteo Vidali

Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italia

Al laboratorio pervengono frequentemente richieste di esecuzione di esami in matrici diverse da quelle per le quali i rispettivi metodi analitici sono stati validati dal Produttore. Le possibili risposte del laboratorio, in genere, includono una delle seguenti strategie:

- esecuzione dell'esame, qualora il metodo sia stato validato, o dal Produttore o dal laboratorio, per quella particolare matrice;
- esecuzione dell'esame, anche in assenza di validazione del metodo, con refertazione del risultato accompagnato da un commento attestante il fatto che il metodo non è validato per quella specifica matrice ed eventuale richiamo ad interpretare con cautela il dato;
- non esecuzione dell'esame, indicando la motivazione.

La scelta tra le tre opzioni dipende da molteplici fattori, relativi al metodo analitico (metodo già validato, principio analitico, dati di letteratura), alla matrice (possibili interferenti noti, necessità di pretrattamento del campione), all'analita (appropriatezza esame, concentrazione attesa), al sospetto diagnostico (possibili strategie diagnostiche alternative, tipo di risposta attesa) e alla professionalità del laboratorista e del clinico (esperienza, comunicazione, collaborazione).

La buona pratica di laboratorio richiede un'ulteriore validazione del metodo analitico, qualora il suo utilizzo sia esteso a matrici differenti (almeno di quei parametri che potrebbero risentire del cambio matrice), e l'eventuale determinazione di un intervallo di riferimento (*ex-novo* o, più facilmente e se possibile, dopo trasferimento previa verifica). In realtà, le attività di validazione e/o ri-validazione sono obbligatorie per il processo di accreditamento. La ISO 15189 specifica che il laboratorio, prima di introdurre un metodo in routine, deve validare quei metodi analitici utilizzati al di fuori dell'ambito originariamente previsto (sezione 7.3.3) (1). Più specificatamente, il College of American Pathologists dal 2013 ha aggiunto, all'interno delle "All Common Checklist" di accreditamento, una sezione dedicata a quegli esami di laboratorio, richiedibili in routine, effettuati sui liquidi biologici diversi dal sangue (COM.40620), con particolare riguardo alla valutazione dell'interferenze dovute alla matrice e alla modalità di refertazione del risultato (2). In letteratura, inoltre, sono disponibili alcuni documenti relativi al disegno e alla conduzione di esperimenti per la validazione di metodi applicati a matrici alternative (3), incluso lo standard CLSI C49 (4). Tuttavia, queste attività non sempre risultano essere alla portata di tutti i laboratori, sia per carenza di competenze specifiche e risorse, sia per la difficoltà di reperire i materiali e/o i campioni idonei. Per tali motivi, l'esecuzione dell'esame, anche in assenza di ri-validazione del metodo, accompagnato da un commento relativo ai limiti del risultato e della sua interpretazione secondo la seconda strategia, può sembrare talvolta un buon compromesso in alternativa al rifiuto della terza strategia (e probabilmente in specifiche situazioni cliniche lo è, in particolare quando ci siano evidenze dalla letteratura); tuttavia, tale scelta comporta sempre un potenziale rischio clinico per il paziente.

Indipendentemente dalla strategia seguita dal laboratorio, elemento importante, al fine dell'eventuale validazione del metodo e/o per la mitigazione del rischio clinico, è la collaborazione con i colleghi clinici. Il confronto con essi è necessario per comprendere le evidenze della letteratura di settore (diagnosi differenziale, contesti clinici), l'eventuale utilizzo del dato (clinico *versus* ricerca), il tipo di risultato atteso (qualitativo *versus* quantitativo), l'accuratezza richiesta, il tipo di refertazione (intervallo di riferimento dell'analita misurato nella matrice alternativa, espressione del risultato relativamente al sangue e/o plasma), i tempi di refertazione e l'eventuale inclusione del dato in score clinici.

Corrispondenza a: Matteo Vidali, SC Patologia Clinica, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Tel 0255032447, E-mail matteo.vidali@policlinico.mi.it

Ricevuto: 05.02.2024

Accettato: 05.02.2024

Publicato on-line: 12.02.2024

DOI: 10.19186/BC_2024.007

In questo ambito si inserisce il lavoro di Balboni et al., pubblicato in questo numero di *Biochimica Clinica*, nel quale sono riportati i dati di validazione dell'esame dell'esterasi leucocitaria nel liquido sinoviale di pazienti con sospetta infezione articolare periprotetica, misurata con striscia reattiva commercializzata per l'esame su urina, rispetto al conteggio leucocitario automatizzato (5). L'articolo ha il merito di documentare una patologia importante per morbilità e complicanze, per il cui inquadramento clinico la misurazione dell'esterasi leucocitaria con strisce reattive rappresenta uno dei criteri minori (6). È interessante riflettere sul fatto che la reale diffusione, e quindi l'impatto, di questa pratica è difficile da valutare, in quanto l'eventuale misurazione con strisce reattive può essere eseguita direttamente in sala operatoria dallo stesso chirurgo ortopedico all'insaputa del laboratorio. In aggiunta ai dati di sensibilità e specificità non ottimali riportati nell'articolo, gli autori evidenziano alcuni limiti importanti di tale esame, quali l'interferenza da emolisi e la soggettività della lettura della striscia, potenziali cause di errori analitici ben note ai laboratoristi ma ignorate o sottovalutate dai colleghi clinici. Meritano un commento anche le soluzioni proposte dagli autori nella conclusione del lavoro, per ovviare alle attuali criticità nella misurazione manuale dell'esterasi con strisce reattive. Lo sviluppo di metodi automatizzati o l'estensione della validazione degli strumenti automatici dalla matrice urina al liquido sinoviale da parte dei Produttori sono strategie auspicabili ma non facilmente (né rapidamente) perseguibili, in considerazione della forte dipendenza da logiche commerciali e dall'elevato numero di modelli di strisce reattive presenti nel mercato (tale molteplicità limiterebbe la generalizzabilità dei risultati). Appare, invece, più perseguibile l'utilizzo del conteggio leucocitario su emocitometro esteso alla matrice sinoviale per differenti motivi: presenza in letteratura di numerose esperienze e protocolli; possibilità di ottenere la conta leucocitaria totale e la percentuale di elementi polimorfonucleati, entrambi criteri più robusti; rapido e semplice pretrattamento del campione; disponibilità della strumentazione sia in routine che in urgenza nell'arco delle 24 ore.

L'efficacia di tale strategia analitica, in particolare la compatibilità del tempo di risposta (TAT) con le necessità dei tempi chirurgici, dipende essenzialmente dalla collaborazione e dal dialogo tra le diverse unità operative. Ma, in fin dei conti, questo non è altro che ribadire, come già dibattuto nella Conferenza Strategica di SIBioC del 2023 e riportato da vari autori nel monografico SS2 di *Biochimica Clinica* (7), il valore della Medicina di Laboratorio e la necessità di partecipare attivamente al processo di cura del paziente, sedendosi al tavolo con i colleghi clinici da pari, per colmare, citando testualmente gli autori, il "gap between practice and methodology" (5).

BIBLIOGRAFIA

1. ISO 15189. 2022. Medical laboratories: Requirements for quality and competence. International Organization for Standardization: Geneva 2022.
2. College of American Pathologists. All Common Checklist. Northfield, IL: College of American Pathologists; 2014. <https://www.cap.org/laboratory-improvement/accreditation/accreditation-checklists> (ultimo accesso: gennaio 2024).
3. Block DR, Ouverson LJ, Wittwer CA, Saenger AK, Baumann NA. An approach to analytical validation and testing of body fluid assays for the automated clinical laboratory. *Clin Biochem* 2018;58:44-52.
4. CLSI. Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). Analysis of Body Fluids in Clinical Chemistry. 2nd ed. CLSI guideline C49. CLSI Wayne, PA, 2018. Reaffirmed jan 2023.
5. Balboni F, Pezzati P, Balato G, Baldini A, Buoro S, Marasco L et al. The gap between practice and methodology: the case of esterase in Periprosthetic Joint Infection. *Bioch Clin* 2024;48:22-30.
6. Parvizi J, Gehrke T, International Consensus Group on Periprosthetic Joint Infection. Definition of periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty* 2014;29:1331.
7. AAVV. Special Supplement 2: SIBioc 2023 Strategic Conference. Il futuro della Medicina di Laboratorio. *Bioch Clin* 2023;47:Suppl2:S1-S78.