

“La pandemia di Coronavirus: suoi impatti e conseguenze nelle tecniche di analisi di laboratorio” - Autore : Alessia Cabrini



In memoria dei colleghi - Italia 2020

Introduzione

Il 30 Dicembre 2019 fu rilasciato da parte del Municipal Health Committee di Wuhan, città con più di 11 milioni di abitanti ubicata nella provincia di Hubei in Cina, un avviso urgente per la presenza di alcuni casi di polmonite ad eziologia sconosciuta.

Già il giorno successivo, le autorità sanitarie cinesi notificarono al WHO China Country Office 27 casi di polmonite di origine sconosciuta, di cui 7 in condizioni critiche, dichiararono, inoltre, che vi era un legame epidemiologico con il mercato ittico di Huanan, che vendeva animali vivi, dove la maggior parte dei pazienti aveva lavorato o visitato, fu chiuso il 1 Gennaio 2020 per essere sanificato. Il 9 gennaio 2020 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) diramò un comunicato per informare tutti i paesi che le autorità sanitarie cinesi avevano individuato un nuovo ceppo di coronavirus, mai identificato prima nell'uomo, provvisoriamente chiamato 2019-nCoV, ufficialmente classificato in seguito, dal Gruppo di Studio sul Coronavirus (CSG) del Comitato internazionale per la tassonomia dei virus (*International Committee on Taxonomy of Viruses*) con il nome di SARS-CoV-2 (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) riconosciuto come agente eziologico della malattia denominata Covid-19 (*Corona Virus Disease*).

Il 30 gennaio 2020 il World Health Organization (WHO) ha dichiarato che l'infezione virale in corso in Cina era da considerarsi un'emergenza di sanità pubblica internazionale, con un rischio elevato, soprattutto per i paesi con sistemi sanitari vulnerabili. L'11 Febbraio 2020 il WHO comunicò che vi erano 42.708 casi confermati in Cina e che, purtroppo, venivano segnalati 1017 decessi, molti dei quali nel capoluogo della provincia dello Hubei, Wuhan; mentre la malattia era già presente in 24 paesi per un totale di 393 casi e 1 morto. Dichiarò, inoltre, di avere provveduto ad istituire un team di gestione della crisi, guidato dal generale, il dott. Mike Ryan, al fine di aiutare la WHO a concentrarsi sul tema della salute, lasciando le altre agenzie a valutare le implicazioni, sociali, economiche, di quella che era a tutti gli effetti una pandemia. Nello stesso comunicato venne affermato che il giorno successivo ci sarebbe stato un incontro, a livello mondiale, di oltre 400 scienziati, per valutare ed uniformare i diversi interventi che si sarebbero dovuti adottare per combattere il virus, in modo da prevenire il contagio. Tutti i paesi erano stati informati circa il rischio sanitario, come prevenire la diffusione e come assistere i malati; si chiedeva **di rinforzare le capacità dei laboratori diagnostici di riferimento in tutto il mondo.**

La diagnostica di laboratorio ha contribuito in maniera efficace a monitorare e controllare i focolai virali di questa pandemia; attraverso una Diagnosi di laboratorio affidabile e tempestiva, resa possibile grazie all'impiego di tecnologie avanzate e ad innovative indagini genetico molecolari, utili ad impedire la diffusione del virus ed al contempo a migliorare l'assistenza e / o il mantenimento del benessere delle persone. La previsione per i prossimi anni è di un aumento esponenziale degli esami molecolari e di un sempre maggior utilizzo dell'informazione di laboratorio per supportare l'evoluzione verso una "medicina personalizzata", che sancisca il passaggio da una visione puramente curativa dell'assistenza alla promozione della salute e permetta l'individuazione di fattori di rischio, di suscettibilità alle malattie, diagnosi precoci e trattamenti "individualizzati" sulla base di conoscenze biochimiche, molecolari e di farmacogenomica. La Medicina di Laboratorio è essenziale per ogni moderno sistema sanitario, ma per mantenere la propria identità e vitalità deve saldamente ancorarsi ai percorsi diagnostico-assistenziali e riconoscere la centralità del paziente e dei suoi bisogni.

La Diagnostica di Laboratorio

Tra le principali priorità per facilitare gli interventi di sanità pubblica nell'emergenza mondiale **Coronavirus 2019-nCoV**, agente causale di polmonite, vi è una diagnosi di laboratorio affidabile e tempestiva, emersa con maggior forza dal momento in cui si è avuta la certezza che **soggetti asintomatici o paucisintomatici , o con il virus ancora in fase di incubazione** possono essere **contagiosi**, giocando un ruolo importante nella diffusione della malattia. Numerosi esami di laboratorio, in ambito ematologico (conta leucocitaria differenziale), coagulativo (d-dimero, tempo

di protrombina), enzimatico (LDH e transaminasi) e biomarcatori quali proteina C reattiva , procalcitonina e troponina cardiaca risultano strettamente correlati con la **severità** della malattia e rivestono un determinante valore prognostico; ma è l'ambito della diagnostica precoce ed accurata che oggi desta maggior interesse clinico. Vista l'impossibilità di stabilire una diagnosi certa e precoce su base sintomatologica e dei segni clinici, sono stati sviluppati metodi di laboratorio, in particolare test molecolari basati su Real Time RT- PCR per rilevare il patogeno e sierologia per identificare il contatto con il virus espresso da ricerca **anticorpale precoce** (IgM) e **ritardata** (IgG)

Il test molecolare è ormai ampiamente diffuso e viene utilizzato per determinare l'incidenza dei casi positivi . Le analisi vengono principalmente eseguite su campioni biologici quali delle vie respiratorie superiori considerati campioni primari per SARS-CoV-2 NAAT.

Negli Stati Uniti, il CDC raccomanda la raccolta di uno dei seguenti campioni :

- Tampone nasofaringeo, raccolto da un operatore sanitario.
- Tampone orofaringeo, raccolto da un operatore sanitario.
- Tampone nasale proveniente da entrambe le narici anteriori, raccolto da un operatore sanitario o dal paziente in loco o a casa.
- Lavaggio / aspirazione nasale o rinofaringeo, raccolto da un operatore sanitario.

Al laboratorio possono arrivare anche campioni non respiratori, inclusi Urine, Feci, sangue (intero, plasma, siero), Liquido seminale, Liquidi biologici speciali (Ascitico, Pleurico, Bronchiale) Secrezioni oculari, Saliva, anche se il ruolo di questi siti nella trasmissione del virus è incerto. Le principali tipologie di campioni rilevanti per la ricerca su COVID-19 a tutt'oggi sono: **tampone orofaringeo; tampone nasale; BAL** (Lavaggio bronco-alveolare), **aspirato/lavaggio tracheale e nasale; saliva ; sangue e tutti i suoi derivati; urine; feci.**

Un corretto trattamento del campione biologico e una sua gestione consolidata e armonizzata sono condizioni necessarie per garantire una ricerca di qualità con risultati comparabili e riproducibili. Tutte le procedure devono essere eseguite in base all'analisi del rischio; gli ambienti di lavoro e le strumentazioni necessarie alla loro manipolazione devono essere preventivamente individuate e organizzate, le condizioni ambientali devono essere definite, verificate, monitorate e registrate. Tutte le procedure di raccolta devono essere considerate ad alto potenziale di rischio e vanno eseguite da personale esperto e dopo la messa in atto di tutte le misure che ne minimizzano il rischio per l'operatore. (*Rapporto ISS COVID-19 • n. 13/2020*)

Il processo di acquisizione del materiale biologico infetto o potenzialmente infetto da SARS-CoV2 deve essere registrato, documentato e associato alla data e ora di raccolta, modalità del prelievo e di tutte le informazioni procedurali che il campione ha subito prima dell'arrivo in Laboratorio. I

campioni provenienti da casi sospetti o confermati COVID-19 rientrano nella categoria delle **“Sostanze Biologiche Categoria B UN-No. 3373”**

Esami di laboratorio Fase 1

Per la diagnosi di prima infezione Covid19 è prevista l'esecuzione di esami di **laboratorio di Fase 1** quale l'esecuzione del cosiddetto **“tamponamento naso faringeo”** e/o campioni **BAL/espettorato**, finalizzati ad individuare la presenza del virus nel materiale biologico prelevato nel naso e nella gola, o su campioni prelevati dalle basse vie respiratorie. **(Fig.1)**



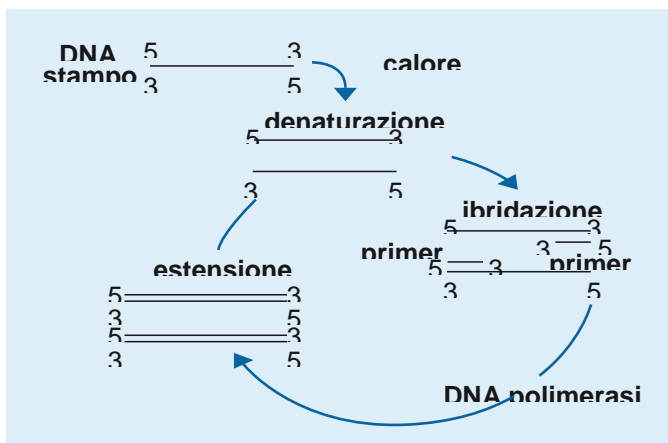
Fig.1 Tamponamento naso faringeo

L'esame diagnostico viene rilevato con tecniche di biologia molecolare di amplificazione del materiale genetico virale, attraverso un test di reazione a catena della trascrizione-polimerasi inversa (RT-PCR), basato sull'identificazione dell'RNA virale che consente l'estrazione dell'acido nucleico virale retro-trascrizione da RNA a Cdna ed amplificazione dello stesso, con un monitoraggio in tempo reale della reazione di amplificazione e con conseguente riduzione del tempo di risposta e di rischio contaminazioni. Il test è considerato il gold standard per testare i pazienti con sospetti sintomi. **La sua positività indica la fase di infezione attiva** legata alla possibilità di **trasmettere l'infezione** attraverso goccioline di saliva (droplets) emesse parlando, starnutando o tossendo.

Il test è in grado di fornire risultati attendibili e di comprovata utilità per la diagnosi rapida nei pazienti che sviluppano COVID-19, ed è stato implementato in modo diretto, secondo le indicazioni dell'World Health Organization (WHO) in tema di strategie diagnostiche, da molti laboratori in tutto il mondo, ed in particolare in Italia nei laboratori di riferimento Regionali coinvolti in prima linea nell'emergenza sanitaria.

Il metodo molecolare denominato RT-PCR (Reazione a Catena della Polimerasi Tempo Reale) consente l'identificazione di agenti patogeni attraverso l'amplificazione del DNA o RNA dei microrganismi, ed è un esempio della nuova frontiera della diagnostica rapida e sicura. Attraverso le informazioni ottenute con la Real Time PCR si può ricavare un dosaggio quantitativo del microrganismo per seguire l'evoluzione della terapia anti-virale e implicitamente il follow up del

Paziente. La reazione a catena della polimerasi (PCR) può essere definita come: una reazione di amplificazione in vitro di un segmento specifico di DNA (sequenza “target”), per mezzo di una DNA polimerasi. Nella reazione sono coinvolti tre segmenti di acidi nucleici: lo “stampo” di DNA a doppia elica, che deve essere amplificato (sequenza “target”), e due “primers” oligonucleotidici a singolo filamento che, accoppiandosi in maniera specifica, attraverso la reazione di ibridazione, con segmenti complementari in posizione simmetricamente opposta, con la molecola del DNA “stampo”, forniscono gli elementi di innesco per l’aggiunta di nucleotidi e la sintesi di un filamento di DNA complementare al DNA stampo medesimo (**Fig. 2**).



(Fig. 2) Principio dell’amplificazione per PCR

La tecnica della *Reverse transcriptase - polymerase chain reaction* (**RT-PCR**) o **reazione a catena della polimerasi inversa** è una variante della tecnica della reazione a catena della polimerasi (PCR). Questa tecnica consiste nella sintesi di una molecola di DNA a doppio filamento a partire da uno stampo di RNA. La molecola di DNA sintetizzata mediante il processo di retrotrascrizione è definita cDNA. Mediante l'impiego della RT-PCR è possibile convertire in DNA un intero trascrittoma (insieme di tutto il trascritto di una cellula) di uno specifico tessuto di un individuo in una specifica fase del suo sviluppo. Per tale motivo, la RT-PCR è una tecnica che viene sfruttata in laboratorio per studiare l'espressione genica, perché consente di sottoporre a ulteriori analisi il cDNA sintetizzato. Il prodotto della retrotrascrizione dell'RNA, anche detta Reazione First-strand, può essere amplificato mediante PCR classica, oppure essere quantificato mediante real-time PCR (qPCR). La tecnica di real-time PCR permette anche di quantificare gli acidi nucleici nei campioni biologici e può essere impiegata per misurare la carica degli agenti patogeni.

La quantificazione degli acidi nucleici è estremamente importante per stabilire il grado di attività di un’infezione, per monitorare la progressione della malattia, per differenziare un’infezione attiva da una persistente e per definire quale sia il ruolo della riattivazione virale o della persistenza nella progressione della malattia, per studiare le interazioni virus-ospite e soprattutto per impostare la terapia antivirale e per monitorarne la risposta (13,19). Gli esempi più eclatanti in questo senso sono

rappresentati da HBV, HCV e HIV e fino ad ora la chimica più ampiamente utilizzata e studiata è quella degli oligoprobes sensibili alla 5'-nucleasi (TaqMan)

Il processo diagnostico molecolare avviene in tre Fasi principali :

- **1 ° Fase di Estrazione degli acidi nucleici ,**

- **2 ° Fase di allestimento delle reazioni di amplificazione con i reagenti per la rilevazione del virus**

- **3° Fase di amplificazione in Real Time per valutare l'effettiva presenza o assenza del virus**

Tale processo diagnostico è sempre stato di tipo meccanico, ma ad oggi si è passati ad un sistema di tipo acustico (U.OC Microbiologia AOU Padova) con la modifica della 2° Fase di allestimento reazioni di amplificazione, attraverso l'introduzione di un manipolatore di liquidi a onde sonore "ADE Echo 525 – LABCYTE" (Fig.3) che sostituisce il classico "pipettatore meccanico", finora utilizzato. Questo metodo di erogazione di liquidi a basso volume e contatto, comporta notevoli vantaggi rispetto al tradizionale metodo , tra cui :

- l'eliminazione del rischio di contaminazione incrociata

- la riduzione della perdita di liquidi

- l'erogazione in incrementi di 2,5 o 25 nano-litri dalle piastre di origine con incredibile velocità e precisione, in un processo che può essere completamente automatizzato, consentendo facilità d'uso e replica.

- Aumento capacità di analisi dei tamponi naso faringei fino ad un numero di 7000 al giorno

Questa rivoluzionaria tecnologia di erogazione acustica dei liquidi sta trasformando il modo in cui la ricerca viene eseguita nei laboratori in tutto lo spettro della ricerca, dal mondo accademico al farmaco, dalle scienze della vita di base alla medicina traslazionale, come dimostrato in vari studi pubblicati, e soprattutto può favorire il miglioramento della diagnostica molecolare semplificando i test diagnostici DNA/RNA ed in particolare nella ricerca del Coronavirus. In tal modo ne consegue una importante riduzione dei tempi di risposta del 92% , oltre che un aumento della capacità e del numero di analisi dei campioni , con riduzione dei costi reagenti e di contaminazioni.

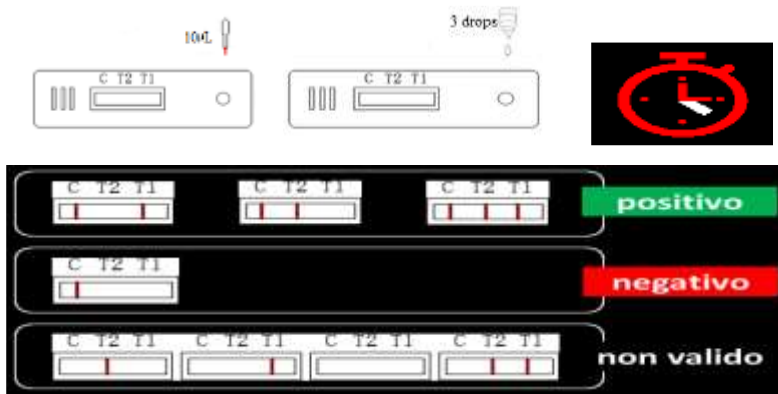


Fig.3 Echo 525 LIQUID HANDLER

Esami di laboratorio fase 2

Come per tutte le infezioni virali, anche nel caso da infezione da coronavirus il sistema immunitario produce anticorpi diretti verso le proteine dell'involucro virale, parte fondamentale del sistema immunitario. Alcuni di questi **anticorpi**, detti **IgM**, (Immunoglobuline M) sono **prodotti** nella **fase iniziale dell'infezione** e si ritrovano nel sangue a partire, in media, da 4 o 5 giorni dopo la comparsa dei sintomi ,tendendo poi a scomparire nel giro di qualche settimana e quando inizia la produzione di altri **anticorpi**, detti **IgG**, che sono **prodotti più tardivamente** e si ritrovano nel sangue a partire, in media, da un paio di settimane dopo la comparsa dei sintomi (ma possono comparire anche prima) e permangono poi per molto tempo. Le IgG (Immunoglobuline G) rappresentano circa il 70-80% delle immunoglobuline del sangue e sono responsabili della protezione a lungo termine Ma ci sono anche altri anticorpi o Immunoglobuline A (IgA) che costituiscono circa il 15 % delle immunoglobuline totali nel sangue ma sono presenti anche nella saliva, nelle lacrime, nelle secrezioni gastriche e respiratorie e nel latte materno. Ed è in tale contesto, che possono essere impiegati anche i cosiddetti test sierologici per individuare le Immunoglobuline (IgM, IgG, IgA), prodotte dall'organismo contro alcune proteine dell'involucro virale del Coronavirus, considerati di supporto alla diagnosi. Tali test si stanno implementando nei vari laboratori, in base alle indicazioni dell'OMS del 19 marzo c.a., e **si basano sulla valutazione sierologica**, ossia la ricerca degli anticorpi nei soggetti negativi al tampone, soprattutto anche per monitorare gli asintomatici al Covid19, e al fine di contribuire a prevenire la trasmissione del virus. In commercio esistono **2 tipologie di test sierologici** : **test quantitativi** , basati su tecniche di immunofluorescenza indiretta (IFA) e tecniche immunoenzimatiche (ELISA), entrambe finalizzate ad identificare la presenza in circolo di anticorpi (IgG, IgM, IgA) anti-SARS-CoV sfruttando determinanti antigenici ricombinanti o materiale virale isolato (**Test di elezione per testare Immunità e Screening**) e **test qualitativi** definibili "**rapidi**" con tempi di risposta di circa

15 minuti (test su card), in cui viene prelevata una goccia di sangue presa da un popastrello (o di siero ottenuto da un prelievo ematico), e messa su una striscia reagente, dove se sono presenti gli anticorpi, compare una barretta colorata (come in un test di gravidanza). (Fig. 4)



(Fig. 4) Test Card qualitativo

In particolare per quanto concerne i **test quantitativi** è possibile per il dosaggio immunologico del SARS-CoV 2 S1/S2 IgG , è possibile effettuare una tecnica diagnostica in **chemioluminescenza (CLIA)**. che determina gli anticorpi specifici della classe IgG anti S1 e anti S2 in campioni di siero o plasma umano. Il test è di ausilio nella diagnosi di infezione da coVID-19 e da una indicazione della presenza di IgG neutralizzanti diretti contro il SARS-CoV-2. Tuttavia la presenza di IgG non indica che il paziente non sia infetto o che possa essere re-infettato dal virus in futuro, ne è noto per quanto tempo le IgG rimarranno rilevabili.

I **test qualitativi rapidi** sono utilizzabili soprattutto in situazioni di reale emergenza al di fuori del laboratorio (**POCT**) , ma non sono del tutto precisi rispetto ai test quantitativi eseguiti in laboratorio, poiché possono essere gravati da sensibilità e specificità variabile (in particolare per IgM), oltre ad essere in questo caso assolutamente “operatore-dipendente” nella loro interpretazione con una gestione incontrollata in un eventuale utilizzo extra-ospedaliero.

Purtroppo nella fase di pandemia in cui ci si è ritrovati , si è evidenziata una commercializzazione selvaggia di vendita dei test rapidi (card) basati sul principio dell'immunocromatografia per la valutazione qualitativa delle immunoglobuline IgG e IgM,, da parte soprattutto di alcuni laboratori privati, offrendo la possibilità di prenotare il test solamente a persone asintomatiche non in quarantena. Questi test rapidi si sono rivelati non del tutto affidabili, dato che la loro reale capacità di evidenziare tutti i casi con presenza di anticorpi non è stata ancora accertata in modo accurato, con la possibilità incerta di rilevazione o meno di anticorpi nel sangue (**cosiddetti “falsi negativi”**). Questo perché il classico periodo finestra che intercorre tra contagio e sierconversione è ampio ed eterogeneo, e molti pazienti permangono sieronegativi anche nella fase acuta di malattia. La diagnosi sierologica certa non può essere formulata prima che siano trascorsi 21 giorni dalla comparsa

dei primi sintomi, ed in genere occorrono **almeno 7 giorni** per registrare un primo movimento anticorpale. Pertanto, malgrado la sieroconversione rappresenti un valido ausilio all'iter diagnostico, l'assenza in circolo di anticorpi anti-SARS-CoV non consente di escludere l'infezione fino ad almeno tre settimane dalla comparsa dei sintomi. Quindi se il test è positivo, si è fatta diagnosi; ma se è negativo, c'è il rischio che si tratti di un falso negativo.

Al contrario, se quello che si intende indagare è se un gruppo di persone è stato a contatto col virus e se possono aver sviluppato l'immunità, allora i test sierologici sono quelli d'elezione", come ad esempio aiutare a fare screening prioritari fra gruppi ad alto rischio, tra cui i lavoratori sanitari, o i fornitori di prodotti alimentari. I test sierologici, opportunamente validati, sono dunque preziosi a fini epidemiologici, consentendo di capire quale parte della popolazione ha sviluppato un'immunità contro il coronavirus. Sono invece del tutto inutili per far diagnosi di infezione in atto, perché per loro stessa natura sono 'ciechi' nella prima settimana dall'infezione, quella in cui il paziente non ha ancora cominciato a fabbricare anticorpi, ma può diffondere attivamente il virus tra le persone che lo circondano. Diversamente, come attualmente anche l'OMS raccomanda, per il loro uso nell'attività diagnostica d'infezione in atto da SARS-CoV-2, necessitano di ulteriori evidenze sulle loro performance e utilità operativa. In particolare, i test rapidi basati sull'identificazione di anticorpi IgM, IgG, IgA specifici per la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2, non possono, allo stato attuale dell'evoluzione tecnologica, sostituire il test molecolare basato sull'identificazione di RNA virale dai tamponi nasofaringei secondo i protocolli indicati dall'OMS".

Il consolidamento dei Laboratori clinici: il modello del Laboratorio in rete

Il miglioramento continuo dei processi di laboratorio, finalizzato a un'integrazione sempre più stretta con l'ambito clinico, rappresenta una tra le attività più qualificanti per i professionisti di laboratorio. Gli interventi per aumentare il livello della performance complessiva dei processi di laboratorio, in particolare quelli diretti a ottenere tempi più rapidi di risposta e a ridurre la variabilità operativa, sono strumenti importanti per ottenere un servizio più efficace. Si parla oggi di **Hub and Spoke**, di **Core Lab**, di **POCT**, con formulazioni ed applicazioni diverse in base alle diverse realtà od aree; l'attenzione deve essere posta nella costituzione di network di Laboratorio che permettano il consolidamento di masse critiche di attività mantenendo al tempo stesso la copertura dei presidi periferici con attività ed operatori che garantiscano le esigenze di urgenza e di emergenza, di cui si è verificata la necessità nel corso della pandemia da Coronavirus.

Dal punto di vista organizzativo, il modello di riferimento è **l'integrazione in rete**. Alla base della definizione della rete, deve esserci la programmazione dell'assistenza sanitaria nelle forme di rete ospedaliera, eventualmente dei Policlinici o Aziende ospedaliere-Universitarie integrate,

dell'assistenza intermedia e territoriale. La conoscenza dei bisogni, in termini di servizi di laboratorio clinico all'interno dei percorsi diagnostico assistenziali, dei tempi di risposta e di altre fondamentali variabili, deve dirigere le decisioni sul tipo di organizzazione, sulla necessità di implementare POCT o di centralizzare maggiormente i servizi. All'interno della rete, e a seconda della complessità dei servizi clinici erogati in ciascuna istituzione, sarà necessaria e possibile la specializzazione dei singoli o di alcuni laboratori per aree diagnostiche. In quest'ottica, saranno assicurati con tempi clinici appropriati sia gli esami di base ed urgenti, sia quelli specialistici, evitando sovrapposizioni e costi improduttivi attraverso un modello di "governance" clinica saldamente nelle mani dei professionisti. Questo modello è schematizzato nella Figura 5, nella quale appare evidente la necessità di collaborazione ed integrazione fra i laboratori che partecipano alla rete assistenziale. Questo modello, permette al laboratorio clinico ed ai suoi professionisti di rimanere saldamente ancorati al contesto assistenziale e sempre più vicini ai percorsi del paziente.

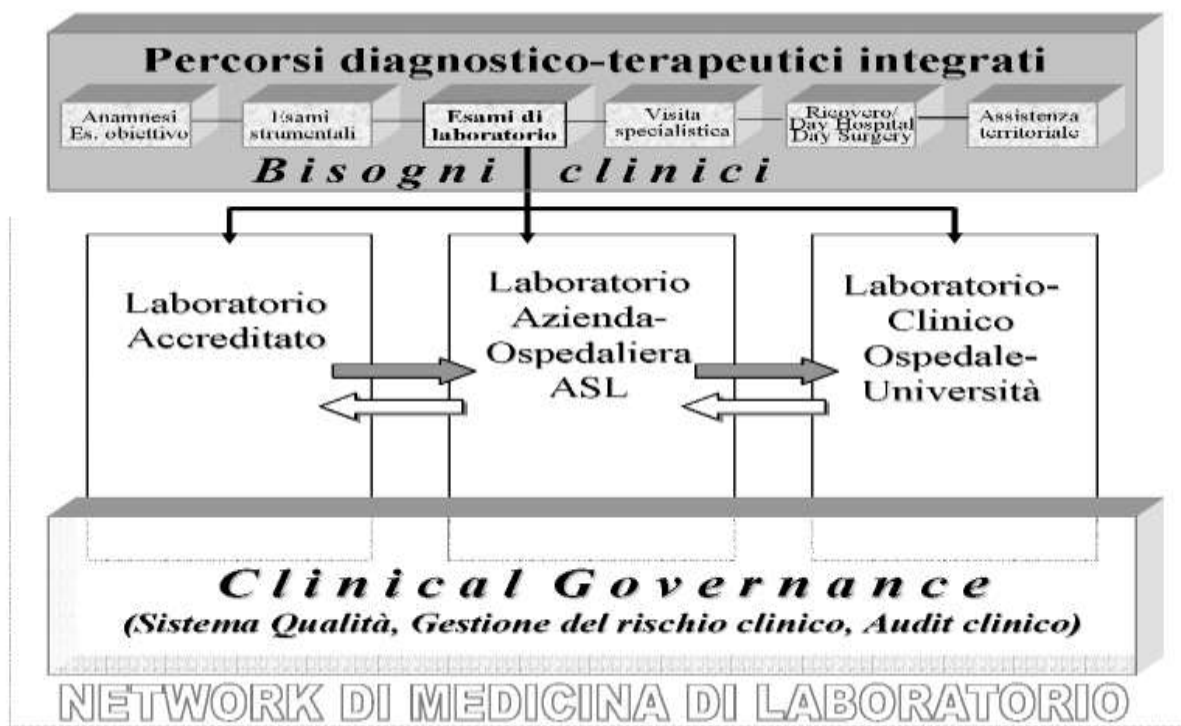


Fig.5 *La rete integrata dei laboratori clinici come risposta ai bisogni di salute del paziente*

Le possibilità di aumentare ulteriormente l'efficienza del Laboratorio può e deve essere ricercata nel perseguire **nuovi modelli organizzativi interni** che, anche tenendo conto della evoluzione dinamica delle risorse umane (in rapida diminuzione e di difficoltosa sostituzione) portino ad una risposta efficace (in termini di rapidità di risposta e di alta predittività clinica delle prestazioni) rispetto alle esigenze dei Clinici. Le azioni da attivare riguardano:

- 1) Un sempre maggiore controllo e contenimento del **costo di erogazione delle prestazioni**

stesse aumentando la lotta agli “sprechi” intesi come più razionale utilizzo dei reattivi stessi, anche verificando la frequenza di esecuzione di indagini a bassa richiesta

2) Una forte integrazione delle attività, basata prevalentemente sulle *risorse strumentali omogenee* più che sulle diverse organizzazioni disciplinari. E’ ormai in atto all’interno del Laboratorio una sorta di “**area per intensità di erogazione ed omogeneità tecnologica**”.

3) Una ulteriore integrazione fra attività richiesta in *regime di urgenza ed in regime ordinario* con l’intento di un miglior utilizzo del personale, delle apparecchiature e di diminuire le richieste urgenti improprie.

Un doveroso sforzo può essere condotto inoltre, in collaborazione con la Direzione sanitaria, nel migliorare gli *aspetti logistici generali* di arrivo dei campioni in laboratorio, auspicando un flusso più omogeneo e costante, a tutto vantaggio della qualità preanalitica e di una maggior saturazione delle apparecchiature ed un più razionale impiego del personale stesso. Un aspetto importante, che per molti anni ha ricevuto (colpevolmente) meno attenzione da parte dell’industria rispetto ad altri settori, è l’automazione della fase preanalitica. Nella consapevolezza che la maggior parte degli errori di laboratorio si verifica proprio in questa fase critica, sono stati recentemente commercializzate delle piattaforme preanalitiche, integrate con il **sistema informatico di laboratorio (LIS)**, che eseguono una serie di operazioni complesse ad alto rischio (sia biologico, sia d’errore), tra le quali de-capping, centrifugazione, sorting e preparazione di aliquote a partire dal tubo primario.

In particolare le metodologie in *Biologia molecolare*, richiedono elevate e specifiche competenze di personale ed alti costi di diagnostici, e i diversi laboratori di diagnostica molecolare, pur utilizzando le stesse tecniche e metodologie d’indagine, sono attualmente realtà isolate e frammentate in cui non vi è condivisione di strumentazione e spazi logistici. La crescente mole di lavoro data dall’incremento delle conoscenze scientifiche, l’esigenza di tempi di refertazione più rapidi e standardizzati, la carenza di personale tecnico qualificato, la frammentazione dei laboratori sono peraltro problematiche che concorrono all’incremento del costo delle analisi e alla limitazione della capacità di generare risultati ottimali. Si rende pertanto sempre più consolidata l’ipotesi di allestire un “**Core Lab di biologia molecolare**”, come la realizzazione di una piattaforma di biologia molecolare automatizzata e ad elevata specializzazione, che consente di avviare e consolidare un’attività di centralizzazione finalizzata ad un servizio di “*service per l’estrazione del DNA e per le reazioni di sequenziamento del DNA*” che rappresentano le prestazioni più condivise fra i diversi laboratori quali :

- la **standardizzazione** delle procedure e rispetto dei controlli di qualità necessari per l'efficienza del sistema diagnostico;
- l'elevata **produttività** e **brevi tempi di risposta**, (TAT);
- la **sicurezza** dei risultati attraverso la tracciabilità dei campioni, in conformità con le procedure di qualità;
- **l'ottimizzazione delle risorse e controllo dei costi**;
- la **centralizzazione del flusso dei campioni** e **l'ottimizzazione degli spazi** con conseguente riorganizzazione e razionalizzazione degli spazi



Figura 5 - Schema di piattaforma integrata di Biologia Molecolare

Conclusioni

Il Laboratorio partecipa in maniera decisiva al 70% delle diagnosi mediche con un ruolo di primo piano nei percorsi diagnostico/clinici che è ormai certo e riconosciuto, e a maggior ragione nel campo delle urgenze, che è in evoluzione continua. In particolare, si è rivelato essenziale nella gestione della pandemia da Coronavirus, grazie alla capacità di effettuare in modo tempestivo ed accurato i test dei campioni prelevati dai casi in esame per la gestione del COVID-19 e delle infezioni emergenti in generale. Inoltre è importante sottolineare che il laboratorio è coinvolto da sempre nei programmi di prevenzione e controllo delle infezioni, come la gestione dei focolai, l'esecuzione di ulteriori test per studi epidemiologici, la tipizzazione di batteri e funghi e la sorveglianza delle infezioni ospedaliere. In questo contesto, gli strumenti messi a disposizione dalle nuove tecnologie di lavoro, dalle moderne tecniche di comunicazione e dalla reingegnerizzazione dei processi sono determinanti e facilitano la gestione dei percorsi. Il miglioramento continuo dei processi di laboratorio, finalizzato a un'integrazione sempre più stretta con l'ambito clinico, rappresenta una tra le attività più qualificanti per i professionisti di laboratorio; gli interventi per aumentare il livello della performance complessiva

dei processi, in particolare quelli diretti a ottenere tempi più rapidi di risposta e a ridurre la variabilità operativa, sono strumenti importanti per ottenere un servizio più efficace e per ridurre i costi impropri, insieme alla possibilità futura di disporre di open space da configurare e destinare alle piattaforme del servizio di laboratorio che non potrà che rappresentare un ulteriore momento di evoluzione positiva, al passo con il consolidamento della “mission” delle esigenze dell’utenza. Infine, l’evoluzione nel numero e nella tipologia degli esami di laboratorio non solo è innegabile ma riflette la trasformazione della medicina da pratica fondamentale ed esclusivamente basata sull’anamnesi e l’esame obiettivo a scienza che fa ricorso sempre maggiore alla tecnologia (esami di laboratorio, tecniche d’immagine, ecc.) per la diagnosi ed il trattamento dei pazienti. La previsione per i prossimi anni è di un aumento esponenziale degli esami molecolari e di un sempre maggior utilizzo dell’informazione di laboratorio per supportare l’evoluzione verso una “medicina personalizzata”, che sancisca il passaggio da una visione puramente curativa dell’assistenza alla promozione della salute e permetta l’individuazione di fattori di rischio, di suscettibilità alle malattie, diagnosi precoci e trattamenti “individualizzati” sulla base di conoscenze biochimiche, molecolari e di farmacogenomica.

Bibliografia

1. Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, (2020) pp. 71-76.
2. www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance; www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/hcp/index.html].
3. Zhu N, Zhang D, Wang W, (2019) p.328.
4. www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020.
5. www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020
6. Schmitz G, Aslanidis C, Lackner KJ. Pharmacogenomics: implications for laboratory medicine. Clin Chim Acta 2001;308:43-53.
7. Guidi GC, Lippi G. Laboratory medicine in the 2000s: programmed death or rebirth? Clin Lab Med 2006;44:913-7.
8. Plebani M. The future of clinical laboratories: more testing or knowledge services? Clin Chem Lab Med 2005;43:893-6.

- 9** [Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons Under Investigation (PUIs) for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
- 10.** [Annex 1 Core requirements 1. Good microbiological practice and procedure (GMPP) del WHO Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19): interim guidance, February 2020: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331138>].
- 12.** (http://un3373.it/definizioni_sulle_materie_biologiche_UN3373.html);
- 13.** (http://www.un3373.it/definizione_materie_infettanti_UN2814_e_UN2900.html)
- 14.** Lippi G, Plebani M. L'epidemia del nuovo coronavirus (2019-nCoV): pensa l'impensabile e sii pronto ad affrontare la sfida. *Diagnosi (Berl)* 2020
- 13.** Hoey J. Updated SARS case definition using laboratory criteria. *CMAJ* 2003;168;1566-7
- 14.** Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, Grankvist K, Huisman W, Kouri T, Palicka V, Plebani M, Puro V, Salvagno GL, Sandberg S, Sikaris K, Watson I, Stankovic AK, Simundic AM. *Preanalytical quality improvement: from dream to reality. Clin Chem Lab Med* 2011;49:1113-26
- 15.** Burke MD. Laboratory medicine in the 21st century. *Am J Clin Pathol* 2000;114:841-6.
- 16.** Plebani M. The changing face of clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:711-7.