

relazioni

SESSIONE I

Appropriatezza e nuovi standard tecnologici in Microbiologia

Mercoledì 15 ottobre 2003, 9.00-13.00, Sala Michelangelo
Palazzo dei Congressi, piano -I

S1.1

STANDARD E STANDARDIZZAZIONE NELLA DIAGNOSTICA MICROBIOLOGICA

Spanò A.

Laboratorio di Microbiologia, Ospedale S. Pertini, Roma

L'impatto delle biotecnologie in diagnostica si è innanzi tutto avvertito nel settore delle malattie infettive, sia di origine virale che batterica.

La microbiologia tradizionale permette di isolare e identificare batteri, micoplasma, lieviti e virus responsabili delle infezioni umane attraverso la coltura, l'esame diretto al microscopio e prove biochimiche. Per la rivelazione delle infezioni virali (ma anche batteriche), si sono comunemente utilizzati gli immunodosaggi sierologici che permettono di misurare gli anticorpi specifici circolanti. Gran parte dei più importanti agenti infettanti sono attualmente diagnosticabili in modo più rapido e sensibile mediante le tecniche di amplificazione molecolare. In particolare, l'introduzione di kit diagnostici commerciali ha reso possibile l'impiego routinario della PCR e delle altre tecniche di analisi molecolare nei laboratori di diagnostica clinica. Terreni, reagenti e strumentazione automatica dedicata per tecniche colturali, immunoenzimatiche e di amplificazione completano il quadro di quanto comunemente utilizzato in un laboratorio di microbiologia.

Le questioni cruciali per la rivelazione di un'infezione sono la sensibilità e la velocità di rivelazione necessarie per il microrganismo che ne è responsabile. Anche se la tendenza è quella di riuscire a disporre di metodi sensibili che permettano di ottenere risposte il più possibile rapide, magari entro le 24 ore dal prelievo, in modo da consentire un precoce inizio della terapia, esistono microrganismi per i quali un'elevata sensibilità e/o rapidità sono più o meno importanti. In questa otti-

ca, questioni chiave sono rappresentate dall'economicità e dalla possibilità di standardizzare e automatizzare un dato test, in modo da renderlo adeguato ad uso routinario nella pratica clinica.

Una tipica sequenza utilizzata in microbiologia è rappresentata da raccolta e trasporto del campione, arricchimento, semina, incubazione, isolamento delle colonie, identificazione batterica e/o virale, antibiogramma. Per l'identificazione del microrganismo si utilizza l'esame microscopico diretto, metodi di identificazione immunologica, o basati sull'espressione di un antigene o produzione di un enzima, identificazione di sequenze genetiche di DNA o di rRNA (RNA ribosomiale) specifiche per i singoli microrganismi.

La diagnostica microbiologica sta attraversando una nuova grande trasformazione grazie all'impiego delle sonde molecolari. Tale tipo diagnostica ha assunto rapidamente un ruolo fondamentale.

Tra i problemi tecnici affrontati con l'introduzione della biologia molecolare nella pratica clinica, i principali riguardano la standardizzazione dei metodi di analisi, la loro riproducibilità, la loro accuratezza. L'introduzione delle unità internazionali per esprimere la carica virale dell'HCV RNA, è stato un grosso passo in avanti che ha permesso di identificare uno standard di riferimento, di effettuare un confronto tra diversi standard, di poter valutare diverse metodologie di PCR tra di loro. La diagnostica biotecnologica si è rilevata di estrema importanza nella determinazione della variabilità del genoma virale che ha come principale conseguenza la generazione di mutanti di virus che sfuggono alla risposta immune e danno luogo a infezioni croniche. Il virus dell'HCV è altamente variabile; minore è la variabilità di HBV, ma mutanti non sierologicamente distinguibili si originano anche in questa infezione e possono essere identificati con l'amplificazione genomica. La variabilità del genoma di HIV, oltre a permettere al virus di evadere la sorveglianza immunitaria, si è anche rivelata un fattore determinante nello sviluppo di ceppi virali resistenti ai farmaci. Tecniche di diagnostica molecolare, che vanno dal

sequenziamento del genoma e a nuove applicazioni della PCR, si sono rivelate di grande utilità nell'evitare le farmacoresistenze di HIV, ai fini di instaurare una corretta terapia antiretrovirale di combinazione (HAART). Il verificarsi di sempre più frequenti episodi di infezione con *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) trova oggi saggi diagnostici biotecnologici altamente efficaci. Si è visto che dal 1,5 al 6% dei campioni risultati negativi con i tradizionali metodi di coltura, della durata di 2-4 settimane, erano positivi per PCR. Anche per questa infezione batterica l'insorgenza di mutanti resistenti ai farmaci può essere identificata in maniera relativamente semplice con l'amplificazione genomica e, di conseguenza, la tradizionale terapia con isoniazide, rifampicina e altri farmaci può essere variata in seguito al tipo di resistenza identificata.

Perché la PCR possa finalmente sostituire altre metodiche di routine nei laboratori di diagnostica microbiologica è necessaria un'automazione il più possibile completa della tecnica. C'è necessità di definire e disporre di precisi standard di riferimento, in modo da poter permettere una comparazione delle diverse metodiche utilizzate e definirne un uso appropriato nella pratica clinica. Vi è altresì necessità di definire precisi processi di standardizzazione delle procedure di analisi microbiologica, in modo da elevare l'interpretabilità del dato e qualificare la prestazione diagnostica. Le potenzialità offerte dalla disponibilità di tali tecniche diagnostiche non sempre vengono validamente considerate dal clinico, soprattutto in relazione alla loro appropriata utilizzazione nel monitorare e valutare gli esiti del trattamento. In tal senso è sicuramente necessaria una più stretta collaborazione e integrazione tra medicina clinica e di laboratorio. Nuove strategie di diagnosi e trattamento di determinate patologie dovranno in futuro essere riconsiderate.

S1.2

L'UTILIZZAZIONE NELLA PRATICA CLINICA DEGLI ESAMI MICROBIOLOGICI: PROCESSO DECISIONALE E APPROPRIATEZZA NELLA RICHIESTA

Lauria F.

Div. Malattie Infettive Ospedale S. Pio - Vasto (CH)- Az. USL 03

Introduzione

L'evoluzione delle tecnologie sanitarie ha certamente contribuito in modo determinante a promuovere la qualità dell'assistenza e a migliorare lo stato di salute della popolazione. Tuttavia, l'accelerazione tecnologica a cui abbiamo assistito in questi anni pone dei seri

problemi di valutazione, che devono essere tenuti in considerazione nell'introdurre una nuova tecnologia nella pratica clinica, valutando gli aspetti tecnici, organizzativi, di efficacia e di efficienza. Numerosi studi epidemiologici sull'utilizzazione dei servizi sanitari hanno permesso di documentare in modo sistematico l'esistenza in tutti i paesi avanzati di una significativa variabilità clinica, universale e ubiquitaria. Non sembrano esistere relazioni tra elevati livelli di utilizzazione dei servizi diagnostici ed elevata inappropriatezza ovvero, in direzione opposta, non vi è prova che a minori tassi di utilizzazione corrispondono più elevati livelli di appropriatezza. Tuttavia, almeno il 20% degli interventi sanitari utilizzati nella pratica corrente sono privi di una valida prova di efficacia; questo significa che spesso vengono utilizzate procedure, protocolli, tecniche diagnostiche, senza che siano state adeguatamente considerate e valutate.

Technology Assessment (TA) e valutazione di appropriatezza

Valutare una tecnologia sanitaria (Technology Assessment-TA) significa valutare tutto quello che viene messo in atto per la cura e per l'assistenza del paziente. Un simile processo di valutazione ha diverse dimensioni e diversi aspetti: un aspetto tecnico che riguarda l'efficacia reale e potenziale; una dimensione dell'efficienza, che riguarda l'analisi costo-beneficio, il rapporto costo-efficacia; una dimensione che riguarda le valutazioni di ordine etico, una dimensione organizzativa-manageriale. Pertanto, gli ambiti presi in considerazione da un processo di valutazione delle tecnologie sanitarie sono numerosi e riguardano fattori quali l'efficacia attesa, l'efficacia nella pratica clinica, l'utilità clinica di un test diagnostico, le sue caratteristiche tecniche e di sicurezza, la sua applicabilità, i costi e i vantaggi che ne derivano, le conseguenze derivanti dall'introduzione del test nella pratica clinica, i problemi etici, l'accettabilità del test, l'indicazione normativa, etc... Il processo di technology assessment si occupa, quindi, anche della valutazione di appropriatezza dei trattamenti e della corretta gestione del paziente.

Nell'esaminare ed analizzare la letteratura in relazione all'introduzione di un test diagnostico nella pratica clinica, è necessario verificare l'esistenza di tre requisiti fondamentali: 1) la validità dei risultati degli studi esaminati; 2) le caratteristiche di questi risultati; 3) la loro trasferibilità o utilizzo nella propria pratica clinica. Le diverse metodologie di analisi esistenti in genere fanno riferimento a due ordini di criteri: criteri primari e criteri secondari. Possono essere considerati criteri primari: valutazione di studi che presentano un confronto a doppio cieco con uno standard definito, verifica che il test è applicabile ad una appropriata gamma di soggetti. Mentre, possono essere considerati criteri secondari: la definizione di uno standard di riferimento e una metodologia del test descritta con