

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**La qualità in genetica
per una genetica di qualità**

A cura di
Elisa Calzolari e Domenica Taruscio

(a) Istituto di Genetica Medica, Università di Ferrara, Ferrara
(b) Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN
03/38

Istituto Superiore di Sanità

La qualità in genetica per una genetica di qualità.

A cura di Elisa Calzolari e Domenica Taruscio

2003, iii, 40 p. Rapporti ISTISAN 03/38

Vengono presentati alcuni contributi che, da differenti angolazioni, affrontano problematiche relative alla ricerca della qualità nell'analisi genetica. La qualità è definita e determinata come qualità dell'assistenza sanitaria, ovvero dell'efficacia del servizio erogato nella migliore utilizzazione delle risorse e dei livelli essenziali di assistenza. Vengono illustrati i programmi per il Controllo di Qualità (CQ) della citogenetica e della genetica molecolare e sono presentati i risultati dei progetti per il CQ della la tipizzazione tissutale (*Human Leucocyte Antigen*, HLA) e del CQ dei test genetici.

Parole chiave: Qualità, Assistenza sanitaria, Test genetici, Citogenetica, HLA

Istituto Superiore di Sanità

Quality in genetics for qualified genetics.

Edited by Elisa Calzolari and Domenica Taruscio

2003, iii, 40 p. Rapporti ISTISAN 03/38 (in Italian)

Scientific contributions about quality in medical genetics are presented. Quality is defined and measured in terms of health care, namely the efficiency of the service provided with the best use of resources in agreement with essential levels of assistance. Programmes for quality control (QC) in cytogenetics and molecular genetics are reviewed; project results of tissue typing (HLA) and QC genetic tests are presented.

Key words: Quality, Health care, Genetic tests, Cytogenetics, HLA

Si ringrazia Cristina Sideli per la collaborazione alla stesura del rapporto.

Per informazioni su questo documento scrivere a: taruscio@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it/pubblicazioni

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© 2003 Istituto Superiore di Sanità (Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma)

Il presente rapporto è stato redatto da:

Ubaldo Montaguti
Azienda Ospedaliera S. Anna, Universitaria di Ferrara, Ferrara

Elisa Calzolari, Cristina Sideli
Istituto di Genetica Medica, Università di Ferrara, Ferrara

Anna Baroncini, Antonella Capucci, Paola Battaglia
Laboratorio di Citogenetica, Unità Operativa di Genetica medica, Azienda Sanitaria di Imola

Sebastiano Calandra
Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena

Francesca Quintieri, Orsola Pugliese
Laboratorio di Immunologia e Centro Nazionale Trapianti

Alessandro Nanni Costa
Centro Nazionale Trapianti, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Domenica Taruscio, Vincenzo Falbo, Giovanna Floridia, Marco Salvatore, Federica Censi,
Nicodemo Bruzzese
Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Alfredo Cantafora
Laboratorio di Metabolismo e Biochimica Patologica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Cesarina Marongiu
Servizio Elaborazione Dati, Istituto Superiore di Sanità, Roma

INDICE

Introduzione.....	1
Qualità delle organizzazioni sanitarie: attualità e prospettive	
<i>Ubaldo Montaguti.....</i>	2
Qualità in medicina: modelli applicabili	
<i>Cristina Sideli</i>	7
Livelli essenziali di assistenza in genetica medica	
<i>Elisa Calzolari</i>	11
Controllo di qualità in citogenetica	
<i>Anna Baroncini, Antonella Capucci, Paola Battaglia</i>	14
Laboratori di genetica molecolare	
<i>Sebastiano Calandra</i>	19
Controllo di qualità nazionale e regionale della tipizzazione HLA in Italia: organizzazione e risultati relativi al 2002	
<i>Francesca Quintieri, Orsola Pugliese, Alessandro Nanni Costa</i>	24
Progetto nazionale per la standardizzazione e assicurazione di qualità dei test genetici	
<i>Domenica Taruscio, Vincenzo Falbo, Giovanna Floridia, Marco Salvatore, Federica Censi, Nicodemo Bruzzese, Alfredo Cantafora, Cesarina Marongiu</i>	30

INTRODUZIONE

Domenica Taruscio

Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Perseguire la qualità della sanità è un obiettivo sociale ed etico.

Con questa premessa la diagnosi di malattie genetiche, che ha caratteri unici per le componenti sociali ed etiche che vi sottendono, rappresenta un modello e una metafora dell'applicazione dei principi di qualità alla prestazione sanitaria.

Sono qui di seguito presentati una serie di contributi al processo di elaborazione del controllo di qualità delle analisi genetiche in Italia.

Vengono illustrati i concetti generali che definiscono, sulla base dell'efficienza e appropriatezza, l'intervento sanitario. L'assistenza sanitaria viene denotata come di qualità quando soddisfa adeguatamente, nel momento in cui viene erogata, i livelli di conoscenza raggiunti dal progresso scientifico nel rispetto di valori e norme, e delle attese di pazienti e famiglie. La gestione della qualità quindi, accanto all'analisi delle risorse strumentali e della loro idoneità ai fini diagnostici e assistenziali, richiede migliore dei modi per l'erogazione di servizi efficaci. Con l'adozione di programmi per il controllo di qualità si intende ottenere, inoltre, la migliore utilizzazione delle risorse.

Di seguito sono discussi i criteri per sviluppare un processo di miglioramento della qualità, attraverso le indicazioni ottenute dall'analisi dei bisogni, della idoneità e livello del servizio, determinando la qualità richiesta, quella percepita e la qualità effettivamente erogata.

La genetica medica viene poi considerata, come prestazione sanitaria, nel contesto di applicazione dei Livelli Essenziali di Assistenza (LEA), in adempimento del DPR del 29 novembre 2001, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* dell'8 febbraio 2002. In questo ambito la disciplina si trova a dover garantire prestazioni molteplici a segmenti molto specifici di bisogno sanitario, in un settore in cui l'aggiornamento e la validazione delle tecnologie è in rapida evoluzione.

I principi e le norme della assicurazione di qualità sono esaminati per le attività del laboratorio di genetica nei settori della citogenetica e della genetica molecolare; sono indicati il controllo interno ed esterno di qualità e la buona pratica di laboratorio, quali elementi fondanti del percorso qualitativo.

Vengono infine proposti gli schemi, coordinati presso l'Istituto Superiore di Sanità, del Programma per il Controllo di Qualità Sierologico della Tipizzazione HLA, che confronta i risultati dal 1998 al 2002, e del Progetto Nazionale per la Standardizzazione e l'Assicurazione di Qualità dei Test Genetici, che riporta i risultati del 2001.

QUALITÀ DELLE ORGANIZZAZIONI SANITARIE: ATTUALITÀ E PROSPETTIVE

Ubaldo Montaguti

Azienda Ospedaliera Universitaria di Ferrara, Ferrara

Un'Azienda Sanitaria può essere oggi considerata come un'organizzazione economica finalizzata alla tutela della salute di una comunità attraverso la produzione di prestazioni socio-sanitarie. La moderna impostazione manageriale suggerisce una gestione di queste organizzazioni attraverso l'identificazione dei processi coordinati ed interconnessi che determinano l'erogazione del servizio di assistenza, in accordo con quanto definito nelle norme della famiglia ISO. È evidente altresì che i processi di un'Azienda Sanitaria possono essere valutati ed interpretati a vari livelli di complessità, a partire da quello che considera l'intera organizzazione come un unico processo finalizzato alla tutela della salute fino a quello che prevede la scomposizione dei macroprocessi assistenziali in processi elementari, il cui insieme coordinato sia finalizzato alla soddisfazione delle esigenze ed aspettative dei *stakeholder*, cioè delle parti interessate al funzionamento dell'Azienda. La complessità di questo ultimo approccio nasce da due considerazioni: la prima è che nello specifico campo della sanità un soggetto può trovarsi in più categorie di *stakeholder* in conflitto di interesse tra di loro. Esempio classico è quello dell'utente di un servizio sanitario che punta ad ottenere contemporaneamente il massimo dell'assistenza ed il minimo dei costi per il contribuente. La seconda è determinata dal fatto che tra fornitori di beni e servizi è necessario annoverare anche professionisti medici esterni al sistema e tuttavia strettamente correlati ad esso. Inoltre i processi di un'Azienda Sanitaria non sono tutti altamente standardizzabili, ma spesso sono fortemente personalizzati, soprattutto per quanto riguarda le attività assistenziali vere e proprie. La gestione di questi ultimi richiede secondo le norme ISO 9000 "la preventiva qualifica della loro adeguatezza", la qualifica degli operatori addetti ed un "monitoraggio e controllo continuo dei parametri di processo".

È evidente quindi la necessità di applicare quanto sostenuto dai concetti di *Evidence Based Medicine* e di *Health Technology Assessment*: la scelta di processi e pratiche assistenziali di provata efficacia e che abbiano ricevuto a priori una qualifica di adeguatezza.

Nel complesso, quindi, l'assistenza sanitaria è di qualità adeguata se, in coerenza con il livello di conoscenza che il progresso scientifico assicura nel momento in cui viene erogata, è in grado di massimizzare i benefici in termini di salute rispetto ai rischi secondo modalità accettabili per chi la riceve e congruenti con i valori della Società in cui si esprime. La qualità della componente tecnica dell'assistenza consiste nell'applicazione della scienza e della tecnologia medica in modo da rendere ottimale il rapporto rischio-beneficio, mentre il livello di qualità della componente interpersonale dell'assistenza è proporzionale alla conformità raggiunta rispetto a valori e norme, aspetti etici delle prestazioni sanitarie ed attese dei pazienti.

D'altra parte non è sufficiente per la gestione della qualità in sanità identificare la valutazione tecnologica delle risorse strumentali con l'erogazione di servizi di buon livello assistenziale. Accanto all'analisi della tecnologia e della sua rispondenza alle necessità diagnostiche ed assistenziali, ci si deve chiedere se viene utilizzata nel migliore dei modi. La qualità si identifica con l'uso appropriato di tecnologie di comprovata efficacia.

Alcune definizioni degli indicatori della qualità nell'assistenza sanitaria possono essere utili come parametri di riferimento.

I principali attributi della qualità dell'assistenza sono:

- *Efficacia reale o relativa*
Capacità di conseguire i massimi risultati in termini di salute ottenibili correntemente erogando l'assistenza migliore.
- *Efficienza*
Capacità di ridurre il costo dell'assistenza senza diminuire i miglioramenti di salute ottenibili.
- *Appropriatezza*
Preponderanza dei benefici prodotti da atti sanitari, plausibili dal punto di vista scientifico, rispetto ai rischi ad essi connessi.
- *Accettabilità*
Conformità alle volontà, ai desideri e alle aspettative dei pazienti e dei loro famigliari.
- *Ottimalità*
Bilanciamento dei costi rispetto agli effetti della assistenza sulla salute al fine di raggiungere lo stato più vantaggioso.
- *Accessibilità*
Facilità con cui il paziente riesce ad ottenere l'assistenza, rispetto a barriere finanziarie, organizzative, culturali ed emozionali.
- *Continuità*
Assenza di interruzioni nel processo assistenziale e concomitante correlazione tra successive sequenze di interventi assistenziali.
- *Coordinamento*
Processo in base al quale gli elementi operativi e le relazioni organizzative dell'assistenza sanitaria, durante una qualsiasi sequenza assistenziale, trovano reciproca rispondenza in un disegno/programma complessivo.

Nel contesto della definizione di efficacia, è opportuno distinguere tra efficacia assoluta (probabilità di beneficio per gli individui derivante dall'uso di una tecnologia medica in condizioni ideali) ed efficacia relativa (probabilità di beneficio in condizioni medie) (Figura 1). L'efficacia reale è necessariamente inferiore a quella attesa in rapporto a molti possibili fattori incidenti, tra cui ad esempio l'esperienza e qualifica degli operatori, la risposta individuale del paziente alla cura, le condizioni socio-ambientali a contorno, ecc.

Un intervento sanitario oltre ad essere efficace deve anche essere appropriato, cioè essere caratterizzato da un alto livello di coerenza rispetto alle indicazioni fornite dalla comunità scientifica sulla base di conoscenze acquisite e validate, ed indispensabile al raggiungimento dell'obiettivo salute (Figura 2).

Un altro elemento non trascurabile sui cui significati è opportuno soffermarsi è l'efficienza, ovvero la capacità di ottimizzare l'uso delle risorse finanziarie, umane e tecnologiche impattando al minimo l'efficacia del percorso diagnostico assistenziale. È evidente come l'inflazione della spesa sanitaria abbia determinato la necessità di un contenimento dei costi, che può essere raggiunto:

- a) individuando le modalità per conseguire lo stesso prodotto consumando quantità inferiori di risorse;
- b) conseguendo un prodotto più consistente utilizzando le stesse risorse.

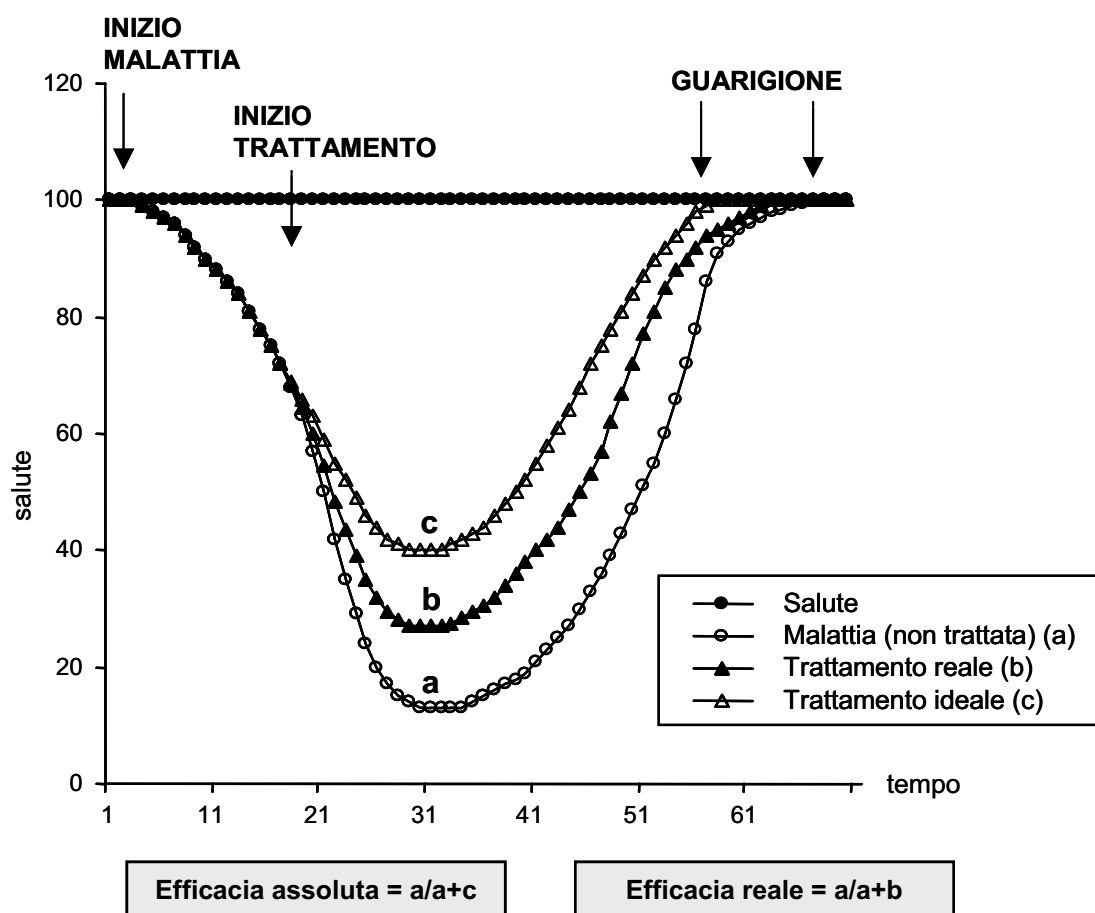


Figura 1. Efficacia assoluta e reale in corso di trattamento

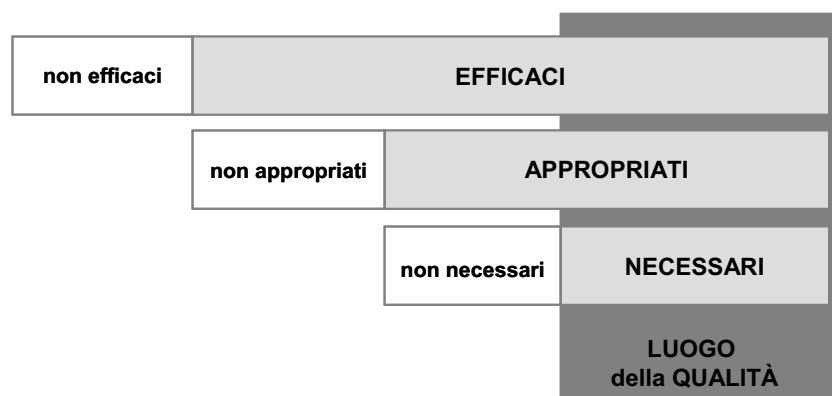


Figura 2. Rapporto tra efficacia, appropriatezza e necessità degli interventi sanitari

Il concetto di efficienza si associa alla precisa percezione del costo di ciò che si fa ed al continuo monitoraggio di ciò che costituisce fonte di spreco di risorse senza determinare un miglioramento dell'efficacia. D'altra parte il perseguimento dell'obiettivo dell'efficienza in sanità, che costituisce le fondamenta del lavoro del manager, può produrre effetti deleteri se trasferito tout court a medici ed operatori sanitari che operano a stretto contatto con il paziente. Ad esempio l'impostazione delle attività sulla base del budget può portare ad una riduzione dei costi senza considerazione per le pratiche cliniche oppure indurre ad un incremento di produttività per compensare i costi eccessivi a scapito della qualità intrinseca del servizio reso al cittadino. È quindi necessario individuare una via al conseguimento dell'efficienza che non obblighi i clinici a snaturare il loro mandato professionale e che tenga conto degli aspetti etici delle attività mediche: diventa quindi indispensabile percorrere la strada della giusta allocazione delle risorse dal punto di vista clinico.

Se da un lato aggiungere servizi ed attività finalizzate alla salute determina un incremento del livello di benessere complessivo, è altrettanto vero che nessuna attività medica è scevra di rischi potenziali; si evidenzia quindi un punto di equilibrio beneficio-rischio oltre il quale un ulteriore potenziamento dell'offerta di servizi e tecnologie dedicate non migliora il livello di salute ma aumenta proporzionalmente i rischi correlati ed i costi di erogazione (Figura 3). Individuare questo livello di equilibrio ottimale e mantenere l'offerta assistenziale entro questo limite consente di ottenere il contenimento "etico" dei costi a fronte del massimo livello qualitativo del servizio.

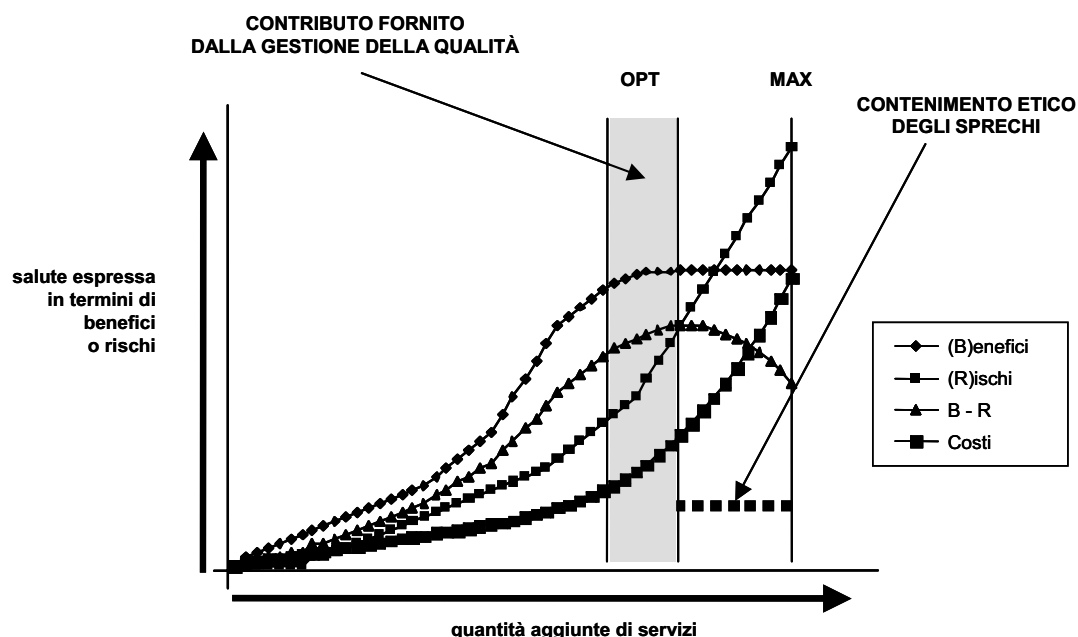


Figura 3. Utilizzazione corretta delle risorse e contributo manageriale

Naturalmente questi limiti devono essere considerati estremamente flessibili e modificabili nel tempo in base all'evoluzione tecnologica e scientifica. Il risultato in termini di salute è il migliore possibile a fronte del consumo più razionale e vantaggioso delle risorse disponibili.

Una volta raggiunto il risultato dell'efficienza clinica, l'ulteriore obiettivo è dimostrare che non è indispensabile focalizzare l'attenzione sui costi se si stanno ottenendo risultati sul piano del miglioramento della qualità degli interventi sanitari erogati. Una corretta gestione per la qualità consente infatti, mantenendo inalterato l'ottimale rapporto benefici-rischi, di contenere i costi e migliorare l'utilizzazione delle risorse (Figura 3).

QUALITÀ IN MEDICINA: MODELLI APPLICABILI

Cristina Sideli

Istituto di Genetica Medica, Università di Ferrara, Ferrara

È ormai opinione unanime che la “qualità” sia una caratteristica fondamentale di ogni settore industriale e dei servizi e la sua certificazione una imprescindibile necessità.

Fino ad oggi tuttavia anche nel mondo dell’industria, dove certi concetti sono nati ed hanno trovato la loro naturale sistematizzazione ed applicazione, il ragionare in termini di sistema qualità è stato spesso vissuto come una sorta di male inevitabile, imposto da un mercato sempre più sofisticato ed esigente, necessario ai fini della sicurezza e competitività del prodotto, nonché associato ad una dose considerevole di adempimenti burocratici. A ciò si è aggiunta la comune convinzione che tali concetti, acquisiti e validati nel mondo industriale, non siano applicabili ad altre realtà di servizi né tanto meno alle organizzazioni sanitarie.

Il mondo della medicina ha incontrato molte difficoltà nel fare propri certi concetti e la metodologia di lavoro ad essi sottesa, in primo luogo per una sostanziale confusione nelle definizioni, ed in secondo luogo per la non immediata visibilità del concetto principe: la trasversalità del modello organizzativo e la sua applicabilità ad ambiti anche molto differenti attraverso una rilettura ed un necessario adattamento alla particolare realtà.

La norma ISO 8402 definisce la qualità come “l’insieme delle prestazioni e caratteristiche di un prodotto o servizio che denotano la sua capacità a soddisfare bisogni dichiarati od impliciti”. La sinteticità della definizione non aiuta a superare una prima confusione che assume particolare rilevanza quando parliamo di prestazioni mediche: quella tra qualità ed eccellenza. Il criterio che necessariamente distingue due prodotti o due servizi è il livello delle prestazioni erogate. La comprensione di questi concetti porta quindi ad identificare tre momenti essenziali nel processo di sviluppo verso la qualità:

1. individuazione delle prestazioni qualificanti di un servizio, attraverso l’analisi dei bisogni dichiarati od impliciti del fruitore del servizio stesso nonché di tutte quelle figure che sono parti interessate nei processi di erogazione delle attività correlate;
2. la rispondenza del servizio alle prestazioni ed ai requisiti individuati, da cui discende la necessità di misurare le attività “critiche” o comunque di rilevanza non trascurabile;
3. il livello delle prestazioni erogate, soprattutto in termini di processo di miglioramento continuo.

Misurazione della qualità

Il concetto di misurazione dovrebbe diventare parte integrante della gestione delle attività: è infatti basilare stabilire le proprie misure per riuscire a gestire in maniera flessibile, efficace ed efficiente ciò che si sta facendo e gli obiettivi di miglioramento. È pertanto di primaria importanza individuare degli indicatori di *performance* in base ai quali monitorare l’andamento nel tempo del proprio operato, sia per avere in tempi brevi il controllo delle attività che per promuovere azioni di miglioramento rispetto al raggiungimento degli obiettivi fissati o addirittura per elevare il livello degli obiettivi stessi e quindi tendere all’eccellenza.

Il tema della misurazione è in genere il meno gradito, tuttavia costituisce l’elemento portante sia del sistema di gestione che della qualità dei servizi erogati, perché nulla può essere

correttamente giudicato se non è misurabile con criteri oggettivi. La misurazione rappresenta infatti l'indispensabile momento di collegamento tra il progetto, la sua realizzazione ed il suo miglioramento. È possibile verificare la validità e la corretta impostazione di un servizio attraverso la misurazione di singole attività (processi) o dell'integrazione tra attività differenti che concorrono ai fini dell'erogazione di un servizio finale. Disponendo di dati oggettivi si può agire a vari livelli per il raggiungimento degli obiettivi, evitando di procedere sulla base di sensazioni soggettive.

Tutto è misurabile: sebbene il prodotto di una industria manifatturiera sia innegabilmente più facile da misurare perché è possibile utilizzare riferimenti tangibili (forma, prestazioni, colore, ecc.), nel caso dei servizi si tratta di valutare delle attività umane ed è quindi ancora più importante mettersi in condizioni di "misurare" ancora prima che l'utente riceva delle prestazioni non idonee e diverse dalle attese. Inoltre il cliente-utente trae vantaggio o subisce conseguenze negative nel momento stesso dell'erogazione del servizio, con conseguente difficoltà di intervento sulla qualità mediante controlli o collaudi finali.

Un sistema qualità correttamente applicato consente di misurare:

- la qualità *richiesta*, ovvero ciò che l'utente si aspetta;
- la qualità *percepita*, ovvero ciò che l'utente avverte come ottenuto con l'erogazione del servizio;
- la qualità *erogata* secondo i criteri delle normative nazionali, delle linee guida di comportamento clinico, della struttura organizzativa prescelta, ecc.

Ai fini della misurazione è necessario disporre di un adeguato insieme di indicatori per poter garantire che strategie, attività e comportamenti di un'organizzazione siano funzionali al conseguimento degli obiettivi prefissati, a loro volta correlati alla politica della qualità. Ad esempio, se l'obiettivo fosse rappresentato dalla riduzione dei costi, gli indicatori dovrebbero essere focalizzati sull'uso delle risorse e sul controllo dei costi interni.

Gli indicatori rappresentano lo strumento attraverso il quale si valuta se e come le attività svolte o il risultato finale di esse raggiungono un determinato obiettivo; sono espressi da numeri semplici, da percentuali, statistiche, indici, ecc.

Per quanto riguarda la tipologia si distinguono indicatori statici (un risultato finale, quale ad esempio il numero di test eseguiti nel tempo) e dinamici (mirati alla valutazione *in process* di una attività, quale ad esempio la percentuale di riesecuzione di un test per risultato non interpretabile). L'indicatore dinamico, essendo centrato sulla valutazione di una attività all'interno del processo, dà la possibilità di intervenire in una fase specifica del lavoro migliorandone il risultato.

Il criterio di scelta degli indicatori non dovrà riguardare esclusivamente l'aspetto finanziario: in questo ambito esistono già figure professionali esperte e dedicate. In questa sede è opportuno invece privilegiare l'analisi di tutti quei fattori non tangibili che pure concorrono in maniera determinante alla soddisfacente erogazione di un servizio.

Occorre in primo luogo conoscere ed analizzare attentamente tutti i processi specifici che determinano l'attività di un servizio: tanto più esso avrà caratteristiche di specializzazione, tanto più sarà fondamentale ed unico questo passaggio, non potendosi in linea di massima applicare altre esperienze.

La rappresentazione dei processi integrati la cui interconnessione determina le attività di un servizio costituisce il primo passo verso la sua analisi e quindi verso la scelta mirata dell'oggetto da misurare (individuazione delle attività critiche o suscettibili di miglioramento) e delle modalità (scelta degli indicatori).

È controproducente avere a disposizione una quantità sovrabbondante di dati di difficile interpretazione, perché ciò determina una notevole complessità nell'analisi ed un risultato insoddisfacente e non idoneo per decidere strategie di miglioramento. E quindi opportuno

definire un giusto ventaglio di indicatori che non sia troppo ampio né comprenda misure non interpretabili.

Le principali misurazioni possono riguardare:

- costi;
- tempo;
- rispetto di requisiti (previsti dalla normativa vigente o aggiunti sulla base di valutazioni specifiche relative al servizio);
- efficacia;
- efficienza;
- flessibilità.

L'efficacia del processo di erogazione di un servizio misura la prestazione assicurata all'utenza in relazione ai suoi bisogni ed attese, sia dal punto di vista organizzativo (es. tempi di attesa) che in rapporto all'obiettivo salute inteso in senso ampio.

Il primo passo per determinare una misurazione dell'efficacia è analizzare e quantificare sia i bisogni dell'utente che le sue aspettative implicite. Se il primo parametro è di facile individuazione e può essere espresso numericamente (es. n. nuovi casi ogni anno, % di consulenze genetiche necessarie, ecc.) il secondo è più complesso, investendo la sfera della soggettività individuale. Le richieste più ricorrenti relative ad un servizio sono:

- tempestività dell'intervento (tempo trascorso tra necessità di intervento sanitario e lo svolgimento delle attività relative);
- “presa in carico” del caso da parte del servizio (percorsi facilitati nell'accesso all'attività diagnostica, gestione delle terapie e del follow-up, ecc.);
- affidabilità del servizio (qualificazione del personale, numerosità di casi trattati, adesione a programmi di ricerca, a linee guida nazionali ed internazionali, controllo di qualità sui test, ecc.);
- costo complessivo;
- facilità di accesso (semplificazione dell'iter burocratico, appropriata informazione sulle attività del servizio).

L'efficienza misura il controllo della gestione in termini di risorse umane, strumentali e finanziarie, per migliorare in definitiva la produttività, ottimizzare i costi ed il rapporto costo-beneficio. La valutazione di un'attività sulla base dell'efficienza tende all'eliminazione di tutte quelle azioni che non hanno valore per il cliente e per il conseguimento dell'efficacia del servizio stesso.

Misure caratteristiche dell'efficienza sono:

- tempo utilizzato per concludere un processo;
- risorse utilizzate per ciascun paziente;
- costi della non-qualità;
- errori (es. necessità di ripetere un test, incompleta rilevazione dei dati personali, ecc.).

Il tempo è un fattore essenziale nella misurazione di efficienza, in quanto spesso è eccessivamente lungo a causa di azioni che non hanno valore o che non danno contributi al servizio.

L'errore influenza in misura rilevante l'efficienza, pertanto è necessario che ciascun soggetto coinvolto nelle varie fasi di attività tenda ad “errore zero”. Occorre quindi minimizzare il rischio di errore ed applicare procedure per l'identificazione rapida e la rimozione immediata dello stesso, nonché la messa in atto di adeguate azioni di prevenzione.

Bibliografia

1. Cecchini WM. *Come applicare la ISO 9000 in sanità*. Milano: Area Qualità; 1997.

2. Andreini P (Ed.). *Certificare la qualità*. Milano: U. Hoepli Ed.; 1997.
3. Leonardi E. *Capire la qualità*. Il Sole 24 Ore 2000
4. Oppio C, Penzo S, Simionato A. *Vision 2000*. Dario Flaccovio Editore; 2001.
5. De Sperati U. *Qualità dei servizi turistico-alberghieri* Torino: Mortarino Editore; 1998.
6. Italia. DPR 14/1/1997. Approvazione dell'atto di indirizzo e coordinamento alle regioni e province autonome in materia di requisiti minimi strutturali, tecnologici ed organizzativi minimi per l'esercizio delle attività sanitarie da parte delle strutture pubbliche e private. *Gazzetta Ufficiale* n. 42 del 20/02/1997.
7. UNI EN ISO 9004. Sistemi di gestione per la qualità - Linee guida per il miglioramento delle prestazioni. Milano: Editrice Bibliografica; 2000.
8. Ministero della Sanità. *Quaderni della Carta dei Servizi Pubblici Sanitari: Norme ed indirizzi di riferimento*. Roma: Ministero della Sanità, Dipartimento della Programmazione; 2000.

LIVELLI ESSENZIALI DI ASSISTENZA IN GENETICA MEDICA

Elisa Calzolari

Istituto di Genetica Medica, Università di Ferrara, Ferrara

Con la terminologia Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) si intende definire tutte le prestazioni di assistenza sanitaria garantite dal Servizio Sanitario Nazionale (SSN) a titolo gratuito o con partecipazione di spesa dell'assistito. La formulazione dei LEA è frutto di un approfondito confronto tra tecnici regionali e ministeriali attuato nell'ambito della Conferenza Stato-Regioni e divenuto applicativo con la promulgazione del DPR del 29 novembre 2001 pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* dell'8 febbraio 2002.

Il primo principio ispiratore della legge è l'individuazione delle prestazioni che non è opportuno fornire alla popolazione in quanto non in grado di soddisfare i criteri efficacia, efficienza, appropriatezza ed economicità; lo scopo è il miglioramento dell'equità assistenziale, sebbene spetti poi alle Regioni l'esclusione di talune prestazioni contenute nella lista (es. quelle che non garantiscono un uso efficiente delle risorse). La decisione di non produrre una lista "positiva" contenente le prestazioni sicuramente garantite è in linea con la sostanziale carenza di dati sull'efficacia di molte tecnologie e pratiche cliniche e la difficoltà metodologica di individuare criteri omogenei di inclusione ed esclusione.

Il secondo principio ispiratore si basa sul concetto di essenzialità che non dovrebbe significare "il minimo possibile", ma dovrebbe essere associato alle qualità di sobrietà, semplicità e di comprovata efficacia. L'individuazione dei LEA dovrebbe necessariamente essere contestuale alla definizione delle risorse finanziarie da destinare alle varie aree di interesse e contemporaneamente rispettare i principi di dignità della persona, equità nell'accesso alle prestazioni, qualità ed appropriatezza delle cure, garantendo a ciascun cittadino il livello assistenziale più appropriato nell'ambito di una copertura sanitaria ampia e razionale sul piano delle risorse.

Il ruolo delle Regioni in materia di LEA è altrettanto definito e consiste nella specificazione delle condizioni di erogabilità delle prestazioni, nell'individuazione delle risorse e del loro efficace utilizzo tramite una programmazione della spesa in rapporto alle prestazioni da garantire, nell'identificazione ed applicazione di opportuni indicatori, nel coordinamento efficace dei soggetti istituzionali preposti all'erogazione dei servizi. È implicito in questo contesto il ruolo di controllo e misurazione che ciascuna Regione deve assumere; il punto 5 dell'accordo Stato Regioni evidenzia la necessità di "[...] definire criteri specifici di monitoraggio [...] per assicurare trasparenza, confrontabilità e verifica dell'assistenza erogata attraverso i LEA con un sistema di indicatori essenziali, pertinenti e caratterizzati da dinamicità ed aggiornamento continuo".

Altra caratteristica garantita è la flessibilità della lista di prestazioni rientranti nei LEA, sulla base di valutazioni dei "[...] fattori scientifici, tecnologici ed economici che motivano il mantenimento, l'inclusione o l'esclusione delle prestazioni dai LEA, tenuto conto di nuove tecniche e strumenti terapeutici, riabilitativi, [...] che presentino evidenze scientifiche di un significativo beneficio in termini di salute, a livello individuale e collettivo, a fronte delle risorse impiegate, così come l'esclusione di quelle ormai obsolete".

I livelli di assistenza previsti definiti nell'allegato 1 sono tre:

1. assistenza sanitaria collettiva in ambiente di vita e di lavoro;
2. assistenza distrettuale;
3. assistenza ospedaliera.

La genetica medica entra a far parte di tutte e tre i livelli sopraindicati con attività specifiche e diversificate. Per quanto attiene all'assistenza sanitaria rivolta alla persona, le attività di prevenzione coinvolgono i programmi di screening in genetica oncologica e la diagnosi precoce. Nell'ambito dell'assistenza distrettuale e specialistica ambulatoriale sono comprese le attività di diagnostica strumentale e di laboratorio per la tutela della maternità, sia in funzione preconcezionale in presenza di condizioni di rischio genetico che in gravidanza per fornire un'adeguata diagnosi prenatale. Tali attività rientrano nelle prestazioni ad esclusione di spesa previste dal DL 29 aprile 1998 n. 124, nel quale sono anche definite sia le indicazioni alla prescrizione che l'individuazione dei Servizi che devono erogare la prestazione stessa.

Altra area di esclusiva attività della genetica medica è costituita dalle malattie genetiche rare che si caratterizzano per la gravità della manifestazione clinica, per il grado di invalidità e l'onerosità del trattamento. È prevista in questi casi l'esenzione dalla spesa delle indagini diagnostiche al paziente ed ai familiari.

Per quanto riguarda l'assistenza ospedaliera, si assiste ad una graduale riorganizzazione delle strutture verso una sempre più elevata qualificazione tecnologica in grado di fornire risposte assistenziali diagnostiche e terapeutiche a problemi di salute gravi ed acuti; contemporaneamente è necessario un riassetto dell'organizzazione dei servizi territoriali finalizzato alla razionalizzazione delle risorse esistenti ed alla garanzia di un efficace collegamento funzionale ed integrazione con le strutture ospedaliere.

La peculiarità dei Servizi di Genetica Medica è determinata dall'elevato contenuto tecnico-scientifico ad alta specializzazione delle attività, insieme alla continua e rapida evoluzione delle conoscenze nella materia che devono essere coerentemente trasferite ed integrate nella pratica clinica nel rispetto dei principi ispiratori ed applicativi dei LEA. L'organizzazione dei Servizi è quindi complessa ed in continua evoluzione, rendendo necessaria la definizione dei ruoli e delle responsabilità e l'integrazione in rete dei servizi esistenti. Gli aspetti organizzativi più rilevanti per il raggiungimento degli obiettivi suddetti sono la razionale distribuzione territoriale delle risorse strutturali ed umane ed il loro coordinamento operativo, insieme ad un percorso di accreditamento ed aggiornamento professionale sulla base di criteri nazionali ed internazionali.

Ciò consentirà di stabilire priorità e criteri per una razionale programmazione, di individuare standard di qualità dei servizi, di garantire l'accessibilità uniforme ed equa evitando domanda ed offerta improprie ed infine di consentire un controllo della spesa.

L'elencazione nel tariffario regionale delle prestazioni di genetica medica incluse e la specificazione delle condizioni di erogabilità non risolvono comunque le problematiche relative alla corretta richiesta ed appropriata utilizzazione delle prestazioni. L'appropriatezza diventa inoltre, in un contesto di razionalizzazione dell'offerta di salute e di riassetto organizzativo dei servizi, una delle variabili fondamentali per l'allocazione delle risorse.

Le maggiori criticità per l'applicazione dei LEA nelle prestazioni di genetica medica con il principale obiettivo dell'appropriatezza sono:

- necessità di garantire prestazioni essenziali e tipologie assistenziali a segmenti molto specifici di bisogno sanitario, che richiedono una adeguata programmazione regionale nel rispetto dei criteri di tutela dell'urgenza e complessità delle patologie, del costo sociale e dell'accessibilità territoriale ai servizi;
- aggiornamento continuo dei nomenclatori tariffari di riferimento;
- aggiornamento e validazione delle tecnologie emergenti in rapida evoluzione;
- introduzione di nuovi screening.

Per aumentare il grado di appropriatezza e la qualificazione tecnologica delle prestazioni specialistiche con particolare riferimento alla genetica medica è possibile ipotizzare una serie di azioni mirate:

1. individuazione di percorsi diagnostici ed assistenziali; oltre a snellire le procedure di approccio del paziente al servizio, si può ottenere la riduzione dei costi unitari e maggiori garanzie di efficienza ed efficacia; la sostenibilità economica delle prestazioni di genetica medica è infatti funzione anche di un adeguato volume di attività;
2. riassetto del sistema di remunerazione delle prestazioni al fine di evitare induzione artificiosa di domanda, riduzione dell'appropriatezza e aumento del costo;
3. organizzazione della rete delle strutture di offerta;
4. formazione continua degli operatori con particolare riferimento ai principi ispiratori della *Evidence Based Medicine* (EBM) e all'appropriatezza delle prestazioni richieste ed erogate;
5. implementazione di un sistema informativo che consenta il monitoraggio continuo delle prestazioni erogate;
6. individuazione di adeguato set di indicatori di appropriatezza, efficienza ed efficacia correlati alle attività svolte, in modo da rendere misurabile la qualità in ambito organizzativo, gestionale e professionale.

Fondamentale è il ruolo assunto in questo contesto dal genetista medico, il quale oltre ad essere figura professionale di riferimento per i pazienti affetti da patologie genetiche e per le loro famiglie, partecipa ad una serie di attività correlate a tutti gli aspetti organizzativi ed assistenziali sopra individuati. In particolare è essenziale il suo coinvolgimento nella validazione delle nuove tecnologie, nella costruzione di percorsi diagnostici e nella individuazione di nuovi LEA.

CONTROLLO DI QUALITÀ IN CITOGENETICA

Anna Baroncini, Antonella Capucci, Paola Battaglia

Laboratorio di Citogenetica, Unità Operativa di Genetica medica, Azienda Sanitaria di Imola

Dalla sua introduzione in sanità alcuni decenni orsono, il controllo di qualità ha subito una continua evoluzione passando dal modello professionale puro degli anni '70-'80 all'approccio di tipo burocratico-professionale del decennio successivo, fino al cosiddetto modello di qualità totale che appare oggi l'unica via percorribile in un laboratorio d'analisi. Secondo lo schema della qualità totale il bene prodotto, in questo caso il risultato analitico, è verosimilmente privo di difetti solo quando è tenuto sotto controllo ogni elemento costitutivo del processo, sia esterno che interno al laboratorio stesso. Quindi un programma completo di assicurazione di qualità dovrebbe includere tutte le variabili in gioco: la selezione del test, la preparazione del paziente e del campione, la documentazione di accompagnamento, il trasporto, la manipolazione, l'analisi e la refertazione.

Va sottolineato, infine, che il controllo di qualità non deve più essere considerato un'attività parallela al lavoro quotidiano, bensì un modo di concepire tutte le attività professionali e gestionali da parte dei componenti, ad ogni livello, dell'organizzazione.

In Italia le disposizioni legislative in tema di accreditamento (DL.vo 502/1992, DL.vo 517/1993, DPR 14/1/1997) rimarcano che il Controllo di Qualità è essenziale per la valutazione e il miglioramento della qualità dei laboratori di analisi cliniche e prevedono che il laboratorio svolga programmi di Controllo Interno di Qualità e partecipi a programmi di Valutazione Esterna della Qualità promossi dalla Regione o, in assenza di questi, a programmi convalidati a livello nazionale o internazionale.

Quindi il controllo interno ed esterno di qualità sono entrambi elementi fondamentali del percorso qualitativo. La principale differenza tra l'uno e l'altro è la cornice temporale entro la quale possono essere intraprese le azioni correttive.

Il controllo interno di qualità nei laboratori d'analisi è "l'insieme delle procedure adottate dal personale del laboratorio per sorvegliare in modo continuo il lavoro svolto e i risultati ottenuti al fine di decidere se questi sono sufficientemente affidabili per essere emessi. Le procedure di controllo interno della qualità hanno così una ricaduta immediata sull'attività del laboratorio e dovrebbero controllarle in tempo reale, in antitesi alla semplice verifica dei risultati" (1). In altri termini, il controllo interno di qualità rappresenta l'insieme delle politiche, dei protocolli e delle misure gestionali adottate dal laboratorio per garantire giorno per giorno la qualità degli esami refertati.

Il controllo esterno di qualità è "un sistema di valutazione obiettiva degli esiti di laboratorio attraverso una agenzia esterna. Questa valutazione è necessariamente retrospettiva e il confronto tra l'attività di un dato laboratorio in un certo giorno con quella di altri laboratori può essere notificata solo a posteriori. Pertanto questo raffronto non avrà alcuna influenza sui referti emessi nel giorno della valutazione. L'obiettivo principale del controllo esterno di qualità non è quello di sorvegliare giorno per giorno l'andamento delle attività bensì di stabilire la comparabilità interlaboratorio" (1).

Controllo esterno di qualità

I programmi di controllo esterno di qualità sono requisiti essenziali del Percorso Qualità dei Laboratori di Citogenetica, come di tutti i Laboratori clinici.

Il primo schema di valutazione esterna della qualità nel settore della citogenetica è stato predisposto nel 1982 in Gran Bretagna ad opera dell'Associazione dei Citogenetisti clinici e riconosciuto nel 1983 come studio pilota ufficiale dell'Associazione nazionale inglese per i controlli esterni di qualità (2). L'UK-NEQAS si prefigge lo scopo di migliorare la qualità totale dei servizi offerti dai laboratori di citogenetica attraverso un insieme di procedimenti che includono la distribuzione di materiale di riferimento, l'esecuzione di *audit* esterni retrospettivi e la predisposizione di fasi esemplificative e educative.

Attualmente nei sistemi evoluti di accreditamento – Canada (3), Australia (4), USA (6), UK (2), Svizzera (7) – la partecipazione ai programmi convalidati di controllo esterno di qualità per ogni procedura diagnostica effettuata è ritenuta indispensabile per oggettivare la valutazione di competenza professionale nel ciclo della qualità.

Le procedure generalmente adottate prevedono che:

1. i campioni analizzati nell'ambito del controllo esterno di qualità siano integrati nella routine del Laboratorio ed esaminati con i metodi consueti dal personale che esegue abitualmente i test;
2. i Laboratori partecipanti non scambino informazioni sugli esami di controllo eseguiti prima della comunicazione ufficiale degli esiti;
3. sia documentato in modo inequivocabile che il Direttore o il Responsabile della qualità del Laboratorio abbia vagliato gli esiti del controllo esterno di qualità;
4. sia dimostrato che sono state sollecitamente intraprese azioni correttive a fronte di risultati "inaccettabili" del controllo di qualità. Le procedure correttive devono comprendere l'analisi delle cause che hanno determinato il risultato negativo e il piano d'azione adottato per prevenirne la ricorrenza;
5. i documenti riguardanti il controllo esterno di qualità devono essere conservati per il periodo indicato dalle proprie procedure di accreditamento;
6. per quelle analisi per cui non sono disponibili schemi convalidati di controllo esterno della qualità, la qualità va verificata periodicamente con appropriate procedure come la partecipazione a schemi non convalidati, la condivisione di campioni con altri Laboratori, la suddivisione dei campioni e l'esecuzione in doppio delle analisi all'interno del Laboratorio (la scelta delle procedure idonee è compito del Responsabile della qualità, con l'approvazione del Direttore della struttura, in accordo con le conoscenze scientifiche e con i principi della buona pratica di laboratorio);
7. è richiesta periodicamente la compilazione di questionari inerenti le pratiche in uso nel laboratorio per consentire ai partecipanti di confrontarle con quelle di altre strutture.

In Italia sono stati recentemente compiuti i primi passi verso il controllo esterno di qualità dei laboratori che eseguono test genetici grazie allo studio pilota "Progetto Nazionale per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità dei test genetici", promosso e coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità su finanziamento del Fondo Sanitario Nazionale (8). Gli obiettivi del progetto erano: assicurare un uso appropriato di test genetici sicuri ed efficaci in laboratori con elevati standard di qualità, elaborare raccomandazioni e linee guida per un programma permanente di assicurazione di qualità dei test genetici e facilitare e garantire la diffusione di un'informazione tecnica adeguata, la disponibilità di standard idonei e l'armonizzazione dei metodi utilizzati nei laboratori diffusi sul territorio.

In questo studio è stato richiesto ai laboratori di citogenetica l'invio di metafasi e di cariotipi tratti da esami della routine diagnostica rispettivamente nel campo della diagnosi costituzionale

prenatale, post-natale e della citogenetica oncologica. Le immagini sono state successivamente valutate in base a criteri qualitativi oggettivi da un gruppo di esperti coadiuvati dai responsabili del progetto.

Controllo interno di qualità

È ampiamente noto che le procedure di controllo interno di qualità sono la base del sistema qualitativo di ogni laboratorio di analisi cliniche.

L'assicurazione interna di qualità è compito precipuo del Responsabile della qualità sotto la supervisione del Direttore del Laboratorio e fatti partecipi tutti gli Operatori. Il percorso qualitativo deve infatti rispondere anche a una funzione divulgativa e formativa e il dibattito sulle tematiche della qualità deve essere allargato a tutte le figure professionali anche non dirigenziali, con particolare riguardo ai tecnici di laboratorio e al personale amministrativo. Il coinvolgimento dei diversi attori del sistema dei laboratori è uno dei principali fattori di forza per passare da una fase di definizione concettuale della qualità alla sua traduzione operativa nei processi di laboratorio.

In linea generale il controllo interno di qualità deve rispondere alle seguenti caratteristiche procedurali:

1. deve essere integrato nell'attività di routine e permettere il riconoscimento tempestivo degli errori casuali o sistematici che si presentano in laboratorio;
2. deve riguardare l'intero processo analitico;
3. i materiali usati per i controlli di qualità interni della fase analitica devono essere conformi ai sistemi in uso ed essere impiegati entro i limiti di scadenza indicati dal produttore;
4. i risultati dei controlli interni di qualità devono essere documentati e archiviati per il tempo previsto dalle norme di accreditamento. In particolare, sono da protocollare senza eccezioni tutti i risultati che richiedono un intervento correttivo.

Un metodo efficace per pianificare e documentare il controllo interno di qualità è la stesura e la periodica revisione del manuale della qualità. La modalità operativa suggerita al riguardo dal *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) (9) è di scomporre i processi di laboratorio nelle fasi costitutive fondamentali, analizzare i flussi del lavoro di ogni fase e sviluppare le procedure operative standard. I processi così analizzati sono sottoposti a validazione interna, che rappresenta una sorta di certificazione da parte di operatori ben identificati che sottoscrivono la corrispondenza della descrizione riportata nel manuale della qualità con la realtà del processo e la sua validità ai fini proposti. Ogni passaggio critico ai fini della qualità nei processi del laboratorio è delineato in una procedura operativa standard, che può essere redatta anche con il contributo di strutture esterne al laboratorio. Ogni operazione prevede un sistema di controllo continuo (verifica interna ed esterna della qualità, registri degli errori e delle non-conformità, altri indicatori di qualità) che solitamente ricorre per l'analisi a metodi statistici. La funzione del monitoraggio è quella di generare indici che dicano se e quando occorre intervenire per migliorare il processo.

Dalla letteratura specialistica dei laboratori di analisi cliniche risulta che oltre il 70% degli errori è effettuato al di fuori della fase analitica: ciò indica che mentre l'aspetto strettamente tecnico del processo di Laboratorio è in genere sotto adeguato controllo, le attività pre-analitiche e post-analitiche non sono sufficientemente presidiate. Per quanto questo dato non si riferisca direttamente ai Laboratori di Citogenetica tutti i programmi più evoluti di accreditamento prevedono anche per queste strutture che i controlli interni di qualità siano documentati per tutto l'arco del processo di analisi, dall'accesso alla refertazione.

Nell'ottica del controllo interno di qualità la fase pre-analitica può essere scomposta in diversi momenti: prelievo e trasporto del campione, accettazione del campione e della documentazione di accompagnamento, registrazione e rintracciabilità. Le principali tappe della fase analitica in citogenetica sono l'allestimento della coltura, la preparazione dei vetrini e l'analisi vera e propria. La fase post-analitica comprende la stesura dei referti, l'invio degli esiti e l'archiviazione dei dati.

Inoltre, trattandosi di test genetici, è importante che il controllo di qualità riguardi anche la raccolta del consenso informato e l'eventuale consulenza genetica successiva all'esito. Il *Clinical Laboratory Improvement Act* (CLIA) sottolinea che nei Laboratori che eseguono test genetici è sovente inadeguata la qualità delle informazioni fornite ai prescrittori e agli utenti e che, viceversa, le peculiarità degli esami genetici devono indurre a porre un'enfasi particolare su questi momenti salienti delle fasi pre-analitica e post-analitica.

Infine non è da dimenticare che i laboratori di citogenetica sono anche coinvolti nel definire le regole su quando e come effettuare le indagini cromosomiche, strategia indispensabile per migliorare la qualità delle cure riducendo i costi.

Quindi tra i principi generali del controllo interno di qualità dei laboratori che eseguono test genetici, applicabili anche al settore della citogenetica, si citano in particolare i seguenti:

1. devono essere diffuse e condivise le indicazioni agli esami;
2. devono essere definite e divulgate le procedure per il prelievo e il trasporto dei campioni e per la compilazione della documentazione di accompagnamento
3. i laboratori devono disporre di procedure sul comportamento da adottare nel caso di campioni inadeguati e di documentazione di accompagnamento incompleta o non corretta;
4. devono essere disponibili procedure per la registrazione dei casi che tengano conto:
 - 4.1. dell'obbligo alla riservatezza (ad esempio immissione dei dati in un data-base ad accesso limitato e controllato);
 - 4.2. della possibilità di errori nella registrazione dei dati, soprattutto quando è di tipo manuale;
 - 4.3. della necessità di conservare gli archivi in modo corretto (ad esempio tramite copie di back-up da riporre in ambienti separati).
5. devono essere tenute sotto controllo le procedure per la scelta delle metodologie più idonee in rapporto alle indicazioni dell'esame. Per la citogenetica deve quindi essere stabilito il livello di risoluzione in bande e il numero delle metafasi da analizzare per ogni tipologia di analisi tenendo conto dell'indicazione, la metodologia per stabilire il livello di bandeggiamento ottenuto e le azioni da adottare per migliorarlo qualora non sia raggiunto. È abitualmente riconosciuto che la variabilità nelle colture e nel bandeggiamento può talvolta causare risultati non ottimali.
6. devono essere monitorati i tempi di refertazione in relazione alla tipologia dell'esame, le modalità di comunicazione e di consegna del risultato e la corretta stesura dei referti.

A differenza di quanto avviene nella maggior parte degli altri laboratori clinici, nei laboratori di citogenetica la raccolta dei dati concernenti il controllo di qualità è attuata manualmente e non con metodi automatizzati attraverso l'impiego della strumentazione di laboratorio. Di conseguenza i procedimenti sono laboriosi e comportano un elevato dispendio di risorse. È pertanto auspicabile che per i laboratori di citogenetica siano sviluppati programmi gestionali che tengano conto anche dei parametri necessari per la documentazione dei controlli di qualità.

Bibliografia

1. WHO Regional Office for Europe, World Health Organization. *External quality assessment of health laboratories*. Copenhagen: WHO; 1981. (EURO Reports and Studies 36).
2. United Kingdom National External Quality Assessment Service: www.ukneqas.org.uk
3. Laboratory Standards and Guidelines. College's Advisory Committee on Laboratory Accreditation and Quality Control, College of Physicians & Surgeons of Alberta, Canada, 2001.
4. Guidelines for Cytogenetics Laboratories. National Pathology Accreditation Advisory Council, Commonwealth Department of Health and Aged Care, Canberra –Australia; 2001.
5. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA). Center for Medicare and Medicaid Services, 1988.
6. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA). Department of Health and Human Services, 2003
7. Concetto per l'assicurazione della qualità nei laboratori di analisi mediche. Commissione svizzera per l'assicurazione di qualità nel laboratorio medico, 2003
8. Taruscio D, Falbo V, Floridia G, Marongiu C, Pescucci C, Salvatore M. Progetto nazionale per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità dei test genetici. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2002.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standard. *Quality manual*. 2nd ed. Wayne (Pennsylvania); NCCLS; 2003.

LABORATORI DI GENETICA MOLECOLARE

Sebastiano Calandra

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena

L'impiego di metodi di biologia molecolare si è ormai diffuso in tutti i settori della diagnostica di laboratorio, dalle malattie infettive, ai tumori, alle malattie genetiche. Questo largo impiego è stato possibile grazie alla introduzione della reazione polimerasica a catena e all'allestimento di metodi relativamente semplici per l'identificazione di variazioni di sequenza già identificate negli acidi nucleici.

Per quanto attiene alle malattie genetiche "monogeniche" la diagnostica molecolare può essere eseguita in due contesti:

- a) come parte di procedure diagnostiche in un laboratorio di Analisi di Cliniche (es. quello di una azienda ospedaliera). In genere queste applicazioni sono limitate alla ricerca (screening rapido) di mutazioni note che sono causa "frequente" di malattia o di predisposizione a determinate patologie (es. fibrosi cistica, emocromatosi, fattore V di Leiden, genotipo apo E, ecc.). Queste procedure sono basate su amplificazione di una regione del gene in questione e la ricerca di mutazioni con qualche procedura rapida (ibridazione allele specifica, digestione con enzimi di restrizione);
- b) nell'ambito di un laboratorio di genetica molecolare "dedicato" allo studio di malattie genetiche, solitamente inserito in una struttura ospedaliera/ universitaria, o di una azienda ospedaliera di grandi dimensioni. In questo laboratorio, accanto alle procedure diagnostiche di screening, viene eseguito il sequenziamento di geni (sequenziamento diretto o preceduto da analisi preliminari per identificare le regioni geniche da sottoporre a sequenziamento). Il laboratorio di genetica molecolare può costituire una unità diagnostica a se stante, ovvero essere aggregato ad un laboratorio di citogenetica nell'ambito di un servizio di genetica medica o di un Dipartimento di Medicina di Laboratorio.

Esaminiamo in questo contesto alcuni problemi connessi alla organizzazione ed al controllo di qualità di un Laboratorio di Genetica Molecolare (LGM). Le considerazioni qui esposte derivano dall'esperienza personale maturata nell'ambito del Laboratorio per l'Analisi del Genoma (LABGEN) nel Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università di Modena e Reggio Emilia.

Analisi completa dei geni

L'LGM che si prefigge l'analisi completa di geni, può assumere due configurazioni.

1. laboratorio dedicato al solo sequenziamento di geni, con la produzione finale di una sequenza, indipendentemente dalla conoscenza specifica del gene in questione da parte degli operatori che eseguono la sequenza. Si tratta in questo caso di un LGM che offre un mero servizio di sequenziamento delegando all'utente l'analisi e la interpretazione del risultato ottenuto. Laboratori che svolgono questo servizio con risultati soddisfacenti sul piano tecnico, ma fuori da un contesto medico, sono già operanti in alcune regioni.
2. laboratorio che svolge servizio di sequenziamento su un numero "limitato" di geni nei confronti dei quali ha una specifica e riconosciuta competenza. In questo caso il risultato

dell'analisi della sequenza viene scrutinato non solo in termini di risultato tecnico, ma anche in termini di possibile interpretazione del risultato ottenuto. In genere l'attività di questo laboratorio si inserisce in un contesto di un servizio di genetica medica ovvero si realizza in stretta collaborazione con centri di diagnosi e cura di specifiche malattie genetiche. È ragionevole assumere che i risultati di sequenza ai fini diagnostici ed eventualmente terapeutici, siano meglio utilizzati là dove vi sia una interazione ed integrazione dell'LGM con i centri che svolgono servizio di consulenza genetica, diagnosi prenatale, follow-up di famiglie ed applicazione di protocolli terapeutici.

Organizzazione del laboratorio di genetica molecolare

È necessario che un LGM sia in possesso di alcuni requisiti minimi di tipo strutturale ed organizzativo:

1) *Locali ed infrastrutture*

È opinione generale che l'impiego di metodi di amplificazione di DNA, comporti una disponibilità di locali dedicati nei quali le varie fasi delle procedure di analisi (estrazione di DNA e suo stoccaggio, amplificazione, ed analisi di sequenza) avvengano in modo controllato e fisicamente separato. Linee guida e raccomandazioni in questo senso sono state elaborate dall'Istituto Superiore di Sanità e da società scientifiche e di consulenza.

2) *Strumentazione*

La disponibilità di strumentazione per l'analisi automatizzata del genoma è uno dei fattori limitanti la potenzialità dell'LGM. La disponibilità di un sequenziatore capillare di nuova generazione (es. ABPRISM 3100) permette analisi di sequenza in tempi rapidi, con grande efficienza e su un elevato numero di campioni, incomparabili con quanto era possibile ottenere con un sequenziatore basato su elettroforesi su gel del tipo ABIPRISM 377. La potenzialità del laboratorio può ampliarsi considerevolmente se vi è la disponibilità di sistemi di pipettamento automatico che permettano di eseguire reazioni di amplificazione e reazioni di sequenza di un elevato numero di campioni su micropiastre. Con questi sistemi di "robotizzazione", guidati dall'operatore per mezzo del computer, è possibile ridurre le fasi delle operazioni manuali ad un numero molto ridotto, con risparmio di tempo e maggiore affidabilità in termini di riproducibilità dei risultati. Per geni di grandi dimensioni e che presentano un numero considerevole di mutazioni puntiformi o polimorfismi, la disponibilità di sistemi automatizzati per lo screening delle regioni geniche da sottoporre a successivo sequenziamento offre ulteriori vantaggi in termini di rapidità nelle risposte e numero di campioni esaminati.

3) *Sistemi informatici di analisi e controllo*

La strumentazione in dotazione del laboratorio è guidata da sistemi di controllo basati su programmi più e meno sofisticati. Nel nostro laboratorio sono disponibili sistemi di analisi dei risultati di sequenziamento SEQScope e di analisi di frammenti Gene Scan, così come programmi di controllo di due stazioni robotizzate di pipettamento per l'allestimento delle reazioni di amplificazione e di sequenza. In aggiunta il laboratorio può essere dotato di un sistema di gestione completo di tutto il processo analitico a cui uno specifico campione biologico è sottoposto, a partire dalla sua consegna al laboratorio fino alla refertazione del risultato ottenuto. Questo tipo di programma può consentire anche la gestione di una banca dati e la gestione delle procedure amministrative.

4) *Personale*

Il corredo di strumentazione dell'LGM richiede una squadra di tecnici competenti e dedicati in possesso di conoscenze chimiche, biologiche ed informatiche. Tali competenze sono richieste per una corretta gestione di strumentazione dal costo elevato e per l'analisi dei risultati e la loro elaborazione. Accanto ad una buona preparazione di base (laurea in Scienze Biologiche, Biotecnologie, Chimica), il personale deve effettuare un addestramento specifico sulla strumentazione sia presso le ditte fornitrici che all'interno del laboratorio. Fondamentale è l'addestramento di tipo bio-informatico, che deve essere programmato in fasi progressive, nelle quali insegnamento teorico ed applicazione pratica si devono alternare. Questo personale inoltre deve acquisire capacità di interagire con gli utenti esterni per quanto attiene agli aspetti tecnologici inerenti all'interpretazione dei risultati. Se l'LGM opera in un contesto di servizio pubblico, Azienda Ospedaliera o Università, il personale potrà contribuire anche dell'addestramento di studenti in Biotecnologie o specializzandi in Genetica Medica, Patologia Clinica, Biochimica clinica.

Per quanto attiene alla direzione del laboratorio, è indispensabile che questa venga affidata ad un laureato con consolidata e riconosciuta competenza nel campo della genetica molecolare.

Poiché il futuro prossimo della genetica molecolare sarà quello dell'analisi delle malattie multifattoriali, il personale dell'LGM dovrà conoscere ed utilizzare sistemi bio-statistici e bioinformatici per l'elaborazione e l'interpretazione dei dati in sistemi biologici complessi.

Condizioni di contesto

Come illustrato in precedenza l'LGM assume un ruolo pienamente operativo nel settore della diagnostica delle malattie genetiche, quando inserito in un contesto nel quale le malattie genetiche rappresentano uno specifico interesse di studio, in quanto collegato con un servizio di genetica medica ovvero uno o più centri in cui si studiano specifiche malattie genetiche. La mia personale esperienza suggerisce che l'LGM può avere enormi benefici dalla cooperazione con centri di ricerca sul genoma umano e con corsi di laurea specifici, quali biotecnologie, scuole di specializzazione in Genetica Medica o Medicina di Laboratorio o dottorati di Ricerca in Medicina Molecolare, Biotecnologie e Patologia Molecolare. In questi casi il laboratorio può acquisire conoscenze elaborate nelle strutture parallele sopra indicate e partecipare all'innovazione tecnologica. Nello stesso tempo l'LGM può fornire supporto di servizio a detti centri per l'analisi di geni complessi e partecipare all'addestramento pratico di personale tecnico.

Infine è indispensabile che l'LGM sia inserito in una rete regionale e nazionale di laboratori di genetica molecolare, per la realizzazione ed implementazione di programmi di controllo di qualità, sviluppo tecnologico ed addestramento del personale, ed eventuali programmi multicentrici finalizzati allo studio dell'epidemiologia molecolare o di specifiche patologie. È utile anche che l'LGM compia ogni sforzo per inserirsi in un contesto internazionale sia per partecipare allo sviluppo scientifico e tecnologico che per essere incluso in progetti di ricerca di ampio respiro quali quelli finanziati dalla Comunità Europea nell'ambito del VI programma quadro, per quanto attiene alle malattie rare o alla genomica di malattie multifattoriali.

Interazione tra i laboratori di genetica molecolare a livello regionale

Le interazioni fra gli LGM operanti nella regione si possono sviluppare a diversi livelli al fine di creare una rete di interventi razionale e di elevata qualità. Tali interazioni riguardano:

1) *Tipologia delle malattie genetiche oggetto di studio*

È opportuno che in funzione delle competenze specifiche maturate in passato nel territorio in cui opera l'LGM e l'interesse di ricerca sviluppato nei confronti di determinate patologie, si definiscano per ogni LGM definiti settori di intervento. È opportuno che ogni LGM si concentri sullo studio di un numero contenuto di malattie genetiche, evitando per quanto possibile in ragione della prevalenza della patologia, sovrapposizioni o interferenze nell'ambito della stessa regione. Una razionale suddivisione di competenze consente un uso intelligente delle risorse disponibili e un ottimale impiego delle competenze medico-scientifiche disponibili nel territorio regionale.

2) *Condivisione di strategie di studio dei geni*

Interazione comporta anche scambio di idee, protocolli, strategie di studio, validazione di metodologie. Ciò è tanto più necessario nel settore della genetica molecolare in continua e rapida evoluzione.

3) *Cooperazione nell'addestramento del personale*

Come già illustrato, l'addestramento continuo del personale tecnico è una attività indispensabile se si intende mantenere un elevato standard di qualità nella produzione dei risultati e l'impiego ottimale delle risorse strumentali ed informatiche disponibili.

4) *Coordinamento nella gestione delle risorse*

I costi elevati della strumentazione e dei materiali di consumo richiedono un forte coordinamento a livello regionale. Questo coordinamento potrebbe consentire di predisporre piani di spesa a dimensione regionale nell'ambito di una visione integrata, che eviterebbe la dispersione legata ad interventi settoriali nelle singole aziende. Il coordinamento potrebbe anche consentire di attivare contratti di fornitura per strumenti o materiali di consumo più vantaggiosi di quelli ottenibili nell'ambito di singole aziende.

5) *Interventi di controllo di qualità fra laboratori*

Nel caso degli LGM il controllo di qualità fra laboratori ha una sua specificità che è legata al tipo di geni che sono oggetto di studio. È indispensabile che esista un controllo di qualità nell'ambito della Regione per geni che sono studiati in più laboratori (es. geni BRCA1/BRCA2, CFTR), secondo linee guida già consolidate per altri laboratori di biologia molecolare applicata. Tuttavia il controllo di qualità di maggiore rilievo è quello che coinvolge una rete di laboratori a livello nazionale ed internazionale, considerando che molte malattie genetiche sono rare e il loro studio richiede una specificità di competenze.

6) *Comitato tecnico-scientifico regionale*

L'interazione ed integrazione della rete di laboratori di genetica-molecolare trova la sua espressione operativa nella costituzione di un Comitato Tecnico Regionale di cui devono fare parte i responsabili dei vari LGM. Questo comitato deve divenire un organo di

consultazione permanente dell'Assessorato Regionale alla Sanità, così come delle singole aziende. A questo comitato spetterebbe anche il compito di predisporre progetti di ricerca nel settore delle malattie genetiche, i piani per l'educazione medica continua rivolti ad operatori sanitari, e corsi di aggiornamento per personale tecnico operante negli LGM.

Controllo di qualità intra-laboratorio

Presupposto del controllo di qualità nell'LGM è l'analisi dettagliata di tutte le fasi di lavoro per ogni specifico gene a partire dalla accettazione dei campioni fino all' valutazione del risultato. Ad esempio, per quanto attiene alle analisi di sequenza, nel nostro laboratorio semi-automatizzato questo processo è caratterizzato da 12 fasi, 10 delle quali sono state scomposte in diverse sotto-fasi. Questa frammentazione è utile per permettere una verifica analitica dell'intero procedimento nei casi in cui il risultato finale sia dubbio o non interpretabile. Infatti ogni fase permette una verifica del risultato parziale ottenuto (es. purezza del DNA estratto, risultato della amplificazione e purificazione del DNA amplificato e sua quantificazione). Periodicamente il DNA controllo positivo per specifiche mutazioni viene impiegato per verificare la correttezza e riproducibilità delle procedure adottate. I risultati del sequenziamento vengono vagliati dall'operatore addetto allo strumento, il quale attraverso l'esame visivo dei dati prodotti elimina i risultati che si presentano ambigui. Successivamente la sequenza viene analizzata per mezzo del sistema software SeqScape, che, se il risultato analitico è soddisfacente, permette l'assemblaggio dei due filamenti sequenziati e il loro confronto con il gene normale di riferimento. Se la sequenza ottenuta non è qualitativamente soddisfacente il sistema informatico non permette l'operazione di assemblaggio e confronto, indicando all'operatore l'opportunità di ripetere il sequenziamento. Se la successiva prova è ancora insoddisfacente, l'intera procedura (amplificazione, purificazione, reazione di sequenza, e sequenziamento) viene ripetuta.

Solo quando il risultato è tecnicamente accettabile, il laboratorio predispone la refertazione. L'operatore che procede alla analisi della sequenza per mezzo del sistema SeqScape e quindi alla successiva refertazione, possiede una conoscenza approfondita del gene sequenziato. Nel caso di mutazioni "nuove" non riportate in letteratura, l'operatore può predisporre metodi alternativi di ricerca della nuova mutazione per la sua definitiva conferma.

Nel nostro laboratorio i risultati delle varie fasi della procedura di analisi sono registrate ed archiviate per mezzo del sistema SQLIMS. In tale modo è possibile per l'operatore rivedere l'intera procedura per verificarne eventuali errori.

Tutta la strumentazione del laboratorio è soggetta a controllo periodico per garantire la massima operatività del sistema.

È indispensabile che vengano studiati sistemi di certificazione di qualità disegnati per l'LGM così come avviene per altri laboratori e strutture di servizio delle aziende ospedaliere

Controllo di qualità inter-laboratorio

È indispensabile che per ogni specifico gene oggetto di studio vi sia un controllo di qualità inter-laboratori. Questo controllo generalmente coinvolge laboratori attivi in altre regioni Italiane o laboratori di altri paesi Europei. È cruciale che per ogni gene o specifica malattia la rete degli LGM coinvolti si rapporti ad un centro di coordinamento nazionale o internazionale il cui compito sia di garantire la distribuzione dei campioni di DNA da analizzare, la verifica dei risultati, la stesura dei protocolli comuni e la consulenza tecnica per eventuali interventi correttivi.

CONTROLLO DI QUALITÀ NAZIONALE E REGIONALE DELLA TIPIZZAZIONE HLA IN ITALIA: ORGANIZZAZIONE E RISULTATI RELATIVI AL 2002

Francesca Quintieri (a), Orsola Pugliese (a), Alessandro Nanni Costa (b)

(a) *Laboratorio di Immunologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Centro Nazionale Trapianti, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Controllo di qualità sierologico: nascita e sviluppo del programma

L'Istituto Superiore di Sanità (ISS), anche grazie al supporto di ricercatori esterni, ha definito nel 1994 un programma di controllo di qualità nazionale della tipizzazione sierologica HLA (1). L'obiettivo principale era quello di valutare la qualità della tipizzazione dei laboratori italiani e favorire un confronto su tecniche e materiali al fine di uniformare la qualità della tipizzazione HLA sul territorio nazionale. La Legge 1 aprile 1999, n. 91 - Disposizioni in materia di prelievi e di trapianti di organi e di tessuti - ha costituito il Centro nazionale Trapianti e ha affidato ad esso lo svolgimento del controllo nazionale di qualità della tipizzazione (articolo 8, comma 6).

Il primo controllo di qualità nazionale della tipizzazione sierologica degli antigeni HLA della I e II classe è stato effettuato nel 1995. Lo schema è stato successivamente rielaborato per un adeguamento alle indicazioni della *European Federation for Immunogenetics* (EFI) per rendere i controlli dei vari paesi omogenei e validi per ottenere l'accreditamento (2), che, assieme all'equivalente accreditamento ASHI (*American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*), rappresenta un requisito indispensabile per l'inserimento di donatori tipizzati nei registri internazionali di donatori di midollo osseo.

I controlli di qualità sono stati effettuati con la collaborazione del Centro Nazionale Trasfusione Sangue della Croce Rossa Italiana, che ha selezionato i donatori e fornito i campioni di sangue. Attualmente i laboratori che partecipano al controllo di qualità sono 23.

L'elevato numero di laboratori operativi sul territorio nazionale (circa 115) ha reso necessario affiancare al controllo di qualità nazionale controlli di livello regionale, gestiti da centri regionali o interregionali, con la supervisione dell'ISS. Lo schema del controllo regionale segue le stesse regole di quello nazionale e i due tipi di controllo sono considerati equivalenti.

A partire dal 2000, parallelamente al controllo di qualità per la sierologia, è stato eseguito il controllo di qualità per la tipizzazione genomica, sia nazionale che regionale (3, 4). Il controllo di qualità nazionale viene eseguito sugli stessi 23 laboratori compresi nel controllo di qualità sierologico e vengono applicati gli stessi criteri per la definizione della tipizzazione di riferimento.

Poiché l'EFI richiede di valutare almeno 20 diversi campioni, i laboratori esaminano gli stessi campioni utilizzati per la sierologia integrati da altri selezionati ed inviati dall'ISS.

Anche il controllo di qualità genomico viene completato a livello regionale, tuttavia, poiché non tutti i laboratori coinvolti tipizzano il DNA, è stato necessario creare ulteriori accorpamenti, in modo da assicurare il numero minimo di laboratori

Caratteristiche dello schema nazionale

Lo schema del controllo di qualità nazionale della tipizzazione sierologica comprende 23 laboratori di riferimento regionale per i trapianti d'organo e i registri regionali per i trapianti di midollo osseo. Secondo le indicazioni contenute nel manuale dell'EFI per l'accreditamento, lo schema segue le seguenti regole:

Il controllo di qualità deve essere effettuato su un minimo di 8 cellule fresche.

Si applica il consensus 75% per la definizione della tipizzazione di riferimento.

I laboratori devono essere almeno 10 per l'applicazione del consensus 75%; in casi particolari, quando il numero è di poco inferiore a 10, si applica la maggioranza.

Nella valutazione finale, vengono considerati esclusivamente gli errori a carico degli antigeni *must* (che devono essere tipizzati) secondo la classificazione prevista dalle norme per l'accreditamento EFI (5). Tali errori non devono essere più di due per la classe I e uno per la classe II; con un numero superiore di errori, la qualità della tipizzazione viene considerata non soddisfacente.

La scelta dei donatori, la preparazione e l'invio dei campioni di sangue sono stati descritti precedentemente (1). È da sottolineare come una puntuale consegna dei campioni di sangue sia cruciale per il buon esito del controllo.

Le risposte vengono comunicate via fax o per posta elettronica, e l'originale inviato per posta entro una settimana dal ricevimento dei campioni di sangue. Dopo la prima elaborazione informatica e prima della elaborazione finale i dati vengono inviati ai laboratori per una conferma.

Caratteristiche dello schema regionale

Dal 1998 sono stati introdotti i controlli di qualità regionali per la sierologia, in modo da assicurare una valutazione della qualità della tipizzazione a tutti i laboratori esistenti nel nostro paese.

Sono stati organizzati sette programmi regionali, divenuti successivamente otto; la Tabella 1 riporta la distribuzione dei controlli regionali e dei rispettivi laboratori di riferimento.

Tabella 1. Controllo di qualità regionale: elenco dei programmi esistenti

Regione	Centro che svolge il programma
Piemonte e Valle d'Aosta	Azienda Ospedaliera S.Giovanni Battista di Torino
Lombardia	Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
Veneto, Friuli Venezia-Giulia e Trentino	Azienda Ospedaliera Istituti Ospitalieri di Verona
Emilia Romagna e Marche	Ospedale S.Orsola di Bologna
Toscana	Azienda Ospedaliera Careggi di Firenze
Lazio e Sardegna	CNTS, CRI di Roma
Campania, Puglia e Calabria	Policlinico II Università di Napoli
Sicilia	Centro di Riferimento Regionale per i Trapianti

L'ISS ha il compito di raccogliere i dati, di controllare che i criteri del controllo di qualità siano stati applicati e di procedere all'elaborazione ed alla distribuzione dei risultati.

Risultati del controllo di qualità sierologico

I risultati del controllo di qualità sierologico per l'anno 2002 sono riportati nella Tabella 2, sia per lo schema nazionale che per quelli regionali. Il 91% dei laboratori partecipanti al controllo nazionale non ha effettuato errori per le specificità *must*, contro l'84% dei laboratori che hanno partecipato agli schemi regionali. Una più alta qualità nel programma nazionale non sorprende per due motivi: 1) il controllo di qualità nazionale comprende i laboratori italiani con maggiore esperienza e competenza, in parte già accreditati a livello internazionale; 2) gli stessi laboratori effettuano il controllo nazionale da più anni e quindi hanno avuto modo, laddove ce ne fosse stato bisogno, di migliorare la qualità della tipizzazione.

Tabella 2. Numero e percentuale dei laboratori con errori nelle specificità *must*, anno 2002

	Laboratori partecipanti			
	Schema nazionale		Schemi regionali	
	<i>n.</i>	%	<i>n.</i>	%
Nessun errore	21	91	54	84
Massimo 2 errori in classe I e 1 errore in classe II	1	4,5	10	16
> 2 errori in classe I e/o 1 errore in classe II	0	0	0	0
< 8 cellule tipizzate	1	4,5	0	0
Totale	23	100	64	100

Il miglioramento costante della qualità della tipizzazione a livello nazionale viene mostrato nella Figura 1, dove vengono messi a confronto i risultati ottenuti negli anni 1998-2002, periodo in cui è stato seguito lo stesso programma.

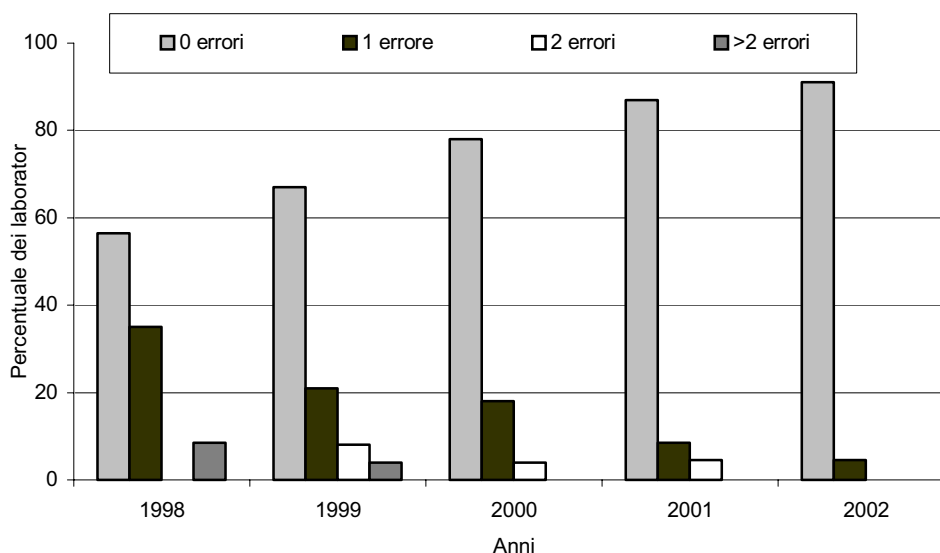


Figura 1. Confronto dei risultati dei controlli di qualità sierologici effettuati negli anni 1998-2002

Controllo di qualità della tipizzazione genomica

La Tabella 3 riporta il grado di risoluzione utilizzato nel controllo nazionale di qualità genomico 2002, mentre la Tabella 4 e la Tabella 5 riportano il numero e la percentuale dei laboratori che non hanno effettuato errori, sia per il controllo di qualità nazionale che per quello regionale. In ambedue i casi le tabelle riportano anche i risultati ottenuti nel 2000 e nel 2001, in modo da poter operare un confronto tra i primi tre anni di attività.

Tabella 3. Grado di risoluzione della tipizzazione genomica per i laboratori che hanno partecipato al controllo di qualità nazionale, anno 2002

Risoluzione	Alleli classe I	Alleli classe II
ND	2	0
Bassa	6	4
Alta	15	19

Tabella 4. Risultati del controllo di qualità genomico degli anni 2000-2002: schema nazionale

	Laboratori					
	2000		2001		2002	
	<i>n.</i>	%	<i>n.</i>	%	<i>n.</i>	%
Nessun errore	16	27	16	27	12	52
1-2 errori	7	32	7	32	6	26
3-4 errori	5	23	4	18	1	4,5
5-10 errori	2	9	4	18	2	8,5
> 10 errori	2	9	1	5	1	4,5
< 20 cellule	0	0	0	0	1	4,5
Totale	22	100	22	100	23	100

Tabella 5. Risultati del Controllo di qualità genomico degli anni 2000-2002: schemi regionali

	Laboratori					
	2000		2001		2002	
	<i>n.</i>	%	<i>n.</i>	%	<i>n.</i>	%
Nessun errore	15	29	18	36	18	38
1-2 errori	6	12	11	22	14	29
3-4 errori	5	10	4	8	1	2
5-10 errori	5	10	1	2	1	2
> 10 errori	1	2	0	0	0	0
< 20 cellule	19	37	13	26	14	29
Altro	0	0	3	6	0	0
Totale	51	100	50	100	48	100

I risultati presentati evidenziano che, mentre nel controllo di qualità nazionale non si riscontrano variazioni di rilievo tra gli anni 2000 e 2001, nel 2002 si passa dal 27% al 52% dei laboratori che non hanno commesso errori di tipizzazione. Risultato indubbiamente incoraggiante in considerazione del fatto che nel controllo di qualità della tipizzazione genomica

non ci sono distinzioni tra gli alleli e che il numero dei campioni da tipizzare è notevolmente più alto rispetto al controllo di qualità della tipizzazione sierologia. Nel controllo di qualità regionale i risultati relativi al 2001 sono notevolmente migliori di quelli ottenuti nel 2000; si passa, infatti, dal 29 al 36% per i laboratori che non hanno effettuato errori e dal 12 al 22% per i laboratori che hanno effettuato 1 o 2 errori. Nel 2002 tali valori vengono confermati con un lieve ulteriore miglioramento che determina, rispettivamente, il 38% di laboratori senza alcun errore e il 29% di laboratori con 1 o 2 errori.

Rimane alta la percentuale dei laboratori che non hanno tipizzato il numero minimo di campioni richiesto e che quindi non hanno superato il controllo di qualità. La maggior parte di questi laboratori rientra in un programma regionale che, per problemi organizzativi, non ha potuto inviare il numero minimo richiesto di cellule.

Conclusioni

I risultati del controllo di qualità 2002 sono stati soddisfacenti e confermano il graduale miglioramento della qualità della tipizzazione sierologia HLA. Significativi miglioramenti apportati nel corso degli anni hanno modificato gli schemi organizzativi e operato positivamente verso la risoluzione di problematiche preesistenti. Per il controllo di qualità della tipizzazione molecolare è possibile da quest'anno osservare una tendenza al miglioramento della qualità della tipizzazione HLA, che potrà essere confermata nei prossimi anni in quanto tale controllo è stato introdotto da pochi anni.

Maggiore rilievo a tale attività è stato dato dal Centro Nazionale Trapianti (CNT), costituito nel 2000 a seguito della legge sui trapianti 91/99, che ha, tra i molteplici compiti, anche quello di stabilire le linee-guida per i controlli di qualità delle tecniche immunogenetiche. Il CNT ha deciso di avvalersi dell'esperienza dell'ISS e ha iniziato una collaborazione sui controlli di qualità in atto, con l'intenzione di organizzare per l'anno 2003 anche il controllo di qualità sul cross-matching e sulla ricerca di anticorpi citotossici nel ricevente per i trapianti di organo. Una prima iniziativa per una maggiore diffusione dei risultati dei controlli di qualità e per una informazione degli organi maggiormente coinvolti, è stata intrapresa nel 2000, anno in cui è stata inviata una lettera informativa relativa al risultato conseguito dai laboratori di tipizzazione HLA, sia ai direttori sanitari che alle amministrazioni degli ospedali o strutture di appartenenza dei laboratori. Con il controllo di qualità 2001, anche i coordinatori regionali per i trapianti e gli assessorati alla Sanità delle singole regioni sono stati informati, in modo da fornire a questi ultimi lo strumento per promuovere interventi locali, con l'obiettivo di migliorare la qualità e razionalizzare il numero dei laboratori operanti sul territorio.

Nel marzo 2002 è stata creata una Commissione composta dal Direttore del CNT, dal Presidente e da un rappresentante della Associazione Italiana di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti (AIBT), dal Referente per i Controlli di Qualità in Immunogenetica del Centro Nazionale Trapianti, dal Responsabile del Registro Nazionale per i Trapianti di Midollo Osseo e da un esperto nel campo dell'Istocompatibilità.

La Commissione si è riunita alcune volte nel corso dell'anno con l'intento di esaminare non soltanto le questioni tecniche, legate anche alla attuazione delle nuove regole EFI, ma, soprattutto, di stabilire gli obiettivi del controllo di qualità e definire il rapporto con le Regioni nella gestione dei controlli di qualità regionali. A questo proposito, è stato stabilito che al Controllo di Qualità nazionale prenderanno parte i laboratori di Riferimento regionali per i trapianti di organo, i Registri Regionali per i trapianti di midollo osseo e, fino a quando il

numero sarà limitato, i laboratori che, pur non rientrando in queste due categorie, hanno ottenuto l'accreditamento EFI o ASHI.

Anche in ambito europeo l'organizzazione dei controlli di qualità ha assunto un particolare interesse. Una speciale commissione dell'EFI ha stilato di recente nuove linee-guida per migliorare e uniformare gli schemi dei controlli di qualità in vari paesi. Le nuove regole saranno operative a partire dal 2003 e contengono variazioni sia del numero minimo dei campioni da tipizzare, sia dei criteri di valutazione della qualità della tipizzazione (6).

In conclusione, il controllo di qualità della tipizzazione HLA è un servizio di assoluta necessità per chi lavora nel campo. La sua importanza è legata principalmente al monitoraggio della qualità dei laboratori di tipizzazione HLA in tutto il territorio e alla obbligatorietà di partecipazione per i laboratori che intendono richiedere l'accreditamento internazionale. Il ruolo che riveste il controllo di qualità assumerà presto maggiore rilievo per la possibilità di essere utilizzato come strumento necessario per indirizzare le scelte delle aziende verso interventi che assicurino ai cittadini un servizio di elevata qualità e consentano allo stesso tempo di valutare il costo beneficio prodotto da ciascuna struttura.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano M. Mariani, M. Testi e tutto il personale del Centro Nazionale Trasfusione Sangue della Croce Rossa Italiana, per la preziosa collaborazione.

Si ringraziano, inoltre, i responsabili dei laboratori che hanno partecipato al controllo di qualità e, in particolar modo, i responsabili dei Laboratori di Riferimento Regionali che hanno organizzato i controlli di qualità regionali.

Bibliografia

1. Quintieri F, Mariani M. I Controllo nazionale di qualità della tipizzazione sierologica HLA. *La Trasfusione del Sangue* 1995;41(3):395.
2. EFI Accreditation Program 1995: Standards for Histocompatibility Testing. EFI 1995 e successive modificazioni EFI 1996.
3. Quintieri F, Pugliese O, Testi M, Mariani M, Nanni Costa A. The Italian National and Regional Quality Control Scheme for 2000. *EFI Newsletter* 2001;33:19-20.
4. Quintieri F, Pugliese O, Testi M, Mariani M, Nanni Costa A. The Italian National and Regional Quality Control Scheme for 2001. *EFI Newsletter* 2002;36:21-23.
5. Quintieri F, Mariani M. A New national quality control scheme for 1998 in Italy. *EFI Newsletter* 1998;23:7.
6. From the EFI Committee for External Proficiency Testing. *EFI Newsletter* 2001;33:19.

PROGETTO NAZIONALE PER LA STANDARDIZZAZIONE E ASSICURAZIONE DI QUALITÀ DEI TEST GENETICI

Domenica Taruscio (a), Vincenzo Falbo (a), Giovanna Floridia (a), Marco Salvatore (a),
Federica Censi (a), Nicodemo Bruzzese (a), Alfredo Cantafora (b), Cesarina Marongiu (c)

(a) Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Laboratorio di Metabolismo e Biochimica Patologica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(c) Servizio Elaborazione Dati, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Negli ultimi anni il forte incremento delle conoscenze scientifiche sul genoma umano e lo sviluppo delle tecniche di genetica molecolare hanno portato all'identificazione di numerosi geni responsabili di malattia o di aumentata suscettibilità a malattia. Conseguentemente, si è assistito allo sviluppo di numerosi test genetici e alla loro disponibilità e diffusione nei laboratori sia come kit commerciali che come prodotti *home made*. In futuro, il numero di tali test sembra destinato ad aumentare sia per la disponibilità di nuove tecnologie sia per un'aumentata richiesta da parte dei servizi sanitari e dei cittadini.

Per test genetici si intendono le analisi di un gene, del suo prodotto o della sua funzione e l'analisi di ogni altro tipo del DNA, dell'RNA o dei cromosomi, eseguita allo scopo di individuare ed escludere mutazioni associate a patologie (1).

Attualmente, molti test genetici sono correntemente utilizzati nella pratica clinica, sia nella diagnosi prenatale sia post-natale. Tuttavia, occorrono cautela e verifiche sperimentali per assicurare che tali test siano eseguiti secondo elevati standard di qualità. Le numerose varianti metodologiche riportate in letteratura dovrebbero essere sottoposte ad attente verifiche interlaboratorio e rese idonee all'uso per scopi clinici attraverso l'elaborazione di protocolli standardizzati.

È indispensabile, pertanto, definire i criteri per la realizzazione di un sistema permanente di assicurazione di qualità.

Il problema dell'assicurazione di qualità dei test genetici è stato affrontato a livello europeo attraverso lo sviluppo, con il supporto della Commissione Europea, di progetti finalizzati ed azioni concertate tra cui la *European Molecular Genetics Quality Network* (<http://www.emqn.org>) e la *European Cystic Fibrosis Thematic Network* (<http://www.cfnetwork.be>). Durante l'attuazione di questi progetti, si è osservato un progressivo miglioramento della qualità (2-4). La progressiva armonizzazione di criteri e parametri per l'assicurazione di qualità nei test genetici viene affrontato anche da istituzioni internazionali quali la *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD). Infatti, nel 2000 l'OECD ha organizzato un Gruppo di lavoro su questo argomento, utilizzando come documento-base il testo "Genetic Testing: Policy Issues for the New Millennium" (5).

In Italia, sono numerosi i laboratori, pubblici e privati, che effettuano test genetici; la loro distribuzione sul territorio nazionale segue un gradiente decrescente nord-sud, ovvero con una maggiore concentrazione nelle regioni del Nord-Centro rispetto a quelle del Sud.

In questo contesto, a partire dal 2001 l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha ritenuto necessario realizzare un progetto pilota, di portata nazionale, incentrato sul controllo esterno di

qualità dei laboratori pubblici che effettuano test genetici diagnostici nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale.

Obiettivi del progetto

Il "Progetto Nazionale per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità dei test genetici" è un progetto biennale di ricerca finalizzata (art. 12, DL 502/1992) dell'ISS (Responsabile scientifico: D. Taruscio), operativo dal 2001. Le attività e gli obiettivi del Progetto si ispirano all'Obiettivo V del Piano Sanitario Nazionale 1998/2000 "Portare la sanità italiana in Europa": tale obiettivo sottolinea la necessità di migliorare la qualità dei servizi sanitari e di ridurre le differenze fra le diverse aree del Paese.

Attraverso la partecipazione volontaria dei laboratori, che hanno aderito alla sperimentazione, il Progetto intende porre le basi per un sistema di controllo esterno di qualità dei test genetici; componente prioritaria per assicurare la validità, l'accuratezza, la precisione, la riproducibilità di test genetici diagnostici in uso sul territorio nazionale.

Pertanto, gli scopi principali del Progetto sono:

- assicurare un uso di test genetici sicuri ed efficaci in laboratori con elevati standard di qualità;
- elaborare raccomandazioni e linee guida per un programma permanente di assicurazione di qualità dei test genetici;
- facilitare e garantire la diffusione di un'informazione tecnica adeguata, la disponibilità di standard idonei e l'armonizzazione dei metodi utilizzati nei laboratori diffusi sul territorio.

Organizzazione del progetto

Il Progetto è articolato in 8 Unità Operative (UO) e coinvolge 68 laboratori pubblici distribuiti su tutto il territorio nazionale. Due UO sono all'interno dell'ISS: l'UO 1 (Responsabile: D. Taruscio, ISS), con funzioni di coordinamento e attività sperimentale, e l'UO 2 (Responsabile: A. Cantafora, ISS), con attività sperimentale. Le restanti sei UO includono laboratori distribuiti nelle diverse regioni italiane. Vi sono quindi le seguenti UO: UO 1 (Responsabile: D. Taruscio, ISS) e UO 2 (Responsabile: A. Cantafora, ISS); UO 3 (Responsabile: F. Dagna Bricarelli, Ospedale Galliera, Genova), UO 4 (Responsabili: P.F. Pignatti, Università degli Studi, Verona; O. Zuffardi, Università degli Studi, Pavia), UO 5 (Responsabili: E. Calzolari, Università degli Studi, Ferrara; A. Baroncini, ASL, Imola), UO 6 (Responsabili: A. Cao, C. Rosatelli, Università degli Studi, Cagliari), UO 7 (Responsabili: F. Salvatore, G. Castaldo, L. Nitch, Università degli Studi, Napoli), UO 8 (Responsabile: G. Guanti, Università degli Studi, Bari) (Figura 1).

Il Progetto si avvale di uno *Steering Committee* (costituito da tutti i Responsabili di UO) e di esperti che collaborano alla valutazione dei risultati. Tutte le strategie intraprese nell'ambito del Progetto sono state discusse e decise per consenso dallo *Steering Committee*.

Per mantenere l'anonimato dei laboratori partecipanti al progetto è stato attribuito ad ognuno di essi un codice di identificazione; l'associazione codice identificativo-laboratorio è nota solo al Responsabile del Progetto.

Operativamente il Progetto è cominciato nel mese di febbraio 2001. È stato avviato il Controllo Esterno di Qualità (CEQ) per la citogenetica prenatale e post-natale e per la genetica molecolare; per quest'ultima sono stati selezionati i test per la Fibrosi Cistica (FC), la beta-Talassemia (b-Thal), la sindrome da X Fragile (X-Fra) e la Poliposi Adenomatosa Familiare del

Colon - gene APC (APC). Questi test sono stati scelti in quanto risultano essere i più frequentemente eseguiti nei laboratori italiani.

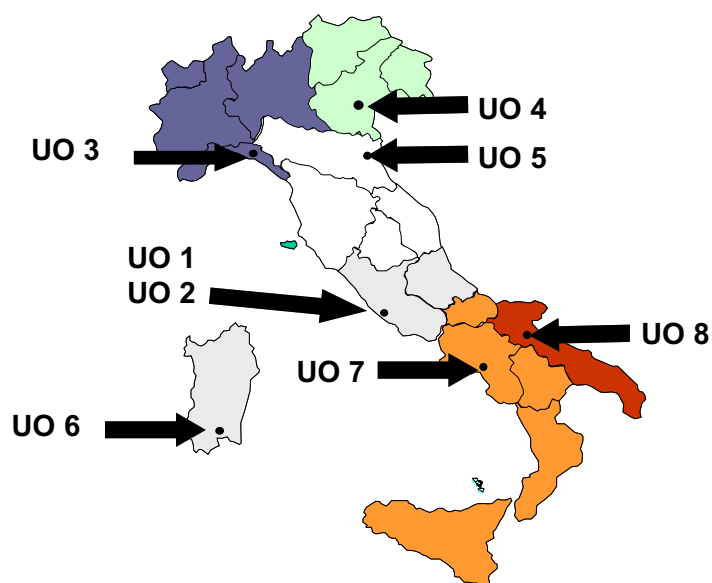


Figura 1. Distribuzione geografica delle UO del Progetto

Ciascun laboratorio partecipa ad uno o più CEQ, secondo la propria attività diagnostica.
Su un totale di 68 laboratori arruolati, 60 laboratori hanno partecipato attivamente inviando dati all'ISS (Figura 2).



Figura 2. Distribuzione geografica dei laboratori partecipanti al Progetto

Controllo esterno di qualità in genetica molecolare

Per ciascun test di genetica molecolare, l'UO 1 ha inviato a tutti i laboratori partecipanti sei aliquote di DNA, precedentemente controllato (*validated sample*) (2) in modo indipendente dalle UO 1 e UO 2. A tutti i partecipanti è stato chiesto di eseguire le analisi, utilizzando le tecniche e i protocolli normalmente adoperati nel proprio laboratorio. Infine, si richiedeva l'invio all'ISS dei dati grezzi e del referto, entro due mesi dal ricevimento dei campioni biologici.

Controllo esterno di qualità in citogenetica

Ciascun Laboratorio ha inviato all'ISS le immagini e i referti, resi anonimi, relativi a tre casi di diagnosi effettuata mediante analisi citogenetica (prenatale, post-natale, oncologica).

Le analisi richieste erano quelle relative al 15° caso del mese di gennaio 2001 per la diagnosi prenatale, al 20° caso del mese di gennaio 2001 per la diagnosi post-natale, al 5° caso del mese di gennaio 2001 per la diagnosi oncologica. In particolare, per ciascun caso sono state richieste cinque immagini (tre metafasi e due cariotipi, ricostruiti dalle stesse metafasi); un database per la raccolta dei dati e delle immagini pervenute è stato appositamente sviluppato.

Valutazione dei risultati

I dati sono stati valutati, nel completo anonimato, da gruppi di esperti costituiti dai componenti dello *Steering Committee* e da esperti del settore. I criteri di valutazione comprendono (1, 6-8):

- *Citogenetica*
 - a. aspetto delle metafasi
 - b. qualità dei cromosomi
 - c. colorazione
 - d. risoluzione del bandeggio
 - e. analisi del cariotipo
 - f. qualità delle immagini
 - g. completezza del referto
 - h. adeguatezza del referto.
 - i. uso di nomenclatura conforme alla letteratura
- *Genetica molecolare*
 - a. analisi dei dati grezzi
 - b. interpretazione dei risultati
 - c. completezza dei referti
 - d. uso di nomenclatura conforme alla letteratura (9).

Tecniche utilizzate

Citogenetica

Dall'analisi dei risultati dei test effettuati dai laboratori, sia in diagnosi prenatale che post-natale (costituzionale e oncologica), è emerso che le tecniche maggiormente utilizzate sono il bandeggio G ed il bandeggio Q (Tabelle 1a, 1b, 1c).

Tabella 1a. Tecniche utilizzate dai laboratori partecipanti (n. 31) al CEQ in citogenetica per la diagnosi prenatale

Tecnica utilizzata	Diagnosi prenatale	
	n.	%
bandeggio Q	16	51,61
bandeggio G	12	38,70
bandeggio R	1	3,23
bandeggio R e NOR	1	3,23
bandeggio Q e G	1	3,23

Tabella 1b. Tecniche utilizzate dai laboratori partecipanti (n. 33) al CEQ in citogenetica per la diagnosi post-natale costituzionale

Tecnica utilizzata	Diagnosi post-natale	
	n.	%
bandeggio Q	12	36,36
bandeggio G	15	45,45
bandeggio R	4	12,12
bandeggio R e G	1	3,03
bandeggio Q e G	1	3,03

Tabella 1c. Tecniche utilizzate dai laboratori partecipanti (n. 17) al CEQ in citogenetica per la diagnosi post-natale oncologica

Tecnica utilizzata	Diagnosi oncologica	
	n.	%
bandeggio Q	6	35,29
bandeggio G	7	41,17
bandeggio R	3	17,64
Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)	1	5,88

Fibrosi cistica

Dall'esame dei risultati, si rileva che le tecniche usate sono: *Oligonucleotide Ligation Assay* – *Polymerase Chain Reaction* (OLA-PCR) (9 laboratori), l'*OLA-Sequence-Coded-Separation-PCR* (OLA-SCS-PCR) (2 laboratori), *eteroduplex assay* (3 laboratori), *Reverse Dot Blot* (17 laboratori), *sequenziamento* (3 laboratori), *analisi con enzimi di restrizione* (6 laboratori), *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* (DGGE) (3 laboratori), *Amplification Refractory Mutation System* (ARMS), *PCR-mediated Site Directed Mutagenesis* (PSDM), *Allele-Specific Oligonucleotide Hybridization* (ASO Dot Blot), *Denaturing High-Performance Liquid Chromatography* (DHPLC) (1 laboratorio).

Tali tecniche sono state usate singolarmente o in combinazione tra loro (Tabella 2).

Tabella 2. Tecniche utilizzate nella diagnosi della fibrosi cistica

Tecnica	Laboratori	
	n.	%
OLA-PCR	9	32,14
OLA-SCS-PCR	2	7,14
Eteroduplex	3	10,7
Reverse Dot Blot	17	60,71
Sequenziamento	3	10,7
Analisi con enzimi di restrizione	6	21,42
Multiplex PCR	1	3,57
ARMS	1	3,57
PSDM	1	3,57
DGGE	3	10,7
ASO-Dot Blot	1	3,57
DHPLC	1	3,57

Beta-talassemia

Le tecniche usate per la diagnosi sono state: *Reverse Dot Blot* (RDB) (10 laboratori), sequenziamento (6 laboratori), ARMS (5 laboratori), DGGE (2 laboratori), DHPLC (1 laboratorio), *Amplicon Sequence Analysis* (ASA-PCR) (1 laboratorio).

Tali tecniche sono state usate singolarmente o in combinazione tra loro (Tabella 3).

Tabella 3. Tecniche utilizzate nella diagnosi della beta-talassemia

Tecnica	Laboratori	
	n.	%
RDB	10	90,9
ARMS	5	45,45
DGGE	2	18,2
Sequenziamento	6	54,5
DHPLC	1	9,1
ASA	1	9,1

Poliposi adenomatosa del colon

Le tecniche usate sono state: *Protein Truncation Test* (PTT) (5 laboratori), sequenziamento (4 laboratori), *Single-Strand Conformational Polymorphism* (SSCP) (5 laboratori).

Le tecniche sono state usate in combinazione tra loro (Tabella 4).

Tabella 4. Tecniche utilizzate nella diagnosi della poliposi adenomatosa del colon

Tecnica	Laboratori	
	n.	%
Sequenziamento	5	83,3
SSCP	5	83,3
PTT	4	66,7

X-Fragile

Le tecniche usate per la diagnosi sono state il Southern Blot, la PCR ed il test di metilazione eseguite singolarmente o in combinazione fra loro.

Risultati

I risultati del CEQ per tipo d'indagine sono riportati in Tabella 5.

Tabella 5. Laboratori (LAB) che hanno partecipato al Progetto per tipo d'indagine

Tipo indagine	LAB aderenti al Progetto	LAB che hanno inviato dati	LAB che non hanno inviato dati	LAB non partecipanti al Progetto per motivi tecnici
FC	31	28 (90,32 %)	3	0
X-Fra	22	21 (95,45 %)	1	0
b-Thal	12	11 (91,67 %)	1	0
APC	8	6 (75,0 %)	2	0
Citogenetica	45	36 (80,0 %)	5	4

I risultati dei tipi di analisi effettuate per patologie testate dai laboratori vengono riportate in Tabella 6.

Tabella 6. Risultati del primo anno di attività ottenuti dai laboratori di genetica molecolare partecipanti al progetto per patologie testate

Patologie testate	Analisi corretta e completa (%)	Analisi incompleta (%)	Analisi errata (%)
FC	24/28 (85,72) *	2/28 (7,14%)	2/28 (7,14%)
X-Fra	16/21 (76,2)	3/21 (14,3%)	2/21 (9,5%)
b-Thal	9/11 (81,8)	—	2/11 (18,2%)
APC	4/6 (66,7)	2/6 (33,3%)	—

(*) Il dato si riferisce alle analisi di cinque campioni; non è stato incluso il risultato dell'analisi del campione con genotipo DF508/G1244E

Fibrosi cistica

I laboratori che hanno completato il CEQ per la FC sono stati 28/31 (90,32%) (Tabella 5). Dalla Tabella 6 emerge che l'85,72% (24/28) dei laboratori ha effettuato un'analisi corretta e completa su cinque campioni mentre il 7,14% (2/28) dei laboratori ha effettuato una analisi incompleta e il 7,14% (2/28) una analisi errata.

Il sesto campione inviato, contenente la mutazione G1244E, rara nella popolazione italiana e con frequenza superiore all'1%(10), è stato correttamente analizzato dal 28,6% (8/28) dei laboratori.

Il 14,3% (4/28) dei laboratori non ha adottato una nomenclatura conforme alla letteratura.

Beta-talassemia

I laboratori che hanno inviato i dati relativi al CEQ per la beta-talassemia sono stati 11/12 (91,67%) (Tabella 5).

L'81,8% (9/11) dei laboratori ha effettuato un'analisi corretta e completa; il 18,2% (2/11) un'analisi errata (Tabella 6). Il 9,1% (1/11) dei laboratori non ha adottato una nomenclatura conforme alla letteratura.

X-Fragile

I laboratori che hanno inviato i referti relativi al CEQ per la sindrome da X-Fragile sono stati 21/22 (95,45%) (Tabella 5).

Il 76,2% (16/21) dei laboratori ha effettuato un'analisi corretta e completa; il 14,3% (3/21) dei laboratori ha effettuato un'analisi incompleta, mentre il 9,5% (2/21) dei laboratori ha effettuato un'analisi errata (Tabella 6).

Per questo tipo di indagine non vi è stata alcuna imprecisione circa l'uso della nomenclatura.

Poliposi adenomatosa del colon

I laboratori che hanno inviato i dati relativi al CEQ per il gene APC sono stati in totale 6/8 (75%) (Tabella 5).

Il 66,7% (4/6) dei laboratori ha effettuato una analisi corretta e completa; il 33,3% (2/6) un'analisi errata (Tabella 6).

Infine il 66,7% (4/6) dei laboratori non ha adottato una nomenclatura conforme alla letteratura.

Citogenetica

I laboratori che hanno inviato i dati per il CEQ per la citogenetica sono stati 36/45 (80%) (Tabella 5). In particolare, 31 hanno effettuato il CEQ per la diagnosi prenatale, 33 per la diagnosi post-natale e 17 per la citogenetica oncologica (Tabella 7).

Tabella 7. Risultati del primo anno di attività ottenuti dai laboratori di citogenetica partecipanti al Progetto

Indagine citogenetica	Laboratori n.	Giudizio da sufficiente a ottimo	Giudizio non sufficiente	Laboratori che hanno inviato immagini non valutate
Prenatale	31	26 (83,88%)	3 (9,67%)	2 (6,45%)
Post-natale	33	2 (87,88%)	2 (6,06%)	2 (6,06%)
Oncologica	17	16 (94,1%)	1 (5,89%)	–

Nella stessa Tabella 7 è riportato il numero e la percentuale relativa dei laboratori che hanno ottenuto:

- un giudizio complessivo compreso fra sufficiente e ottimo: 83,88% (26/31) diagnosi prenatale, 87,88% (29/33) diagnosi post-natale e 94,11% (16/17) citogenetica oncologica;
- una valutazione nel complesso non sufficiente: 9,67% (3/31) diagnosi prenatale, 6,06% (2/33) diagnosi post-natale e 5,89% (1/17) citogenetica oncologica.

Conclusioni

L'importanza dell'assicurazione di qualità nella diagnostica di laboratorio non può in alcun modo essere sottovalutata. L'area dei test genetici è forse quella in più rapida espansione fra i test biomedici, ed è inoltre ricca di problemi per il suo possibile impatto sulla vita delle persone, non solo in termini strettamente sanitari (11). Questi risultati possono avere, infatti, importanti ripercussioni sul soggetto e sulla sua famiglia riguardo a scelte di vita lavorative, familiari e riproduttive, nonché sulla percezione di sé. È necessario assumere come obiettivi primari nella sanità pubblica sia un elevato livello di accuratezza e precisione nell'esecuzione dei test sia la riduzione dei divari nella qualità dei servizi genetici fra le diverse aree del Paese. Inoltre, le migrazioni di popolazioni aumentano la diversità genetica in molte parti del mondo, Italia inclusa. Un'analisi degli aspetti psicologici e sociali dei test genetici non può quindi esimersi dal prendere in considerazione anche il tema delle migrazioni se si intende introdurre in modo sicuro le nuove tecnologie nella pratica medica e realizzare altresì equità nelle interazioni umane e nell'erogazione di servizi, inclusi quindi quelli di genetica (11). È, inoltre, importante collegare le attività nazionali in questo ambito con quelle di altri Paesi e degli organismi internazionali.

Di fronte alla domanda crescente di test genetici, la sfida attuale è quella di standardizzare protocolli, per renderli idonei ad identificare le mutazioni clinicamente rilevanti in maniera accurata e riproducibile (12). Il controllo di qualità è una componente del processo più generale dell'assicurazione di qualità che deve comprendere numerosi altri fattori (strutture, formazione del personale, refertazione ed archiviazione, consulenza genetica, ecc.). Tuttavia, è evidente come il controllo di qualità rappresenti, in tale processo, la fondamentale base di partenza su cui poter impostare gli ulteriori approcci all'assicurazione di qualità.

Il Progetto nazionale, per la standardizzazione e assicurazione di qualità dei test genetici, rappresenta la prima esperienza italiana di controllo esterno di qualità ed ha coinvolto con successo una grandissima parte dei laboratori pubblici italiani che eseguono questo tipo di test.

I principali problemi riscontrati in questo primo turno sono, nel caso della genetica molecolare, da ricondursi ad analisi incomplete (FC e X-Fra). In particolare, nella FC alcuni laboratori non hanno individuato la presenza di una mutazione rara nella popolazione italiana (G1244E), pur avendo una frequenza su base regionale superiore all'1%. Inoltre, non sono state diagnosticate molte azioni presenti nei kit commerciali e nel caso della sindrome dell'X-Fragile alcuni laboratori non hanno applicato tutte le metodologie necessarie per una corretta genotipizzazione.

In generale è stata riscontrata una buona accuratezza analitica, e si sono osservate solo alcune non conformità nella refertazione. Ad esempio, in molti casi i referti utilizzavano una nomenclatura non corrispondente alla letteratura corrente.

Nel caso della citogenetica i principali problemi sono legati alla qualità delle metafasi e dei cromosomi e alla risoluzione del bandeggio che a volte è risultata essere inferiore a quella dichiarata nei referti. Inoltre, ancora nel caso della citogenetica, la refertazione è risultata meno accurata dell'aspetto analitico: ad esempio, un problema riscontrato è la incompletezza di alcune voci dei referti inviati.

Attualmente è stato concluso un secondo turno di CEQ a cui si sono aggiunti altri sette laboratori. Sarà estremamente importante ed interessante confrontare eventuali cambiamenti e miglioramenti delle analisi rispetto al primo anno di attività. Nella fase finale del progetto, l'esame dei risultati sarà utilizzato per elaborare approcci e criteri per realizzare un sistema permanente di assicurazione della qualità per i test genetici. Inoltre, verranno elaborate linee guida e protocolli standardizzati per migliorare i test genetici oggetto di studio del Progetto stesso.

Bibliografia

1. Comitato per la Biosicurezza e le Biotecnologie, Linee Guida per Test Genetici. Presidenza del Consiglio dei Ministri - Dipartimento per l'Informazione e l'Editoria, Roma, 1999
2. Dequeker E, Cassiman JJ. Evaluation of CFTR gene mutation testing methods in 136 diagnostic laboratories: report of a large European external quality assessment. *European Journal Human Genetics*. 1998;6(2):165-75.
3. Dequeker E, Cassiman JJ. Genetic testing and quality control in diagnostic laboratories. *Nature Genetics* 2000;25(3):259-60.
4. Dequeker E, Cuppens H, Dodge J, *et al.* Recommendations for quality improvement in genetic testing for cystic fibrosis. European Concerted Action on Cystic Fibrosis. *European Journal Human Genetics* 2000;8 Suppl 2:S2-24.
5. Ronchi E, Harper D, Taylor A, Halsberger AG. Genetic testing: policy issues for the new millennium. *Community Genetics* 2000;3(4):161-3.
6. Associazione Italiana di Citogenetica Medica. Diagnostica citogenetica. Consensus 1995. *Analysis* 1995;8:12-42.
7. Mitelman F (Ed.). *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (1995). Recommendation of the International standing Committee on Human Cytogenetics nomenclature.* Basel: S. Karger AG; 1994.
8. Mitelman F (Ed.). *ISCN 1991. Guidelines for Cancer Cytogenetics, Supplement to An International System for Human Cytogenetic Nomenclature.* Basel: S. Karger AG; 1991.
9. den Dunnen JT, Antonarakis SF. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Human Genetics* 2001;109(1):121-4.
10. Castaldo G, Fuccio A, Cazeneuve C, *et al.* Detection of five rare cystic fibrosis mutations peculiar to Southern Italy: implications in screening for the disease and phenotype characterization for patients with homozygote mutations. *Clin Chem* 1999;45(7):957-62.
11. Jacopini G. I test genetici: aspetti psicosociali. In: *Conferenza Internazionale: Implicazioni Giuridiche e Psicosociali della Genetica Umana*. Roma: CNR, Istituto di psicologia, 2002. Disponibile all'indirizzo: www.privacy.it/garanteconv20020321.html.
12. Dallapiccola B. I test genetici: panoramica generale. In: *Conferenza Internazionale: Implicazioni Giuridiche e Psicosociali della Genetica Umana*. Roma: CNR, Istituto di psicologia, 2002. Disponibile all'indirizzo: www.privacy.it/garanteconv20020321.html.

Lista dei laboratori che hanno partecipato al Progetto

A Amoroso, M Morgutti (Servizio di Genetica e Cattedra di Genetica, Università degli Studi di Trieste, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste), E Arbustini, N Banchieri (Laboratorio Anatomia Patologica, Policlinico San Matteo, Pavia), S Barlati (Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Sezione di Biologia e Genetica, Brescia), A Baroncini (Servizio di Genetica Medica ASL, Imola-Bologna), M Bartolozzi, M Rossi (Sezione di Genetica Medica, Ospedale "La Misericordia", Grosseto), F Belpinati, C Bombieri, PF Pignatti (Dipartimento Materno Infantile e di Biologia e Genetica, Istituto di Biologia e Genetica, Università di Verona, Verona), F Bernardi (Servizio Aggregato di Patologia Genetica e Prenatale, Laboratorio Analisi Chimico Cliniche, Ospedale Policlinico GB Rossi, Verona), M Boiocchi, A Viel (Div.Oncologica Sperimentale I-IRCCS, Aviano), A Bonfante (Laboratorio di Citogenetica Medica, UO Anatomia e Istologia Patologica, Ospedale Civile, ULSS 3 Veneto, Bassano del Grappa), L Bortotto (Istituto Immunotrasfusionale, Genetica Medica, AO S.M. della Misericordia, Udine), P Bosco (Laboratorio di Citogenetica e Genetica Molecolare, Istituto Oasi Maria S.S., IRCCS, Troina-Enna), G Cabrini, A Bonizzato, A Tamanini (Centro Fibrosi Cistica, Laboratorio di Patologia

Molecolare AO Ospedale Civile Maggiore, Verona), E Calzolari, A Ferlini, A Ravani (Istituto di Genetica Medica, Università di Ferrara, Ferrara), A Cama (Sezione di Patologia Molecolare, Dipartimento di Oncologia e Neuroscienze, Chieti), A Cao, C Rosatelli (Istituto di Clinica Biologica dell'Età Evolutiva, Università di Cagliari, Cagliari), G Castaldo, F Salvatore (CEINGE e Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie, Università di Napoli "Federico II", Napoli), D Caufin, A Pivetta (Laboratorio di Citogenetica, Azienda Ospedaliera SM Angeli, Pordenone), F Chiodo (Servizio di Anatomia e Istologia Patologica e Citodiagnostica, Ospedale S. Anna, Azienda Ospedaliera OIRM, Torino), G Croci (Laboratorio di Genetica, Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia), D Coviello (Laboratorio di Genetica Medica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, AO Istituti Clinici di Perfezionamento ICP, Milano), F Dagna Bricarelli (Laboratorio di Genetica Umana, E.O Ospedali "Galliera", Genova), E D'Alcamo (Unità di Ricerca P. Cutino, A.O. "V. Cervello", Palermo), L. Dalprà (Laboratorio di Citogenetica, Ospedale S. Gerardo, Monza -Milano), L. Dalprà (Laboratorio di Citogenetica Prenatale, Dipartimento di Biologia e Genetica, Università di Milano, Milano), C Di Girgenti (Laboratorio di Biologia Molecolare Osp. Dei Bambini, Palermo), E Donti (Istituto di Medicina Interna Scienze Oncologiche, Università degli Studi di Perugia, Policlinico Montelucente, Perugia), M Ferrari (Laboratorio di Biologia Molecolare Clinica, Istituto San Raffaele, IRCCS, Milano), A Furbetta (Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Ostetriche e Pediatriche, Sezione di Pediatria Clinica e Sociale, Policlinico Montelucente, Perugia), GF Gelli (Laboratorio di Citogenetica, Azienda ASL RM/A, SMI, Roma), D Giardino (Laboratorio di Citogenetica, Istituto Auxologico Italiano, IRCCS, Milano), M Gion (Centro Regionale Indicatori Biochimici di Tumore, Ospedale Civile, Venezia), ML Giovannucci Uzielli, M Lapini (Centro di Genetica, Biologia e Medicina Molecolare, Dipartimento di Pediatria Università di Firenze, Firenze), G Guanti (Sezione di Genetica Medica, Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica, Università di Bari, Policlinico, Bari), P. Izzo (Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie, Università "Federico II" Napoli, Napoli), C Laganà (UO Genetica Medica, Ospedali Riuniti, Reggio Calabria) M Lucarelli (Dipartimento Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Centrale Policlinico Umberto I, Roma), C Mareni (DIMI Dipartimento di Medicina Interna, Genova), T Mattina (Dipartimento di Pediatria Servizio di Genetica Medica, Policlinico, Catania), V Migliori (Laboratorio di Citogenetica, Azienda Ospedaliera Salesi, Ancona), N Migone (UO Universitaria di Genetica Medica, Azienda Ospedaliera San G. Battista, Torino), G Neri (Servizio di Genetica Medica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma), L Nitsch, A Conti, A Borghese A (AF di Citogenetica e Diagnosi Prenatale AUP Federico II, Napoli), G Nocera (Unità Organizzativa Citogenetica V Clinica Ostetrica Ginecologica, Università M. Melloni Milano, Milano), G Novelli, F Sangiolo (Human Genetics, Università Tor Vergata Roma, Roma), M G Pirastru (Centro Trasfusionale, Centro di Genetica Medica e Prevenzione della Microcitemia, ASL1, Presidio Ospedaliero di Ozieri, Sassari), MA Police (Laboratorio di Genetica Medica, A.O. "San Giovanni Moscati", Avellino), R Ravazzolo (Laboratori di Diagnostica Genetica, Istituto G. Gaslini, IRCCS, Genova), G Restagno (Settore Genetica Molecolare, AO OIRM S. Anna, Torino), MM Rinaldi (UO Genetica Medica, AORU "A. Cardarelli", Napoli), T Santostasi (UO Pediatria II Lab. Fibrosi Cistica - Dip. di Biomed. Età Evolutiva, Policlinico, Bari), M Savi, T Neri (Dipartimento Clinica Medica, Nefrologica, e Scienze della Prevenzione Sezione di Genetica Medica, Parma), P Simi, F Baldinotti (UO Citogenetica e Genetica Molecolare, AO Pisana Ospedale S. Chiara, Pisa), Montaldi, M Stella (Servizio Aggregato di Genetica Umana, Ospedale S. Bortolo, Vicenza), N. Tannoia (UO Ematologica II, Azienda Policlinico, Bari), F Torricelli, E Pelo (UO Citogenetica e Genetica Piastra dei Servizi, A.O. Careggi -Firenze), L Varesco (Laboratorio di Oncologia Sperimentale, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, IRCCS, Genova), F Zacchello, A Murgia, L Picci, M Scarpa (Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Padova), A Zatterale (Servizio di Citogenetica Ospedale Elena d'Aosta ASL NA1, Napoli), L Zelante (Servizio di Genetica Medica IRCCS, Ospedale C.S.S., San Giovanni Rotondo - Foggia), O Zuffardi (Dipartimento di Patologia Umana e Ereditaria, Pavia).

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, dicembre 2003 (n. 4) 10° Suppl.