

Analisi della ricaduta in termini operativi ed economici della introduzione di un test di screening immunometrico per indagini tossicologiche su matrice cheratinica: confronto con la tecnica gascromatografica con rilevazione in spettrometria di massa

A. Colatutto^a, G.M. Guarrera^b, G. Zumerle^c, L. De Luca^d, P. Sala^a

^aSOC Analisi Cliniche di Elezione, ^bUnità di Valutazione delle Tecnologie Biomediche, ^cControllo di gestione, ^dSOC Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, Azienda Ospedaliero Universitaria "S. Maria della Misericordia", Udine

Riassunto

Premesse. la costante espansione del fenomeno dell'utilizzo di droghe d'abuso e le contestuali modifiche dell'ordinamento giuridico hanno imposto un carico di lavoro elevato per i laboratori in cui si effettua la diagnostica tossicologica forense. I metodi cosiddetti tradizionali, che sono a tutt'oggi il "gold standard", sono sempre stati considerati economicamente convenienti rispetto alle metodiche immunometriche più facilmente automatizzabili.

Gli Autori, dopo aver preso in considerazione la ricaduta dal punto di vista analitico, operativo ed economico dell'introduzione nella pratica routinaria di laboratorio di un metodo di screening immunometrico innovativo per l'analisi delle cosiddette matrici alternative per la diagnostica dell'abuso di sostanze psicotrope, ne hanno valutato la performance complessiva in termini di costi e ricaduta organizzativa.

Metodi. sono state analizzate 123 matrici cheratiniche (capello e pube) appartenenti a soggetti afferenti ai Servizi per le Tossicodipendenze (SerT), alle commissioni patenti e agli istituti penitenziari con metodo immunometrico di screening su strumentazione automatizzata; i campio-

ni risultati reattivi o border line al test di screening sono stati testati con metodo GC/MS/MS unitamente a 20 campioni risultati negativi al test di screening. Contestualmente sono stati presi in considerazione i costi delle singole fasi di lavoro e i tempi di refertazione.

Risultati. i dati in nostro possesso hanno evidenziato una sostanziale concordanza tra le due metodiche, ma soprattutto hanno consentito di rendere lo screening tossicologico rapido, efficace e sensibile. Inoltre l'analisi dettagliata dei costi e dei tempi depone a favore dell'utilizzo di ambedue le metodiche che operano in sinergia: l'una in virtù dell'elevata sensibilità e l'altra della ben nota specificità.

Conclusioni. alla luce dei dati in nostro possesso riteniamo che, per la diagnostica tossicologica forense, sia senz'altro proponibile un sistema integrato composto da una strumentazione operante in immunometria per gli screening associata ad un sistema cromatografico per gli esami di conferma. Tale abbinamento ha portato, in base alla nostra esperienza, ad ottimi risultati in termini di miglioramento del Tempo Totale di Refertazione o Turn Around Time (TAT), e di contenimento e ottimizzazione dei costi complessivi.

Summary

Comparison between Rapid Immunometric and Gas Chromatographic-Mass Spectrometry methods for the detection of illicit drugs in hair: evaluation of operative and economic parameters

Background. The increase of drug testing in conventional and alternative matrices and the related increased work-load for the toxicology laboratory has been the subject of intense research and debate. The aim of our study is to compare the performance of two analytical methods for the detection of illicit drugs in hair: Rapid Immunometric Method (DRI) versus the gold standard method, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). We evaluated the analytical, diagnostic and economic performance of these techniques.

Methods. A total of 123 hair samples were analysed with the two technologies. Hair samples were first analysed by the immunometric method, then by the gas chromatography/mass spectrometry technique (GC-MS).

Results. Both methods give good analytical performance and achieve similar results. Based on our results, the

immunometric method proved to be effective for the rapid and simultaneous detection in hair of several abused drugs and was cheaper to execute than the GC-MS method.

Conclusions. In recent years, with new legal requirements adopted by many Western governments, toxicology laboratories have moved to new methods to detect drugs in new matrices. The immunometric method for hair drug testing may be considered as a suitable alternative to conventional laboratory testing with gas chromatography-mass spectrometry.

The diagnostic efficiency of the immunometric method was compared to the standard procedure using diagnostic and economic parameters. The immunometric method had high diagnostic sensitivity while the GC/MS/MS method had high specificity. Therefore, we suggest the immunometric test for screening, followed by a gas chromatography/mass spectrometry test for positive or borderline samples.

Key-words: Drugs of Abuse, Hair Testing, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Immunometric Screening, Technology Assessment.

Introduzione

L'analisi tossicologica su matrice cheratinica, per la peculiarità di quest'ultima di trattenere per lungo tempo le sostanze d'abuso, si è imposta negli ultimi vent'anni come metodo elettivo per la diagnostica degli stati di tossicodipendenza. Il metodo che attualmente è da considerarsi il gold standard in ambito tossicologico per la diagnostica dell'utilizzo cronico delle droghe d'abuso su matrice cheratinica è costituito dalla gascromatografia associata alla Spettrometria di massa (GC/MS/MS)¹⁻⁵. Tale metodica è di competenza di personale tecnico e dirigente specificatamente formato e necessita di strumentazione sofisticata e costosa, oltre che di tempi di processazione estremamente lunghi.

Recentemente, a fronte di una crescente richiesta di tali indagini per tutta una varietà di situazioni a valenza medico legale, sono stati introdotti ed adattati alcuni kit immunometrici allo scopo di velocizzare la prassi operativa, senza per questo venir meno alle necessarie doti di specificità e sensibilità richieste per questa tipologia d'esame. Diverse forme di tali kit sono presenti sul mercato: DRI (Diagnostic Reagents inc.), KIMS (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution), EMIT (Enzyme-multiplied Immunoassay Technique), CEDIA (Cloned Enzyme Donor ImmunoAssay), FPIA (Fluorescent Polarized ImmunoAssay), LIA, (Luminescent ImmunoAssay), RIA (RadioImmunoAssay): si tratta dei medesimi che vengono utilizzati per analisi su urine, opportunamente adattati alle ricerche su matrice cheratinica⁶⁻⁹. Uno degli appunti che vengono frequentemente sollevati dagli addetti ai lavori è rappre-

sentato dal costo elevato degli esami effettuati in immunometria nei confronti di quelli processati con metodica cromatografica.

Scopo del nostro lavoro è stato quello di fare un'analisi completa dei costi complessivi di tutto l'iter diagnostico dell'analisi della matrice cheratinica con metodica immunometrica di screening automatizzata rispetto alla metodica GC/MS/MS, per confrontare i costi di produzione dei test, comprendendo anche aspetti non sempre facilmente quantificabili sia nel lavoro del personale tecnico sia nella fase prettamente interpretativa del personale dirigente.

Materiali e Metodi

Presso l'Istituto di Analisi Cliniche di Elezione dell'Azienda Ospedaliero Universitaria di Udine, nel periodo maggio – settembre 2008, sono stati analizzati 123 campioni di matrice cheratinica da soggetti afferenti ai vari SerT della regione Friuli Venezia Giulia, dalle Case Circondariali e da pazienti ambulatoriali.

I campioni sono stati trattati secondo il protocollo di lavoro in uso presso la sezione di Tossicologia del nostro istituto, in accordo con le linee guida internazionali della SoFT (Society of Forensic Toxicology) e la SoHT (Society for Hair Testing). Le matrici cheratiniche provenienti da capelli, peli ascellari, toracici e pubici sono state prelevate, previo consenso informato, e sottoposte a catena di custodia^{1,6-7}.

I campioni sono stati suddivisi in due aliquote, delle quali la seconda è stata conservata per gli eventuali successivi test di conferma. Allo scopo di valutare la me-

todica immunochimica di screening, i campioni sono stati analizzati con metodo immunochimico su strumentazione di chimica clinica automatizzata e i campioni risultati positivi o borderline sono stati processati per la conferma con il metodo GC/MS/MS.

L'analisi tossicologica consta essenzialmente di tre fasi: raccolta e conservazione del campione, decontaminazione ed estrazione degli analiti dalla matrice cheratinica ed infine analisi vera e propria. Queste fasi sono riassunte per entrambe le metodiche in Tabella I.

Test di screening

Si basa sull'utilizzo, previo lavaggio e sminuzzamento del campione, del reattivo VMA-T (COMEDICAL S.a.s. Matterello, Trento), che consente l'estrazione delle sostanze d'abuso dalla matrice cheratinica con una semplice digestione a 100 °C per 60', cui segue il dosaggio semiquantitativo con il metodo immunochimico in fase omogenea DRI (Diagnostic Reagents inc)^{8,9}.

Questa procedura consente l'estrazione delle droghe d'abuso e dei principali metaboliti in tempi decisamente brevi e non richiede le fasi di idrolisi e derivatizzazione previste dalla metodica GC-MS, complesse e differenti a seconda dell'analita ricercato⁹⁻¹².

Il metodo DRI da noi utilizzato prevede l'utilizzo dell'enzima glucosio-6-fosfato deidrogenasi coniugato con l'analita ed attivo su un substrato specifico in presenza di NAD. La reazione determina la formazione di NADH che assorbe ad una lunghezza d'onda di 340 nm. Se nella reazione interviene l'anticorpo anti-analita, esso si lega all'analita coniugato all'enzima impedendo la formazione di NADH con conseguente

variazione dell'assorbanza direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita.

Tale processo è completamente automatizzato su strumentazione di chimica clinica (ILAB 650, Instrumentation Laboratory, Lexington, USA).

I cut-off identificati per la metodica immunometrica sono suggeriti dalla Ditta produttrice del kit di estrazione: 0.5 ng/mg di matrice cheratinica per amfetamine, cocaina, oppiacei e metadone, 0.1 ng/mg per cannabinoidi.

Borderline sono stati da noi considerati prudenzialmente in questa fase preliminare di sperimentazione tutti i campioni che presentavano valori compresi fra 0.20 e 0.50 ng/mg per oppiacei e cocaina e fra 0.05 e 0.1 ng/mg per i cannabinoidi.

Metodo in Gascromatografia/ Spettrometria di Massa (GC/MS/MS)

Prevede una serie di fasi preliminari ovvero lavaggio e frammentazione della matrice cheratinica, digestione acida per la determinazione di metadone e EDDP, cocaina e benzoilecgonina, codeina, morfina, 6-MAM, amfetamina e derivati, mentre per la determinazione quantitativa dei cannabinoidi si procede alla digestione alcalina¹¹⁻¹⁴.

Il campione per l'analisi deve in ogni caso essere fatto reagire con uno specifico composto (derivatizzante) in grado di renderlo volatile e quindi idoneo alla separazione GC/MS/MS.

La strumentazione dedicata alla determinazione quantitativa di queste sostanze è un GC/MS/MS 4000 Varian (Varian B.V., Middelburg, The Netherlands).

Tabella I. Confronto delle fasi preparativa, analitica e dei tempi totali di processazione della metodica GC-MS vs metodica immunometrica automatizzata.

	ANALISI GC-MS			ANALISI IMMUNOMETRICA
	Ricerca oppiacei e cocaina	Ricerca amfetamine	Ricerca Cannabinoidi	Tutti gli analiti
Ricezione campioni, identificazione, numerazione, misurazione	15'	15'	15'	15'
Lavaggio, frantumazione	40'	40'	40'	20'
Idrolisi	750'	750'	60'	-
Estrazione	90'	90'	30'	60'
Derivatizzazione	30'	40'	45'	-
Analisi	20'	20'	20'	30'
TAT	945'	955'	210'	125'
Interpretazione (Dirigente)	5'	5'	5'	-

TAT = Turn Around Time

I cut-off cui si attiene il laboratorio di tossicologia per le determinazioni delle sostanze d'abuso con test di conferma (GC/MS/MS) sono quelli utilizzati per gli esami per l'idoneità lavorativa per mansioni a rischio, definiti nel recente documento della Presidenza del Consiglio dei Ministri "Procedure per gli accertamenti sanitari di assenza di tossicodipendenza o di assunzione di sostanze stupefacenti o psicotrope in lavoratori addetti a mansioni che comportano particolari rischi per la sicurezza, l'incolumità e la salute di terzi applicative del provvedimento n.99/cu 30 ottobre 2007 (G.U. n.266 del 15 novembre 2007)". Rep. Atti n.178 del 18 settembre 2008, e pari a 0.2 ng/mg di matrice cheratinica per oppiacei e cocaina e derivati e a 0.1 ng/mg di matrice cheratinica per cannabinoidi.

Analisi comparativa dei costi: Gascromatografia/Spettrometria di massa versus Immunometria

Alla luce delle informazioni acquisite rispetto all'analisi dei processi nonché ai costi delle apparecchiature e dei reattivi e consumabili è stata sviluppata una dettagliata analisi dei costi che ha preso in considerazione: personale (TSLBM, medico, personale di supporto), attrezzature (gascromatografo GC/MS/ME 4000 Varian, colonne e filtri per cromatografo), materiali di consumo.

L'analisi si è soffermata esclusivamente sui costi che variano in base alla metodologia analitica scelta: gascromatografica o immunometrica. I costi presi in considerazione nell'analisi sono relativi al personale che si occupa dell'esecuzione delle determinazioni, alle attrezzature e ai consumabili necessari per gli esami stessi. I costi legati al personale di supporto e i costi indiretti (come i costi generali di struttura) sono stati stimati analoghi per entrambe le metodologie e pertanto non sono stati inseriti nell'analisi comparativa.

I costi del personale sono stati calcolati sulla base dei costi standard per figura professionale dell'Azienda Ospedaliero - Universitaria S.M. della Misericordia di Udine relativi al 2008 e limitatamente al personale direttamente impegnato nell'esecuzione delle determinazioni; tali costi sono quindi stati ribaltati sui tempi effettivi rilevati nelle singole fasi del processo analitico e sulla base di un monte ore lavorato pari a 1672 ore/anno per i medici (38 ore settimanali per 44 settimane lavorate) e 1584 ore/anno per il personale tecnico (36 ore settimanali per 44 settimane lavorate).

Nel calcolo del costo annuo delle attrezzature è stata ipotizzata una vita utile dei beni pari a 8 anni, ossia il periodo di ammortamento delle attrezzature previsto dal regolamento contabile aziendale; i costi sono quindi stati ripartiti sul numero di esami/anno osservato negli ultimi 3 anni, pari a 3000 singole determinazioni.

Il costo di acquisto del gascromatografo (anno 2005) è risultato di 87.000 Euro IVA compresa; il costo dell'assistenza è risultato pari a 7.800 Euro anno IVA compresa, a partire dal terzo anno di proprietà (2008); il gascromatografo utilizza colonne e filtri il cui valore di

acquisto è risultato pari a 1200 + 900 Euro anno IVA inclusa. Nel caso della metodica in GC-MS sono stati valutati inoltre i seguenti costi: colonnine per estrazione in fase solida, cuvette monouso, costi di calibrazioni e di reattivi per estrazione e derivatizzazione.

Nel caso della determinazione immunometrica, al costo unitario di produzione della singola determinazione (costo unitario per determinazione, comprensivo di calibrazione offerto dalla Ditta risultata in seguito aggiudicataria) è stato aggiunto il costo del test di conferma con metodica GC-MS, considerando che tale metodica deve comunque essere assicurata per la validazione dei test dubbiosi o positivi. Nella nostra valutazione è stato considerato congruo un numero di test di conferma pari al 10% dei test immunometrici eseguiti.

I dati sono stati tabulati considerando la numerosità delle determinazioni eseguibili per seduta analitica, per derivare da questa il costo unitario di produzione del singolo test.

La possibilità di variare alcuni parametri significativi consente di rideterminare il costo unitario di produzione dei test in particolare al variare della percentuale di test di conferma, dell'impegno orario del personale, e infine della numerosità annua complessiva dei test eseguibili dal laboratorio.

Risultati

Valutazione Analitica

Dalle analisi effettuate con il test di screening abbiamo rilevato prevalenze in linea con la situazione epidemiologica dell'utilizzo delle droghe d'abuso nella nostra regione. Infatti, il 16% dei campioni è risultato positivo per il rilievo di una o più sostanze d'abuso. Il metodo immunometrico su strumento ILAB 650, con metodica DRI, ha rilevato, infatti, le seguenti positività: 15 (57.6% dei positivi) per oppiacei e derivati, 10 (38.4%) per cocaina e benzoilecgonina e una (4.0%) per cannabinoidi. Valori border line secondo i parametri sopra esplicitati sono stati riscontrati in 54 determinazioni: 26 (48.3%) per oppiacei, 27 (50%) per cocaina e benzoilecgonina e una (1.8%) per cannabinoidi.

I campioni chiaramente positivi o border-line al test di screening sono stati processati in gas-massa utilizzando la seconda aliquota del campione nativo; i risultati delle due tecniche a confronto sono riportati in Tabella II.

Dai dati riportati si può osservare come tutti i riscontri ritenuti prudenzialmente border-line si siano in realtà dimostrati negativi con il test di conferma, utilizzando per quest'ultimo i cut-off definiti dal *provvedimento n.99/cu 30 ottobre 2007*, sopra citato.

Sulla base di questa esperienza, abbiamo ritenuto perciò opportuno elevare per il futuro la soglia prudenziale di allerta per il test di screening a valori di 0.40 ng/mg di matrice cheratinica per oppiacei e cocaina e di 0.08 ng/mg di matrice cheratinica per i cannabinoidi.

Tabella II. Confronto fra valori Borderline e Positivi ottenuti con il test immunometrico di screening e il test di conferma in GC/MS/MS.

Paziente n°	Molecola	RISULTATI Screening (ng/mg)	Interpretazione Screening	Interpretazione GC/MS/MS (cut-off sec. Provv. N.99/cu 30 ott. 2007)
31	OP	0,20	BL	NEG
32	OP	0,20	BL	NEG
33	OP	0,20	BL	NEG
36	OP	0,20	BL	NEG
41	OP	0,20	BL	NEG
42	OP	0,20	BL	NEG
69	OP	0,20	BL	NEG
70	OP	0,27	BL	NEG
77	OP	0,20	BL	NEG
94	OP	0,21	BL	NEG
95	OP	0,26	BL	NEG
97	OP	0,24	BL	NEG
98	OP	0,20	BL	NEG
105	OP	0,43	BL	NEG
108	OP	0,28	BL	NEG
110	OP	0,25	BL	NEG
122	OP	0,26	BL	NEG
127	OP	0,21	BL	NEG
128	OP	0,29	BL	NEG
130	OP	0,26	BL	NEG
132	OP	0,36	BL	NEG
139	OP	0,20	BL	NEG
145	OP	0,23	BL	NEG
163	OP	0,21	BL	NEG
166	OP	0,30	BL	NEG
167	OP	0,21	BL	NEG
105	CANN	0,08	BL	NEG
31	COC	0,40	BL	NEG
32	COC	0,40	BL	NEG
33	COC	0,40	BL	NEG
35	COC	0,30	BL	NEG
36	COC	0,40	BL	NEG
38	COC	0,30	BL	NEG
39	COC	0,40	BL	NEG
41	COC	0,40	BL	NEG
42	COC	0,40	BL	NEG
43	COC	0,30	BL	NEG
54	COC	0,20	BL	NEG
57	COC	0,40	BL	NEG
64	COC	0,43	BL	NEG
69	COC	0,40	BL	NEG
77	COC	0,40	BL	NEG
86	COC	0,30	BL	NEG
96	COC	0,22	BL	NEG

Paziente n°	Molecola	RISULTATI Screening (ng/mg)	Interpretazione Screening	Interpretazione GC/MS/MS (cut-off sec. Prov. N.99/cu 30 ott. 2007)
99	COC	0,30	BL	NEG
107	COC	0,40	BL	NEG
138	COC	0,30	BL	NEG
139	COC	0,30	BL	NEG
142	COC	0,30	BL	NEG
146	COC	0,30	BL	NEG
148	COC	0,30	BL	NEG
153	COC	0,25	BL	NEG
164	COC	0,30	BL	NEG
167	COC	0,28	BL	NEG
45	OP	1,00	POS	POS
56	OP	1,00	POS	POS
83	OP	0,53	POS	NEG
88	OP	0,53	POS	NEG
96	OP	3,81	POS	POS
115	OP	1,90	POS	POS
119	OP	0,98	POS	POS
126	OP	11,58	POS	POS
138	OP	1,00	POS	POS
148	OP	1,00	POS	POS
149	OP	2,00	POS	POS
150	OP	19,00	POS	POS
153	OP	0,87	POS	POS
161	OP	13,00	POS	POS
164	OP	1,00	POS	POS
123	CANN	0,10	POS	POS
98	COC	0,50	POS	NEG
93	COC	0,60	POS	POS
34	COC	0,50	POS	NEG
71	COC	4,89	POS	POS
119	COC	0,65	POS	POS
129	COC	8,30	POS	POS
89	COC	4,51	POS	POS
128	COC	1,16	POS	POS
151	COC	1,22	POS	POS
157	COC	0,84	POS	POS

BL = Border line, POS = Positivo, COC = Cocaina, OP = Oppiacei, CANN = Cannabinoidi.

I numeri che contraddistinguono i pazienti si riferiscono a identificativi di laboratorio e non alla sequenza della serie.

I test positivi allo screening immunometrico hanno dimostrato una concordanza con il test di conferma in misura superiore all'86% dei casi per gli oppiacei e dell'80 % dei casi per cocaina e derivati.

Va per altro rilevato come una valutazione particolarmente attenta dei cromatogrammi abbia consentito di rilevare nei soggetti risultati positivi con il solo metodo di screening, minime tracce dello xenobiotico o

del suo metabolita principale, per altro a concentrazioni inferiori al cut-off di legge adottato, quindi da definirsi "negative", ma indicative di una verosimile precedente e remota assunzione della sostanza ricercata.

Sono stati infine testati in GC/MS/MS 20 dei campioni risultati negativi ai test di screening, ottenendo risultato negativo nella totalità dei casi.

Dall'analisi complessiva dei dati si è evinto quindi un

valore di sensibilità e specificità della metodica immunometrica di screening nei confronti di GC/MS/MS pari, rispettivamente, a 100% e 93% per gli oppiacei e a 100% e 94% per cocaina e metaboliti; si sottolinea che in questa valutazione i campioni da noi identificati come borderline sono stati considerati (e lo sono secondo le direttive del produttore) come veri negativi.

In base ai risultati ottenuti abbiamo ritenuto il test immunometrico adeguato alle esigenze operative di screening sull'elevato numero di campioni che pervengono nostro laboratorio.

Valutazione economica e organizzativa

I dati relativi sono presentati nelle Tabelle III, IV, V, VI. Come accennato in precedenza, la possibilità di variare alcuni parametri significativi consente di ridefinire il costo unitario di produzione dei test, in particolare al variare della percentuale di test di conferma (Tab. V e VI) ma anche al variare dell'impegno orario del personale o della numerosità annua complessiva dei test eseguibili dal laboratorio (dati non riportati).

Come si osserva infatti in Tabella V, il costo unitario di un Test GC-MS di conferma incrementa in relazione alla riduzione del numero di test eseguiti.

Risulta quindi evidente che, a fronte di un costo solitamente trascurato/sottostimato per quanto riguarda la tecnica GC/MS/MS, essa presenta in realtà costi significativi, dovuti sia alla componente umana che a quella materiale legata a reattivi solitamente presenti in laboratorio e scarsamente presi in considerazione nella va-

lorizzazione economica della analisi stessa.

Tali costi sono risultati nella nostra analisi significativamente superiori a quelli della analisi immunometrica, anche tenuto conto delle ripetizioni/conferme in GC/MS/ (10%).

Il TAT analitico, considerato semplicemente come il tempo minimo essenziale fra l'inizio dell'analisi e la disponibilità del risultato (comprensivo quindi anche degli indispensabili tempi morti) dimostra una differenza fra le due tecniche assolutamente rilevante (Tab. I).

Discussione e Conclusioni

Le recenti norme introdotte nel codice penale e nel codice della strada in materia di prevenzione e repressione dell'utilizzo di sostanze psicotrope hanno, in primo luogo, inasprito le sanzioni verso utilizzatori e spacciatori e, secondariamente, hanno determinato delle significative ripercussioni sull'operatività dei laboratori di tossicologia di primo e secondo livello. Infatti, i laboratori che si occupano di tossicologia forense vengono ad assumere una posizione preminente nella diagnosi di tossicodipendenza e una funzione importante per le decisioni che devono essere assunte dai magistrati dei tribunali, dai membri delle commissioni per il rilascio ed il rinnovo della patente di guida e dai responsabili dei SerT. Il metodo che, allo stato attuale è considerato gold standard per il rilievo dell'utilizzo cronico delle sostanze d'abuso è dato dall'esame della matrice cheratinica con Gascromatografia associata a Spettrometria di massa¹⁰⁻¹².

Tale metodica, pur essendo estremamente specifica

Tabella III. Analisi dei costi per prestazione con metodo GC-MS (Operatività precedente).

METODO GC-MS				
Numero prestazioni annue: 3000				
	<i>Minuti</i>	<i>Costo/min</i>	<i>Unità processate*</i>	<i>Costo Unitario</i>
Medico*	50	1.1 Euro	30	1.9 Euro
Tecnico*	2700	0.4 Euro	30	37.9 Euro
Personale				39.8 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Prezzo</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Presidi e Reagenti		90.0 Euro	30	3.0 Euro
Materiale				3.0 Euro
	<i>Costo investim.to</i>	<i>Anniammort.to</i>	<i>Prestazioni annue</i>	<i>Costo Unitario</i>
Varian 4000	125 863.0 Euro	8	3000	5.2 Euro
Ricambi	2 100.0 Euro	1	3000	0.7 Euro
Attrezzature				5.9 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Costo prestazione</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Altre prestazioni				0.0 Euro
COSTO UNITARIO TOTALE				48.7 Euro

GC-MS = Gascromatografia con rilevazione in Spettrometria di Massa.

*Trenta unità processate corrispondono a cinque pazienti testati per sei analiti ciascuno.

*I tempi di impegno medico e tecnico sono da intendere come tempo attivamente dedicato all'analisi.

Tabella IV. Analisi dei costi per prestazione con metodo Immunometrico (Operatività di recente introduzione).

METODO IMMUNOMETRICO				
Numero prestazioni annue: 3000				
% test di conferma con metodo gas-massa: 10%				
	<i>Minuti</i>	<i>Costo/min</i>	<i>Unità processate*</i>	<i>Costo Unitario</i>
Medico ^{&}	1	1.1 Euro	6	0.2 Euro
Tecnico ^{&}	40	0.4 Euro	6	2.8 Euro
Personale				3.0 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Prezzo</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Service	6	54.0 Euro	6	9.0 Euro
Materiale				9.0 Euro
	<i>Costo investim.to</i>	<i>Anni ammort.to</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Attrezzature				0.0 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Costo prestazione</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Test di conferma	10%	102.2 Euro**	1	10.2 Euro
Altre prestazioni				10.2 Euro
COSTO UNITARIO TOTALE				22.2 Euro

*Sei unità processate corrispondono a un paziente testato per sei analiti ciascuno

**Costo unitario di un test di conferma in GC-MS, nell'ipotesi di 300 test di conferma all'anno

&I tempi di impegno medico e tecnico sono da intendere come tempo attivamente dedicato all'analisi.

Tabella V. Simulazione dell'Analisi dei costi per prestazione con metodo Immunometrico nell'ipotesi di una diminuzione al 5% dei test di conferma GC-MS.

METODO IMMUNOMETRICO				
Numero prestazioni annue: 3000				
% test di conferma con metodo gas-massa: 5%				
	<i>Minuti</i>	<i>Costo/min</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Medico ^{&}	1	1.1 Euro	6	0.2 Euro
Tecnico ^{&}	40	0.4 Euro	6	2.8 Euro
Personale				3.0 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Prezzo</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Service	6	54.0 Euro	6	9.0 Euro
Materiale				9.0 Euro
	<i>Costo investim.to</i>	<i>Anni ammort.to</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Attrezzature				0.0 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Costo prestazione</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Test di conferma	5%	161.7 Euro	1	8.1 Euro
Altre prestazioni				8.1 Euro
COSTO UNITARIO TOTALE				20.1 Euro

&I tempi di impegno medico e tecnico sono da intendere come tempo attivamente dedicato all'analisi.

Tabella VI. Simulazione dell'Analisi dei costi per prestazione con metodo Immunometrico nell'ipotesi di un aumento delle determinazioni totali e di consensuale diminuzione al 5% dei test di conferma GC-MS.

METODO IMMUNOMETRICO				
Numero prestazioni annue: 5000				
% test di conferma con metodo gas-massa: 5%				
	<i>Minuti</i>	<i>Costo/min</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Medico*	1	1.1 Euro	6	0.2 Euro
Tecnico*	40	0.4 Euro	6	2.8 Euro
Personale				3.0 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Prezzo</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Service	6	54.0 Euro	6	9.0 Euro
Materiale				9.0 Euro
	<i>Costo investim.to</i>	<i>Anni ammort.to</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Attrezzature				0.0 Euro
	<i>Quantità</i>	<i>Costo prestazione</i>	<i>Unità processate</i>	<i>Costo Unitario</i>
Test di conferma	5%	114.1 Euro	1	5.7 Euro
Altre prestazioni				5.7 Euro
COSTO UNITARIO TOTALE				17.7 Euro

*I tempi di impegno medico e tecnico sono da intendere come tempo attivamente dedicato all'analisi.

e sensibile, viene ad essere gravata da una serie di problemi che la rendono non facilmente adattabile a tutte le realtà operative. Non è sufficiente, infatti, soltanto una strumentazione sofisticata e costosa come il gascromatografo, ma è essenziale che l'esame sia portato a termine da personale preparato e formato, dopo una fase preanalitica particolarmente complessa e indaginosa. La metodica in uso presso il nostro istituto prevede l'analisi della matrice cheratinica con metodo gascromatografico previa estrazione, digestione e derivattizzazione. Tale prassi per quanto in linea con le più aggiornate linee guida delle varie società scientifiche non consente la processazione di un numero elevato di campioni in tempi rapidi con conseguente ritardo della refertazione ed allungamento delle procedure burocratiche correlate¹¹⁻¹³.

La necessità di offrire un servizio più rapido, senza per questo transigere sulla necessaria dovuta specificità e sensibilità analitica, ci ha spinto a tentare di modificare l'approccio complessivo della diagnostica su matrice cheratinica con la ricerca di un metodo per quanto possibile automatizzato, su strumentazione di chimica clinica che presentasse la massima praticabilità per utilizzatori anche non specificatamente formati¹⁴.

Storicamente l'esame effettuato con metodica cromatografica (gas-cromatografica o HPLC) è stato sempre considerato un esame a basso costo o addirittura a costo zero. Questo equivoco nasce da un approccio empirico dei vecchi operatori di laboratorio portati a considerare i reagenti "self made" come particolarmente a buon prezzo. Nel nostro lavoro ci siamo prefissi sia di analizzare in dettaglio il costo degli esami

immunometrici, sia di analizzare un aspetto un po' più complesso che è dato dal costo dei singoli reagenti e dell'impegno del personale che vengono utilizzati nelle varie fasi preanalitiche per giungere alla determinazione gas cromatografica. Il quadro che emerge contraddice alcuni luoghi comuni; infatti, il costo totale dell'indagine in GC-MS, tenendo conto delle varie fasi di preparazione dei campioni non è in realtà molto lontano dal costo dei kit in commercio per l'analisi immunometrica. Questa fase pre analitica viene, infatti, sempre trascurata da questo punto di vista in quanto non è agevole rilevarne accuratamente i costi ed è senz'altro più semplice considerarla in toto a basso prezzo in contrapposizione a quello trasparente dei kit in commercio. Un aspetto del quale si deve tener conto è di contro il miglioramento della performance complessiva della determinazione che si sostanzia in una notevole riduzione dei tempi di refertazione, nel fatto di poter dedicare una maggior considerazione ai campioni positivi e borderline ed in sintesi in un affinamento diagnostico. Infine l'aspetto umano, ovvero il lavoro del personale addetto all'esame, viene ad essere valorizzato in termini prettamente qualitativi, in quanto si riduce il tempo dedicato all'analisi di campioni negativi focalizzando l'attenzione sui campioni positivi o sui più problematici border-line.

In conclusione è bene prendere in considerazione l'aspetto economico complessivo nei confronti di queste due metodiche, senza tralasciare la componente "umana" di cui abbiamo parlato, e soprattutto prendendo in considerazione il miglioramento della qualità globale del servizio che, nel periodo di sperimentazione pres-

so il nostro Laboratorio, si è sostanziato in una significativa riduzione delle liste di attesa ed in un netto miglioramento della soddisfazione degli utenti.

I risultati della nostra sperimentazione hanno indotto la Direzione Strategica dell'Azienda ad autorizzare l'espletamento di una gara di service per introdurre nel laboratorio questa nuova tecnologia.

Bibliografia

1. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 2006; 370:17-49.
2. Nakahara Y, Kikura R, Yasuhara M, Mukai T. Hair analysis for drug abuse. XIV. Identification of substances causing acute poisoning using hair root. I. Methamphetamine. *Forensic Sci Int* 1997; 84:157-64.
3. Moeller MR. Hair analysis as evidence in forensic cases. *Ther Drug Monit* 1996; 18: 444-9.
4. Henderson GL. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Forensic Sci Int* 1993; 63:19-29.
5. Kintz P. Value of hair analysis in postmortem toxicology. *Forensic Sci Int* 2004; 142:127-34.
6. Sachs H, Raff I. Comparison of quantitative results of drugs in human hair by GC/MS. *Forensic Sci Int* 1993; 63:207-16.
7. Chiarotti M. Overview on extraction procedures. *Forensic Sci Int* 1993; 63:161-70.
8. Musshoff F, Driever F, Lachenmeier K, Lachenmeier DW, Banger M, Madea B. Results of hair analyses for drugs of abuse and comparison with self-reports and urine tests. *Forensic Sci Int* 2006; 156:118-23.
9. Spiehler V. Hair analysis by immunological methods from the beginning to 2000. *Forensic Sci Int* 2000; 107: 249-59.
10. Romano G, Barbera N, Spadaro G, Valenti V. Determination of drugs of abuse in hair: evaluation of external heroin contamination and risk of false positives. *Forensic Sci Int* 2003; 131:98-102.
11. Villain M, Cirimele V, Kintz P. Hair analysis in toxicology. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42:1265-72.
12. Sachs H, Kintz P. Testing for drugs in hair. Critical review of chromatographic procedures since 1992. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998; 71:147-61.
13. Jurado C, Sachs H. Proficiency test for the analysis of hair for drugs of abuse, organized by the Society of Hair Testing. *Forensic Sci Int* 2003; 133:175-78.
14. Paterson S, McLachlan-Troup N, Cordero R, Dohnal M, Carman S. Qualitative screening for drugs of abuse in hair using GC-MS. *J Anal Toxicol* 2001; 25:203-8.