La specificità della risposta in diabetologia

Carta M.[a], Testa R.[b]

[a]Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo" di Vicenza
[b]U.O. Diabetologia, Dipartimento Ricerche, INRCA di Ancona

Ogni risultato di laboratorio è inevitabilmente il prodotto della variabilità biologica e analitica. E' compito del laboratorista conoscere, identificare i punti critici ed eliminare per quanto possibile queste fonti di variabilità per fornire al clinico un risultato affidabile ma anche interpretabile. In particolare questo è particolarmente necessario quando sulla base di un risultato numerico il clinico deve prendere una serie di decisioni che possono andare dalla ripetizione del test, alla instaurazione di una terapia farmacologia o alla modificazione di uno stile di vita.

Il laboratorio deve ancor più garantire, in questo caso, la qualità, che è stata definita come "la creazione di quelle condizioni per le quali la qualità di tutti gli esami eseguiti nella medicina di laboratorio possa aiutare i clinici nella pratica della buona medicina"[1].

Questa definizione è certamente empirica, ma diverse associazioni come la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) hanno in questi anni cercato di definire in maniera precisa sia le principali cause di variabilità biologica e quindi le strategie necessarie per cercare di limitare queste variabili, soprattutto nella fase pre-analitica, che le cosiddette specifiche di qualità o obiettivi analitici, che ci quantificano l'errore totale accettabile, in modo da rendere il laboratorio in grado di assicurare non solo una qualità generica del dosaggio, ma quella qualità che è necessaria per assicurare al clinico un processo diagnostico/terapeutico soddisfacente[2].

Le specifiche di qualità sono però diverse a seconda delle varie situazioni cliniche ed in particolare a seconda dell'utilizzo che il clinico farà del dato ottenuto: diversa sarà la qualità necessaria se utilizzo il dato per verificare se un soggetto appartiene ad una popolazione normale, o a fini epidemiologici o per valutare modificazioni nel tempo.

Le specifiche di qualità definiscono il bias e l'imprecisione accettabili. Limitare il bias è particolarmente importante negli screening, dove ci si riferisce a criteri numerici prestabiliti. Per quanto riguarda l'imprecisione è necessario chiedersi quali effetti avrà la precisione sul risultato di un esame e sulla conseguente decisione clinica. I risultati delle analisi di laboratorio vengono repertati come un singolo numero, ma ciascun numero ha una sua variabilità intrinseca. Se si ignora quella preanalitica (avendo già messi in atto tutti gli accorgimenti opportuni per azzerarla), tale variabilità sarà dovuta alla variabilità biologica intraindividuale e a quella analitica casuale, cioè precisione e variazione nel bias (dovute ad esempio a variazioni nella calibrazione) che di solito è compresa nella stima di precisione e che dovrà essere minimizzata il più possibile. Poiché la variabilità biologica può essere considerata costante, la quantità di "rumore analitico" aggiunto al segnale biologico dipende solo dalla precisione analitica.

Una bassa imprecisione quindi riduce la variabilità intrinseca relativa ai risultati di ciascun esame. Quanto dovrebbe essere contenuta l'imprecisione per ottenere un risultato sufficientemente buono? Una prima strategia per definire tale obiettivo si basa sulla variabilità intraindividuale media: se la variabilità analitica è meno di un mezzo della variabilità intraindividuale media, l'entità della variabilità aggiunta alla variabilità del risultato vero è circa il 10%. Solo il 10% di rumore analitico è stato aggiunto al vero segnale biologico. Questa quantità di variabilità analitica aggiunta sembra ragionevole anche se è stata individuata in maniera empirica.

Questa specifica di qualità viene molto utilizzata perché la variabilità biologica è costante ed è facilmente reperibile in letteratura per i diversi analiti.

Per quanto riguarda la diagnostica del diabete sia l'organizzazione mondiale della sanità (WHO) che l'American Diabetes Association (ADA) definiscono la diagnosi di diabete e la condizione di "aumentata glicemia a digiuno" (IFG) sulla base di precisi criteri numerici. E' quindi evidente che le specifiche di qualità dovranno essere severe, per evitare al clinico errori di inquadramento.

Le Linee Guida (LG) della National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) sottolineano l'importanza di azzerare il bias e di contenere l'imprecisione a valori di Coefficiente di variazione (CV) < 2,2%[3]. Tale obiettivo riguarda l'errore intralaboratorio ma sarebbe desiderabile allargare queste specifiche anche all'imprecisione inter-laboratorio per minimizzare le differenze di classificazioni. Sulla base della variabilità biologica intraindividuale (6,5%) e interindividuale (7,7%) è possibile stabilire che il coefficiente di variazione analitico (CVa) per la glicemia dovrebbe essere inferiore a 3,2%, il bias < 2,5 e l'errore totale desiderabile < 7.9%[4].

Il dosaggio della glicemia è ben standardizzato e la mag-

Corrispondenza a: Dott.ssa Mariarosa Carta, Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo", Via Rodolfi n.37, 36100 Vicenza. Tel. 0444-752486, fax 0444-752501 - e-mail: mariarosa.carta@ulssvicenza.it

gior parte dei metodi utilizzati oggi soddisfa questi criteri, anche se alcuni autori (es. Westgard) propongono specifiche ben più severe che sono tuttavia difficilmente raggiungibili in maniera generalizzata[5].
Anche se le specifiche di qualità basate sulla variabilità biologica sono considerate le più appropriate, diffuse e facili da calcolare, in linea teorica il miglior approccio per determinare le specifiche di qualità è l'analisi dell'effetto della prestazione analitica su una misura di outcome clinico (specifica di qualità in azione). Tale strategia tuttavia è difficile da applicare perché i test sono utilizzati in situazioni cliniche diverse e non è facile per i clinici descrivere in maniera obiettiva le loro azioni in base ai risultati di un esame (anche perché difficilmente le decisioni di un clinico si basano solo ed esclusivamente sulla base di un risultato di laboratorio).
Tuttavia sono stati pubblicati due studi molto interessanti in cui viene calcolato l'errore accettabile sulla base delle decisioni prese dal paziente stesso[6] o dallo specialista[7] davanti ad un preciso risultato di laboratorio: glicemia ed emoglobina glicata (Hba_{1c}). Quello che emerge da questa interessante esperienza è che per il monitoraggio del paziente diabetico la qualità analitica richiesta dai pazienti per mettere in atto le modificazioni terapeutiche corrette è alta, soprattutto per controllare le situazioni di ipoglicemia, che generalmente allarmano il paziente meno di quanto non facciano le situazioni di iperglicemia. Tale precisione attualmente non è raggiungibile dalla maggior parte dei sistemi Point Of Care Testing (POCT). Nonostante infatti le nuove tecnologie abbiano messo in atto una serie di accorgimenti molto utili che limitano l'errore da parte dell'operatore, tuttavia nella maggior parte dei casi la loro imprecisione rimane al di sopra di quel CVa desiderabile che dovrebbe, secondo gli autori, essere <5%[8]. Per questo le linee guida NACB richiedono un maggiore impegno tecnologico alle ditte produttrici.
Per quanto riguarda il secondo studio, che si rivolge a specialisti di diverse nazioni europee, considerando quindi potenzialmente l'influenza di linee guida diverse, la maggior parte dei clinici si aspetta dalla glicemia dosata in POCT una qualità analoga a quella che si può ottenere in laboratorio, cosa che al momento non è pensabile. Inoltre una buona parte dei clinici non prende in considerazione la differenza tra glicemia plasmatica e glicemia su sangue totale venoso o capillare. Questo viene messo in risalto anche da una recente raccomandazione della International Federation of Clinical Chemistry and Laboratori Medicine (IFCC), dove viene sottolineata la necessità di esprimere la glicemia tramite opportuni fattori di conversione, come concentrazione di glucosio nel plasma, per evitare errori interpretativi[9].
E' necessario quindi anche che il clinico sappia cosa deve in realtà pretendere a seconda delle situazioni: per lo screening e la diagnosi sarà necessaria una glicemia eseguita su plasma venoso in laboratori accreditati, che andrà comunque interpretata non come numero fisso ma considerando la variabilità intraindividuale e quindi gli intervalli di confidenza: se applichiamo un CV biologico pari al 6.9% ad una concentrazione vera di glucosio pari a 126 mg/dL, l'intervallo di confidenza (CI) al 95% deve comprendere le concentrazioni di glucosio tra 109 mg/dL e 143 mg/dL. Se aggiungiamo anche il CV analitico tale intervallo inevitabilmente si allarga. Per questo motivo l'NACB raccomanda di ripetere i valori compresi tra 105 e 125 e di considerare comunque un follow up più breve di quello raccomandato dall'ADA per valori compresi tra 96 e 104.
Nella gestione del paziente diabetico, accanto alla glicemia l'altro parametro cardine è il dosaggio dell'Hba_{1c}.
Le linee guida ADA raccomandano che venga mantenuta una concentrazione di Hba_{1c} inferiore al 7%, con rivalutazione della posologia per valori uguali o superiori all'8%[10].
I metodi per la determinazione dell'emoglobina glicata in uso sono numerosi, ma oggi possono essere suddivisi in 3 gruppi: cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC), cromatografia ad affinità e immunodosaggi. Metodi che utilizzano principi diversi generalmente mostrano correlazioni ottime, ma se analizziamo lo stesso campione con metodi diversi otteniamo risultati ben diversi se non utilizziamo una standardizzazione ad un riferimento comune.
Per questo motivo già dal 1996 è stato avviato il National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) per standardizzare i risultati dell'emoglobina glicata tra i diversi laboratori riferendosi a valori equivalenti DCCT (Diabetes Control and Complication Trial)[11]. E' stata così costruita una rete NGSP di laboratori che comprende numerosi metodi di determinazione ognuno calibrato con il riferimento DCCT (metodo HPLC definito come metodo di riferimento). I laboratori della NGSP network interagiscono con le ditte produttrici dei metodi di misura dell'emoglobina glicata, assistendoli nella calibrazione dei metodi. Inoltre tali laboratori devono partecipare a verifica esterna di qualità.
L'NACB raccomanda quindi di utilizzare solo metodi certificati da questo programma.
Nel 1995 tuttavia è stato creato un nuovo gruppo di studio della International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) per la standardizzazione dell' Hba_{1c} che propone un nuovo metodo di riferimento che potenzialmente potrebbe legare l'NGSP con i programmi di standardizzazione esistenti in altri paesi[12].
Tale sistema di riferimento IFCC dà comunque valori più bassi rispetto a quelli ottenuti con DCCT. Attualmente i metodi utilizzati possono essere calibrati o per DCCT o per IFCC, ma naturalmente è fondamentale per una corretta interpretazione da parte del clinico che il laboratorio segnali se utilizza un calibrazione diversa dal DCCT.
Per quanto riguarda le specifiche di qualità dell'emoglobina glicata, è facilmente intuibile come l'ambito di errore concesso debba essere ristretto, soprattutto nel range di valori compresi tra 7 e 8%, vista l'implicazione clinica. L'NACB raccomanda un CV desiderabile del 3% e accettabile del 5%, con bias che dovrebbe essere minimo se assumiamo che il metodo sia tra quelli tracciati dai sistemi di standardizzazione. Dobbiamo però anche in questo caso considerare inevitabilmente il peso della variabilità biologica. Diventa quindi importante considerare la differenza critica (DC) che ci permette di stabilire se due determinazioni successive differiscono tra loro per l'impatto di una terapia, di un trattamento o solo per la somma di variabilità biologica e analitica.
Nel caso della emoglobina glicata la DC è intorno al 13%; ciò significa che una emoglobina glicata del 7% potrebbe

risultare 7.9% in un dosaggio successivo, senza che per questo il clinico possa considerarla diversa dalla precedente.

Anche per quanto riguarda l' Hba_{1c} è stato utilizzato l'approccio per cercare di calcolare le specifiche di qualità basato sull'utilizzo da parte degli specialisti, ai quali è stato chiesto di descrivere le loro azioni sulla base di determinazioni successive di Hba_{1c}: una imprecisione intorno al 3-5%, sovrapponibile a quella raccomandata dall'NACB, è in accordo con la qualità richiesta dalla maggior parte degli specialisti europei.

A questo punto risulta comunque evidente che il referto di laboratorio non può limitarsi a riportare semplicemente un numero, ma deve anche mettere il clinico in condizioni di capire ed interpretare correttamente quel numero, magari inserendo anche gli intervalli di confidenza o la differenza critica.

Altro punto importante nella risposta della medicina di laboratorio in diabetologia è l'analisi genetica. Nella prevenzione della malattia diabetica e delle sue complicanze esiste oggigiorno la possibilità che i test genetici siano di reale utilità. Alcune indagini nazionali hanno evidenziato che la generale domanda di test genetici aumenta di circa il 30% o più ogni anno. Anche nella malattia diabetica sarà quindi necessario assicurare che questo tipo di indagine sia offerto nella maniera più efficace e corretta, con elevati standard qualitativi. Questo obiettivo può essere raggiunto solo se i test genetici sono considerati come un servizio integrato e non solo come un'attività di laboratorio. Riprendiamo a tal proposito le puntuali parole del Prof. Bruno Dallapiccola: "Rispetto al classico concetto applicato alle altre analisi di laboratorio, che sostanzialmente richiedono l'acquisizione del campione, l'indagine dei laboratorio e la compilazione del referto, i test genetici dovrebbero essere preceduti da una fase di preparazione, informazione e sottoscrizione del consenso e la consegna del referto dovrebbe essere seguita dalla discussione e dall'interpretazione del risultato e, quando indicato, dal supporto all'utente."

Nell'identificazione delle cause genetiche della malattia diabetica risultati incoraggianti sono stati ottenuti solo nel sottogruppo di soggetti affetti da diabete del giovane ad esordio nell'età matura – o MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), che presentano un'ereditarietà del carattere di tipo mendeliano[13]. Per quello che riguarda le complicanze la maggior parte degli alleli studiati si associa ad un aumento modesto del rischio.

Queste evidenze configurano quindi al giorno d'oggi solo una limitata utilità di questi test, e questo ne rende limitata la domanda.

Prospettive interessanti sono offerte dallo studio integrato delle relazioni genotipo/fenotipo. Esso potrebbe consentire infatti di avere una visione più chiara degli aspetti fisiopatogenetici del diabete e delle sue complicanze, permettendo così di definire protocolli diagnostici e terapeutici mirati (farmacogenomica) più razionali ed efficaci di quelli finora basati sul solo studio delle caratteristiche fenotipiche dell'individuo.

Bibliografia

1. Fraser CG. La variabilità biologica dai principi alla pratica. Milano: Biomedia s.r.l.; 2004.
2. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2002; 48:436-72.
3. Fraser CG. The necessity of achieving good laboratory performance. Diabet Med 1990; 7:490-3.
4. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, et al. Current Databases on biological variation: pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest 1999;.59:491-500.
5. Westgard JO, Darcy T. The truth about quality: medical usefulness and analytical reliability of laboratory tests. Clin Chim Acta. 2004; 346:3-11.
6. Skeie S, Thue G, Sandberg S. Patient-derived quality specification for instrument used in self monitoring of blood glucose. Clin Chem 2001; 47:67-73.
7. Skeie S, Perich C, Ricos C, Araczke A, Horvath A, Oosterhuis WP, et al. Postanalytical external quality assessment of blood glucose and hemoglobin A1c: an international study.Clin Chem 2005;,51:1145-53.
8. Skeie S, Thue G, Nerhus K, Sanberg S. Instruments for self-monitoring of blood glucose comparisons of testing quality achieved by patients and a technician. Clin Chem 2002; 48:994-1003.
9. D'Orazio P, Burnett RW, Fogh-Andersen N, Jacobs E, Kuwa K, Kulpmann WR, et al. Approved IFCC recommendation on reporting results for blood glucose. Clin Chem 2005; 51:1573-6.
10. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care 2005; 28:S4-36.
11. Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Myers GL, Sacks DB, Goldstein DE. The National Glycohemoglobin Standardization Program: a five-year progress report. Clin Chem 2001; 47:1985-92.
12. Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, Miedema K, Barr JR, Goodall I, et al. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. Clin Chem 2004; 50:166-74.
13. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). Nature. 1996; 384:455-8.