ALTEMS ADVISORY

SCIENCE ECONOMICS LIFE

Spin off dell'Università Cattolica del Sacro Cuore

REPORT

Health Technology Assessment di *cobas*® *Mass Spec Solution*: Analisi Organizzativa ed Economica per l'Integrazione nei Laboratori Clinici



Contributi

Autori

Rumi F.[1], Basile M.[1], Calosci E.M.[1], De Chiara C.[1], De Medio E.[1], Di Brino E.[1], Falasca G.[1], Sciomenta I.[1], Laurita R.[2]

[1]Altems Advisory, Spin off dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

[2]Alta Scuola di Economia e Management dei Sistemi Sanitari (ALTEMS), Università Cattolica del sacro Cuore, Roma

Data di pubblicazione

Ottobre 2026

Si prega di citare il report:

"Rumi F., Basile M., Calosci E.M., De Chiara C., De Medio E., Di Brino E., Falasca G., Sciomenta I., Laurita R. Health Technology Assessment di cobas® Mass Spec Solution: Analisi Organizzativa ed Economica per l'Integrazione nei Laboratori Clinici, Altems Advisory, 2026".

Informazioni

info@altemsadvisory.it

Disclosure

Il presente elaborato è stato realizzato grazie al contributo non condizionante di Roche Diagnostics.

Expert panel

- **Lorenzo Leogrande** - Responsabile Unità di Valutazione delle tecnologie sanitarie, Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS Roma
- **Jessica Miele** - Dirigente farmacista UOC Farmacia, Governance del Farmaco e del Dispositivo Medico, Fondazione Policlinico Universitario Campus Biomedico Roma
- **Marcello Pani** - Direttore UOC Farmacia, Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS Roma
- **Maurizio Sanguinetti** - Direttore Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Malattie Infettive, Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS Roma
- **Entela Xoxi** - *Senior Researcher*, ALTEMS Advisory, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Focus group

- **Giuliana Cangemi** - Responsabile UOS Biochimica Farmacologia e *Screening* Neonatale Laboratorio Centrale di Analisi, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova
- **Flavia Lillo** - Direttore Area Dipartimentale dei Servizi e S.C. Laboratorio di Patologia Clinica, ASL 2 Savonese Coordinatore Macroarea Laboratori, Dipartimento Interaziendale Regionale
- **Alberto Giuseppe Passi** - Direttore SC Laboratorio di Patologia Clinica, ASST Sette Laghi Varese
- **Maurizio Sanguinetti** - Direttore Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Malattie Infettive, Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS Roma

Si ringraziano sentitamente gli esperti del *focus group* per il contributo fornito alla stesura del dominio organizzativo (ORG) del presente report.

Indice

Abbreviazioni ***9***

Lista Tabelle ***12***

Lista Figure ***13***

Executive summary ***15***

Executive summary (English version) ***19***

Metodi ***25***

Revisione della letteratura **25**

Domanda di ricerca 25
Strategia di ricerca 26
Fonti di informazione 26
Processo di selezione 26

Analisi economica **28**

Risultati ***29***

Revisione della letteratura **29**

Problema di salute e uso attuale della tecnologia (CUR) ***32***

PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO **33**

1. Popolazione target 33
A007 – Qual è la popolazione target di questa valutazione? 33
A0023 – Quante persone appartengono alla popolazione target? 33
2. Condizione target 33
A0002 – Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione? 33
A0003 – Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute? 34
A0004 – Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute? 35
A0005 – Quali sono i sintomi e la gravità della malattia o condizione di salute per il paziente? 36
3. Gestione attuale della patologia 38
A0018 – Quali sono le altre tipiche o comuni alternative alla tecnologia corrente? 38
A0024 – Come la malattia o condizione di salute è diagnosticata in accordo con le Linee Guida? 39
A0025 – Come la malattia o condizione di salute è gestita in accordo con le Linee Guida? 40
4. Utilizzo 41
A0001 – Per quale scopo, condizione di salute e popolazione è utilizzata la tecnologia? .. 41

Bibliografia ***43***

PAZIENTI CRITICI **46**

1. Popolazione target 46

A007 – Qual è la popolazione target di questa valutazione? 46
A0023 – Quante persone appartengono alla popolazione target? 46
2. Condizione target 46
A0002 – Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione? 46
A0003 – Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute? 47
A0004 – Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute? 48
A0005 – Quali sono i sintomi e la gravità della malattia o condizione di salute per il paziente? 49
3. Gestione attuale della patologia 50
A0018 – Quali sono le altre tipiche o comuni alternative alla tecnologia corrente? 50
A0024 – Come la malattia o condizione di salute è diagnosticata in accordo con le Linee Guida? 50
A00025 – Come la malattia o condizione di salute è gestita in accordo con le Linee Guida? 52
4. Utilizzo 54
A0001 – Per quale scopo, condizione di salute e popolazione è utilizzata la tecnologia? 54

***Bibliografia* 55**

PAZIENTI AFFETTE DA SINDROME OVARICA POLIENDOCRINA METABOLICA (PMOS) 58
1. Popolazione target 58
A007 – Qual è la popolazione target di questa valutazione? 58
A0023 – Quante persone appartengono alla popolazione target? 58
2. Condizione target 59
A0002 – Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione? 59
A0003 – Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute? 59
A0004 – Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute? 60
A0005 – Quali sono i sintomi e la gravità della malattia o condizione di salute per il paziente? 61
3. Gestione attuale della patologia 62
A0018 – Quali sono le altre tipiche o comuni alternative alla tecnologia corrente? 62
A0024 – Come la malattia o condizione di salute è diagnosticata in accordo con le Linee Guida? 63
A0025 – Come la malattia o condizione di salute è gestita in accordo con le Linee Guida? 64
4. Utilizzo 65
A0001 – Per quale scopo, condizione di salute e popolazione è utilizzata la tecnologia? 65

***Bibliografia* 66**

***Descrizione delle caratteristiche tecniche della tecnologia (TEC)* 69**
1. Caratteristiche della tecnologia 70
B0001 – Che tipo di tecnologia è e quali sono i comparatori? 70
Marcatori analitici e di qualità 72
Marcatori clinici 75
Comparatori 76

B0002 – Qual è il beneficio dichiarato della tecnologia in relazione ai comparatori? 77
B0004 – Chi gestisce la tecnologia e il/i comparatore/i e in quale contesto e livello di assistenza vengono forniti? 79
2. Formazione e informazioni necessarie per l'utilizzo della tecnologia 79
B0007 – Quali investimenti materiali sono necessari per l'utilizzo della tecnologia? 79
B0012 – Quali tipi di requisiti in termini di processi di qualificazione e garanzia della qualità sono necessari per l'uso o la manutenzione della tecnologia? 80
B0013 – Quali competenze, caratteristiche di formazione e informazioni sono necessarie per il personale che utilizza la tecnologia? 81
3. Stato regolatorio 82
A0020 – Per quali indicazioni la nuova tecnologia ha ricevuto l'autorizzazione o il marchio CE? 82
A0021 – Qual è lo stato del rimborso della tecnologia? 82
4. Altro 84
A0022 – Chi produce la tecnologia? 84

Sicurezza (SAF) ***86***
1. Sicurezza del paziente 87
C0008 – Quanto è sicura la tecnologia rispetto al/i comparatore/i? 87
Ciclosporina 87
Everolimus 88
Sirolimus 88
Tacrolimus 89
Ciclosporina 89
Everolimus 90
Sirolimus 90
Tacrolimus 90
C0006 – Quali sono le conseguenze dei risultati falsi positivi, falsi negativi e incidentali generati dall'utilizzo della tecnologia dal punto di vista della sicurezza del paziente? 96
C0007 – La tecnologia e i comparatori sono associati a danni dipendenti dall'utente? 98
2. Sicurezza del lavoro 100
C0020 – Che tipo di danni professionali possono verificarsi quando si utilizza la tecnologia? 100
Conclusioni 101

Bibliografia ***102***

Efficacia clinica (EFF) ***107***
1. Mortalità 108
D0001 – Qual è l'effetto benefico atteso della tecnologia su mortalità? 108
2. Morbilità 108
D0026 – In che modo la tecnologia modifica l'efficacia degli interventi successivi? 108
D0006 – In che modo la tecnologia influisce sulla progressione (o recidiva) della malattia o della condizione di salute? 108
3. Test di precisione 109

D1003 – Qual è lo standard di riferimento e con quale probabilità è in grado di classificare correttamente la condizione target? 109
4. Gestione delle modifiche 111
D0020 – L'uso del test porta a un migliore rilevamento della condizione? 111
D0021 – In che modo l'uso del test cambia le decisioni di gestione dei medici? 111

Conclusioni 112

Bibliografia 113

Costi e valutazione economica (ECO) 117

Introduzione 118

1. Utilizzo delle risorse 118
E0009 – Quali sono stati i costi misurati e/o stimati della tecnologia valutata e dei suoi comparatori (valutazione dell'uso delle risorse)? 118
D0023 – In che modo la tecnologia modifica la necessità di altre tecnologie e l'uso delle risorse? 119
D0023 – Quali sono i probabili impatti sul budget derivanti dall'implementazione delle tecnologie messe a confronto? 122
1. Razionale del modello economico 122
2. Popolazione target e volume di attività 123
3. *Data input*: tassi di incidenza delle complicanze 124
4. *Input* di costo: noleggio *cobas*® *Mass Spec*, spettrometria di massa e immunometria 126
5. Costo del rigetto acuto e del ritrapianto (*microcosting* SSN) 127
6. Costo delle complicanze cliniche post-trapianto 128
7. Risultati della *Budget Impact Analysis* 129
7a. Analisi del costo per paziente per anno 132
8. Complicanze cliniche evitate: dettaglio per tipologia e organo 133
9. Analisi di sensibilità deterministica (DSA) – Robustezza dei risultati 134
10. Limiti metodologici e considerazioni critiche 137

2. Misurazione e stima degli esiti 138
E0005 – Quali sono gli esiti correlati alla salute misurati e/o stimati della tecnologia valutata e dei suoi comparatori (identificazione, misurazione e valutazione degli esiti)? 138

3. Analisi dei costi e degli esiti 139
E0006 – Quali sono le differenze stimate in termini di costi e risultati tra la tecnologia e i suoi comparatori? 139

4. Validità del modello economico 140
E0012 – In che misura le stime dei costi, degli esiti o delle valutazioni economiche possono essere considerate una rappresentazione valida della tecnologia e del/dei relativo/i comparatore/i? 140

Bibliografia 141

Aspetti organizzativi 144

Introduzione **145**

Descrizione del processo AS IS **145**
Workflow laboratoristico corrente 145
Tecnologie utilizzate 146
Criticità organizzative attuali 146

Descrizione del processo con la nuova tecnologia (TO BE) **147**
Modello operativo con l'introduzione della tecnologia 147
Integrazione della tecnologia nel laboratorio 147
Modifiche ai flussi di lavoro, responsabilità e tempi 148

Area Risorse Umane **148**
Cambiamenti nelle competenze 148
Impatto sul carico di lavoro 149
Tempo liberato e riallocazione 149

Processo e produttività **149**
Capacità produttiva 149

Struttura e logistica **150**
Spazi 150
Layout laboratori 150
Infrastruttura tecnologica 150

Impatto sulla qualità del servizio **150**
Tempestività del referto 150
Accuratezza percepita 151
Analisi delle criticità 151
Barriere implementative 151
Rischi operativi 152
Vincoli organizzativi 152

Fattori abilitanti **153**

Appendice 1 ..... ***155***

Abbreviazioni

AAA	Aminoacidi aromatici
ACMIA	Immunoanalisi mediata da colonna di affinità
AED	*Anti-epilect drug*
ALT	Alanina Aminotransferasi
AMH	Ormone antimülleriano
ASP	Programmi di *Antimicrobial Stewardship*
ASRM	*American Society for Reproductive Medicine*
AST	Aspartato Aminotransferasi
AUC	Area sotto la curva
BCAA	Aminoacidi a catena ramificata
BMI	Indice di massa corporea
CLIA	*Chemiluminescent immunoassay*
Cmax	Concentrazione massima
CMIA	*Chemiluminescent microparticle immunoassay*
Cmin	Concentrazione minima
CNI	Inibitore della calcineurina
COC	Contraccettivi orali combinanti
CRRT	*Continuous Renal Replacement Therapy*
CUR	Problema di salute e uso attuale della tecnologia
DHEA	Deidroepiandrosterone
DHEAS	Deidroepiandrosterone solfato
DHT	Diidrotestosterone
d-MSPE	*Dispersive magnetic solid-phase extraction*
EASL	*European Association for the Study of the Liver*
EAU	*European Association of Urology*
ECMO	*ExtraCorporeal Membrane Oxygenation*
ECO	Costo ed efficacia economica
EFF	Efficacia clinica
ELISA	*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
ESCMID	*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*
ESHRE	*European Society of Human Reproduction and Embryology*
ESI	Ionizzazione *elettrospray*
ESICM	*European Society of Intensive Care Medicine*

ESRD	Malattia renale cronica in stadio avanzato (*End-Stage Renal Disease*)
ETG	Etilglucuronide
ETS	Solfato di etile
GC-MS	*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*
GGT	Gamma-glutamil transferasi
HBV	Virus dell'epatite B
HCV	Virus dell'epatite C
HDL	*High-Density Lipoprotein*
HDV	Virus dell'epatite D
HPLC	*High-Performance Liquid Chromatography*
HTA	*Health Technology Assessment*
IATDMCT	*International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology*
INR	*International Normalized Ratio*
ISAC	*International Society for Antimicrobial Chemotherapy*
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
LC	Cromatografia liquida
LC–MS/MS	*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry*
LFIA	*Lateral flow immunoassay*
LH	Ormone luteinizzante
LIS	Sistemi informatici di laboratorio
m/z	Rapporto massa/carica
MASH	*Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis*
MEIA	*Microparticle enzyme immunoassay*
MIC	Minima concentrazione inibente
MPA	Acido micofenolico
MRM	*Multiple Reaction Monitoring*
MS	Spettrometria di massa
ORG	Aspetti organizzativi
PBC	Cirrosi biliare primitiva
PMA	Procreazione medicalmente assistita
PMOS	Sindrome Ovarica Poliendocrina Metabolica
POCT	*Point-of-care testing*
QC	Controlli di qualità

QQQ	Triplo quadrupolo tandem
Q-TOFMS	*Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry*
SAF	Sicurezza
SHBG	Globulina legante gli ormoni sessuali
Sindrome PIICS	*Persistent Inflammatory, Immunosuppressive, and Catabolic Syndrome*
SPU	*Sample Preparation Unit*
SSU	*Sample Supply Unit*
TDM	Monitoraggio terapeutico dei farmaci (*Therapeutic Drug Monitoring*)
TAT	Tempi di refertazione
TDM	Monitoraggio terapeutico dei farmaci (*Therapeutic Drug Monitoring*)
TEC	Descrizione e caratteristiche tecniche
UTI/ICU	Unità di terapia intensiva

Lista Tabelle

Tabella 1 – PICO 1: Pazienti trapiantati 25
Tabella 2 – PICO 2: Pazienti critici (terapia intensiva) 25
Tabella 3 – PICO 3: Pazienti affette da PMOS 25
Tabella 4 – *Topic & Issue* Problema clinico e gestione corrente della tecnologia (CUR) 32
Tabella 5 – Attività di trapianto di organi in Italia nell'anno 2024 (5) 33
Tabella 6 – *Topic & Issue* Descrizione e caratteristiche tecniche della tecnologia (TEC) 69
Tabella 7 – Caratteristiche regolatorie, cliniche e analitiche degli assay disponibili per *cobas*® *Mass Spec Solution* 73
Tabella 8 – Reagenti *Ionify*® 76
Tabella 9 – Confronto tra *cobas*® *Mass Spec Solution*, LC-MS/MS tradizionale e immunodosaggi 77
Tabella 10 – *Topic & Issue* Sicurezza (SAF) 86
Tabella 11 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify*® *Ciclosporina* (11) 87
Tabella 12 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify*® *Everolimus* (11) 88
Tabella 13 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify*® *Sirolimus* (11) 88
Tabella 14 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify*® *Tacrolimus* (11) 89
Tabella 15 – Principali reazioni avverse dose-dipendenti degli immunosoppressori ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus e acido micofenolico 93
Tabella 16 – *Topic & Issue* Efficacia clinica (EFF) 107
Tabella 17 – Precisione LC-MS/MS per ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, everolimus e acido micofenolico (10) 109
Tabella 18 – Accuratezza diagnostica androgeni: LC-MS/MS vs. immunometria (15) 110
Tabella 19 – *Topic & Issue* Costi e valutazione economica (ECO) 117
Tabella 20 – Percentuale di riduzione delle complicanze LC-MS/MS vs immunometria e *cobas*® 121
Tabella 21 – Caratteristiche strutturali del modello economico 123
Tabella 22 – Parametri di popolazione, volume di attività e fonti 124
Tabella 23 – Incidenza complicanze nel trapianto di fegato (*baseline* immunometria) 124
Tabella 24 – Incidenza complicanze nel trapianto di rene (*baseline* immunometria) 125
Tabella 25 – Riduzioni delle complicanze: assunzioni del modello 126
Tabella 26 – Confronto dei costi di strumentazione per piattaforma diagnostica 127
Tabella 27 – *Microcosting* del rigetto acuto e del ritrapianto (prospettiva SSN italiano) 128
Tabella 28 – Costo per episodio delle complicanze post-trapianto: *microcosting* DRG SSN italiano 129

Tabella 29 – Risultati di sintesi BIA (cumulato 5 anni, coorte 1.000 pazienti/anno) 130

Tabella 30 – *Budget Impact* annuale e cumulativo per scenario (costi in €) 131

Tabella 31 – Costo medio per paziente per anno: AS IS vs TO BE (€/paziente/anno) 133

Tabella 32 – Complicanze evitate per tipologia e organo trapiantato (cumulato 5 anni, n. casi) 133

Tabella 33 – DSA: top-10 parametri per impatto sul Budget Impact – *cobas® Mass Spec* vs. Immunometria (±20%, caso base: −€718.122) 135

Tabella 34 – DSA: top-10 parametri per impatto sul Budget Impact – *cobas® Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale (variazione ±20% dei parametri chiave) 136

Lista Figure

Figura 1 – *PRISMA model*. Schema illustrativo del processo di revisione della letteratura 30

Figura 2 – L'analizzatore *cobas® i 601* 70

Figura 3 – Processo analitico di *cobas® Mass Spec Solution* 72

Figura 4 – *Ionify Cyclosporine* (*cobas® i 601*) confrontato con ciclosporina mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale (*Lab developed tests LTD*) e con *Elecsys Cyclosporine* (*cobas e 801*) utilizzando campioni di sangue intero (14,15) 91

Figura 5 – *Ionify Everolimus* (*cobas® i 601*) confrontato con everolimus mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale (*Lab developed tests LTD*) e con *Elecsys Everolimus* (*cobas e 801*) utilizzando campioni di sangue intero (14, 15) 91

Figura 6 – *Ionify Sirolimus* (*cobas® i 601*) confrontato con sirolimus mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale (*Lab developed tests LTD*) e con *Elecsys Sirolimus* (*cobas e 801*) utilizzando campioni di sangue intero (14, 15) 91

Figura 7 – *Ionify Tacrolimus* (*cobas® i 601*) confrontato con tacrolimus mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale (*Lab developed tests LTD*) e con *Elecsys Tacrolimus* (*cobas e 801*) utilizzando campioni di sangue intero (14, 15) 92

Figura 8 – Risultati del *ring trial* LGC per la ciclosporina (*Ionify® CSA*) (24) 96

Figura 9 – Risultati del *ring trial* LGC per everolimus (*Ionify® EVE*) (24) 97

Figura 10 – Risultati del *ring trial* LGC per sirolimus (*Ionify® SIR*) (24) 97

Figura 11 – Risultati del *ring trial* LGC per tacrolimus (*Ionify® TAC*) (24) 98

Figura 12 – Costo totale cumulato (€) per anno: confronto AS IS vs TO BE nei due scenari 131

Figura 13 – *Budget Impact* annuale per il SSN (€): risparmio crescente nel tempo per entrambi i confronti scenariali 132

Figura 14 – Complicanze evitate per categoria (n. casi cumulati 5 anni): *cobas® Mass Spec* vs. Immunometria vs. LC-MS/MS tradizionale 134

Figura 15 – Tornado *Chart DSA*: *cobas® Mass Spec* vs. Immunometria (variazione ±20% dei parametri chiave) 135

Figura 16 – Tornado *Chart DSA*: *cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale (variazione ±20% dei parametri chiave; valori in €M) 136

Executive summary

Problema di salute e uso corrente della tecnologia (CUR)

La presente valutazione analizza il valore diagnostico di *cobas*® *Mass Spec Solution* (piattaforma *cobas*® *i 601*, Roche Diagnostics), sistema integrato di cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS/MS) completamente automatizzato, in tre contesti clinici ad elevata complessità: pazienti sottoposti a trapianto d'organo (rene e fegato), pazienti critici ricoverati in unità di terapia intensiva e donne affette da sindrome ovarica poliendocrina metabolica (PMOS), precedentemente nominata sindrome dell'ovaio policistico (PCOS).

Nei pazienti trapiantati, il monitoraggio terapeutico dei farmaci (TDM) immunosoppressori (tacrolimus, ciclosporina, everolimus, sirolimus) rappresenta un elemento critico per prevenire rigetto e tossicità. In Italia, nel 2024 sono stati eseguiti 2.367 trapianti di rene e 1.721 di fegato, con oltre 48.000 pazienti in *follow-up* attivo. Le metodiche immunometriche attualmente impiegate nei laboratori italiani sono soggette a cross-reattività sistematica con i metaboliti del farmaco, con sovrastime documentate fino al 20% per il tacrolimus, con conseguenti rischi di sotto-dosaggio iatrogeno e rigetto acuto d'organo, o sovra-esposizione cronica e tossicità d'organo.

Nei pazienti critici in terapia intensiva, la rapida disponibilità di misurazioni accurate di antibiotici (linezolid, vancomicina, meropenem, piperacillina) e antiepilettici è essenziale per personalizzare i trattamenti in tempo reale e ridurre le complicanze farmacologiche.

Nelle donne con PMOS, la corretta quantificazione degli androgeni plasmatici (testosterone, androstenedione, DHEA, DHEAS, DHT) è fondamentale per la diagnosi differenziale e la classificazione fenotipica, ambiti nei quali i metodi immunometrici mostrano limiti significativi di sensibilità e specificità alle basse concentrazioni tipiche del sesso femminile.

In tutti e tre i contesti, *cobas*® *Mass Spec Solution* rappresenta una risposta tecnologica avanzata a esigenze organizzative e di processo ancora parzialmente insoddisfatte, in termini di automazione, standardizzazione, tempi di refertazione (TAT) e accessibilità.

Descrizione e caratteristiche tecniche della tecnologia (TEC)

cobas® *Mass Spec Solution* è una piattaforma diagnostica completamente automatizzata che integra in un unico sistema la cromatografia liquida (LC) e la spettrometria di massa tandem a triplo quadrupolo (QQQ-MS/MS), con ionizzazione *elettrospray* (ESI) e acquisizione in modalità *Multiple Reaction Monitoring* (MRM). Il sistema comprende quattro unità funzionali: un'unità di caricamento campioni in *random access* (SSU, fino a 300 campioni simultanei con accesso STAT), un'unità di preparazione automatizzata mediante tecnologia brevettata a particelle paramagnetiche (SPU), un'unità cromatografica che sfrutta 8 colonne contemporaneamente (i canali sono 4) (fino a 100 iniezioni/ora) e un'unità MS a triplo quadrupolo.

Il portfolio analitico è coperto dai reagenti *Ionify*. Gli assay già disponibili e marcati CE-IVD comprendono immunosoppressori, steroidi, antiepilettici, antibiotici e vitamina D. Il portfolio è

inoltre destinato ad ampliarsi con assay di prossima introduzione e/o attualmente in pipeline, tra cui quelli per sostanze di abuso, antidepressivi e antipsicotici. La piattaforma è registrata come dispositivo medico-diagnostico in vitro (IVD) con marcatura CE ai sensi del Regolamento (UE) 2017/746 (IVDR). I comparatori di riferimento sono le metodiche immunometriche automatizzate (CMIA, ECLIA, CLIA) e la LC-MS/MS tradizionale a preparazione manuale o semi-automatica.

Rispetto alla LC-MS/MS tradizionale, *cobas*® *Mass Spec* automatizza l'intera fase analitica, riducendo significativamente l'intervento manuale richiesto per la preparazione dei campioni e l'interpretazione dei picchi analitici, ottenendo così risultati affidabili e standardizzati, grazie alla riduzione delle variabili legate all'operatore. Uno studio multicentrico su 93 *workflow* in 7 laboratori internazionali ha documentato una riduzione del *turnaround time* di circa 6,8 volte (1h 34min vs. 10h 37min) e del tempo manuale operatore di circa 19 volte (5 min vs. 93 min).

Sicurezza (SAF)

cobas® *Mass Spec Solution* presenta un profilo di specificità e accuratezza analitica superiore rispetto alle metodiche immunometriche convenzionali, grazie alla maggiore capacità della LC-MS/MS nel distinguere il farmaco parentale dai suoi metaboliti. Questo si traduce in una riduzione del rischio di misurazioni non accurate della concentrazione che, nel TDM degli immunosoppressori, potrebbero determinare decisioni terapeutiche criticamente errate: sovra-dosaggi cronici correlati a nefrotossicità, neurotossicità e infezioni opportunistiche, o sotto-dosaggi con conseguente rischio di rigetto acuto d'organo.

I dati di validazione analitica dei reagenti *Ionify*® *Immunosuppressants*, condotti secondo protocollo CLSI EP05-A3 su 84 determinazioni per 21 giorni, mostrano per ciclosporina, everolimus, sirolimus e tacrolimus coefficienti di variazione (CV) in ripetibilità compresi tra 1,7% e 5,3% e CV di precisione intermedia tra 4,2% e 7,5%. Il confronto mediante regressione di Deming pesata con la LC-MS/MS tradizionale di laboratorio mostra pendenze comprese tra 0,883 e 1,061 e intercette prossime allo zero (da −1,87 a −0,06 ng/mL; r 0,977-0,997), mentre il confronto con l'immunometria automatizzata (Elecsys) mostra pendenze sistematicamente inferiori a 1 (0,740-0,921), coerenti con il *bias* positivo noto dell'immunometria dovuto a cross-reattività con i metaboliti. Nei *ring trial* esterni (LGC), il *bias* percentuale mediano si mantiene relativamente stabile lungo l'intero *range* analitico, incluse le concentrazioni prossime ai punti di decisione medica (MDP): circa −6% per ciclosporina, −3% per everolimus, +3% per sirolimus e −10% per tacrolimus.

L'automazione del processo analitico riduce le fonti di errore operatore-dipendente tipiche della LC-MS/MS manuale, migliorando la sicurezza professionale e limitando l'esposizione del personale ai reagenti chimici. Il controllo qualità è integrato con monitoraggio continuo dei *trend* QC, algoritmi di autoverifica sotto supervisione professionale, e cartucce cromatografiche RFID che riducono gli errori di configurazione. In assenza di RCT diretti su *endpoint* clinici, le evidenze disponibili supportano in modo plausibile un effetto indiretto favorevole sulla sicurezza del paziente tramite la riduzione delle complicanze dose-dipendenti associate a un TDM impreciso, con una riduzione delle complicanze post-trapianto stimata, in via prudenziale, nell'ordine del 10-20% rispetto ai protocolli basati su immunometria.

Efficacia clinica (EFF)

La tecnologia mostra un profilo di *performance* analitica favorevole in tutti e tre i contesti valutati, con accuratezza analitica documentata come superiore all'immunometria e comparabile alla LC-MS/MS tradizionale di riferimento. Per il TDM degli immunosoppressori nei pazienti trapiantati, le validazioni analitiche mostrano CV intra- e inter-serie prevalentemente inferiori al 10% (fino al 6% per il pannello completamente automatizzato), mentre l'immunometria è gravata da un *bias* sistematico documentato, in particolare una sovrastima delle concentrazioni dovuta alla cross-reattività, fino al 20% per il tacrolimus, con *bias* di pendenza del 22-31% a seconda del tipo di trapianto.

La maggiore specificità analitica consente di misurare esclusivamente il farmaco parentale attivo, correggendo tale *bias* sistematico e supportando un aggiustamento posologico più preciso. Non sono al momento disponibili studi sperimentali od osservazionali con endpoint di mortalità o morbilità riconducibili specificamente alla piattaforma valutata: l'effetto atteso sulla riduzione delle complicanze post-trapianto (stimato in via prudenziale nell'ordine del 10-20% rispetto all'immunometria) è ipotizzato per via indiretta, sulla base dell'associazione nota tra maggiore permanenza nel range terapeutico ed esiti clinici migliori, e non su dati generati direttamente con la tecnologia in valutazione. Per la diagnostica degli steroidi in pazienti con PMOS, la LC-MS/MS mostra una specificità per il testosterone totale di 0,92 vs. 0,78 dell'immunometria, pur con sensibilità lievemente inferiore per alcuni androgeni (es. testosterone totale: 0,71 vs 0,74) e intervalli di confidenza ampi che non documentano una superiorità diagnostica generalizzata. Nei pazienti critici, la maggiore selettività migliora l'affidabilità del TDM di antibiotici e antiepilettici in presenza di interferenti endogeni e politerapie.

Rispetto alla LC-MS/MS tradizionale, *cobas*® *Mass Spec* aggiunge il vantaggio dell'automazione *end-to-end*, che riduce la variabilità pre- e post-analitica, migliora la standardizzazione inter-laboratorio e accorcia significativamente i tempi di refertazione (circa 6,8 volte, da 10h 37min a 1h 34min in uno studio multicentrico su 93 *workflow*), con impatto positivo sulla tempestività delle decisioni cliniche, soprattutto nei contesti di emergenza e terapia intensiva. Restano tuttavia incerti l'impatto diretto sulle decisioni cliniche gli esiti di salute per il paziente: la loro dimostrazione richiede studi prospettici condotti sulla piattaforma automatizzata nei percorsi assistenziali di riferimento.

Costo ed efficacia economica (ECO)

L'analisi economica è stata condotta dalla prospettiva di un centro trapiantologico ad alto volume italiano su un orizzonte temporale di cinque anni, considerando esclusivamente i costi sanitari diretti. Il modello comprende un modulo diagnostico (costi del TDM: strumentazione, reagenti, personale) e un modulo clinico (costi delle complicanze post-trapianto), ed è stato validato da un *Advisory Board* multidisciplinare composto da esperti di medicina di laboratorio, farmacologi clinici e ingegneri clinici.

Il costo totale per test di *cobas*® *Mass Spec Solution* è pari a € 25,90, superiore all'immunometria (€ 13,07) ma inferiore alla LC-MS/MS tradizionale (€ 30,40), grazie alla riduzione del tempo di esecuzione da 25 a 10 minuti per test, stima riferita agli immunosoppressori e conservativa

rispetto allo studio multicentrico che riporta una riduzione del tempo manuale operatore di circa 19 volte (costo personale: € 6,40 vs. € 16,00). I costi delle complicanze post-trapianto sono stati valorizzati mediante *microcosting* DRG SSN: il rigetto acuto rappresenta la voce più rilevante (€ 8.361 per episodio nel trapianto epatico, € 5.329 in quello renale).

La *Budget Impact Analysis* (BIA), condotta su una coorte di 200 pazienti/anno (100 trapianti renali, 100 epatici) su cinque anni, stima un potenziale risparmio per il SSN nello scenario modellizzato in entrambi i confronti: € 718.122 cumulati vs. immunometria (€ 718 per paziente) e € 480.955 vs. LC-MS/MS tradizionale (€ 481 per paziente), con un *trend* di risparmio crescente nel tempo. Le complicanze cliniche evitate nel quinquennio sono stimate in 267 (vs. immunometria) e 55 (vs. LC-MS/MS tradizionale).

Aspetti organizzativi (ORG)

L'introduzione della tecnologia nei laboratori clinici determina una trasformazione rilevante del modello organizzativo della MS clinica, avvicinandone il *workflow* operativo a quello delle piattaforme immunometriche automatizzate. Le principali criticità dell'attuale LC-MS/MS tradizionale (elevato impiego di tempo-uomo, dipendenza da personale ultra-specializzato, complessità preanalitica e limitata flessibilità per le urgenze) sono affrontate dall'automazione *end-to-end* della nuova piattaforma.

Il modello organizzativo atteso (TO BE) prevede una significativa riduzione delle attività manuali e del tempo tecnico manuale richiesto per test. Questo consente una potenziale riduzione dei tempi di refertazione, una migliore gestione dei picchi di attività e una maggiore continuità operativa, anche in un'ottica di estensione del servizio alle 24 ore. La piena realizzazione di tali benefici è tuttavia subordinata alla disponibilità delle risorse professionali necessarie, alla continuità della manutenzione e dell'assistenza tecnica, nonché alla disponibilità dei reagenti e delle piattaforme necessarie a garantire la continuità del processo. Il tempo uomo eventualmente liberato dall'automazione potrebbe inoltre essere riallocato verso attività a più alto valore aggiunto, quali il controllo qualità, il supporto clinico e l'implementazione di nuovi pannelli diagnostici. Il modello *hub & spoke* appare particolarmente coerente con l'introduzione della tecnologia, in quanto la centralizzazione dei volumi presso laboratori *hub* può favorire un maggiore utilizzo della piattaforma e, di conseguenza, la sostenibilità economica dell'investimento. Al contrario, volumi limitati potrebbero non consentire un adeguato livello di saturazione della tecnologia.

Le principali barriere implementative identificate includono l'investimento iniziale per acquisizione e adeguamento infrastrutturale, la necessità di formazione del personale e le sfide di interoperabilità con LIS, *middleware* e catene automatizzate esistenti. Tali criticità non sembrano insormontabili per i laboratori centralizzati ad alto volume, che rappresentano il target organizzativo più appropriato per la tecnologia. L'attuale sistema tariffario e i meccanismi di rimborso non distinguono in modo specifico le diverse modalità organizzative e tecnologiche attraverso cui la prestazione diagnostica viene erogata. In tale contesto, la disponibilità di evidenze che documentino il valore clinico ed economico dell'automazione associata alla spettrometria di massa è chiave per supportarne un'adozione sostenibile.

Executive summary (English version)

Health problem and current use of the technology (CUR)

This HTA evaluates the diagnostic value of cobas® Mass Spec Solution (cobas® i 601, Roche Diagnostics), a fully automated integrated liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) system, in three clinically complex settings: solid organ transplant recipients (kidney and liver), critically ill patients in intensive care units, and women with metabolic poly-endocrine ovarian syndrome (PMOS), previously referred to as polycystic ovary syndrome (PCOS).

In transplant patients, TDM of immunosuppressants (tacrolimus, cyclosporine, everolimus, sirolimus) is critical to prevent rejection and toxicity. In Italy, 2,367 kidney and 1,721 liver transplants were performed in 2024, with over 48,000 patients in active post-transplant follow-up. Immunoassay methods, which are currently used in Italian clinical laboratories, are subject to systematic cross-reactivity with drug metabolites, with documented overestimation of up to 20% for tacrolimus, leading to risks of iatrogenic under-dosing and acute rejection, or chronic overexposure and organ toxicity.

In critically ill ICU patients, rapid and accurate measurement of antibiotics (linezolid, vancomycin, meropenem, piperacillin) and antiepileptics is essential for real-time treatment personalisation and limitation of drug-related complications.

In women with PMOS, accurate quantification of plasma androgens (testosterone, androstenedione, DHEA, DHEAS, DHT) is fundamental for differential diagnosis and phenotypic classification, an area where immunoassay methods show significant sensitivity and specificity limitations at the low hormone concentrations typical of female patients.

Across all three settings, cobas® Mass Spec Solution represents an advanced technological response to organizational and process-related needs that remain partially unmet, in terms of automation, standardization, turnaround time (TAT), and accessibility.

Description and technical characteristics of technology (TEC)

cobas® Mass Spec Solution is a fully automated diagnostic platform integrating liquid chromatography and triple-quadrupole tandem mass spectrometry (QQQ-MS/MS) with electrospray ionisation (ESI) and Multiple Reaction Monitoring (MRM) acquisition in a single system. The instrument comprises four functional units: a random-access sample supply unit (SSU, up to 300 simultaneous samples with STAT access), an automated sample preparation unit (SPU) based on patented paramagnetic particle technology, an LC unit employing 8 parallel columns (though only 4 channels) (up to 100 injections per hour), and a triple-quadrupole MS unit.

The analytical portfolio is covered by Ionify® reagents, available for immunosuppressants, steroids, antiepileptics, antibiotics, vitamin D and, in a second launch wave, substances of abuse, antidepressants, and antipsychotics. The platform holds CE marking under Regulation (EU) 2017/746 (IVDR) as an in vitro diagnostic medical device (IVD). Reference comparators are

automated immunoassay platforms (CMIA, ECLIA, CLIA) and conventional LC-MS/MS with manual or semi-automated sample preparation.

Compared with conventional LC-MS/MS, cobas® Mass Spec fully automates the analytical phase, significantly reducing the manual intervention required for sample preparation and peak interpretation, thereby achieving reliable, standardised results through the elimination of operator-dependent variables. A multicentre study across 93 workflows in 7 international laboratories documented a turnaround time reduction of approximately 6.8-fold (1h 34min vs. 10h 37min) and a reduction in operator hands-on time of approximately 19-fold (5 min vs. 93 min).

Safety (SAF)

cobas® Mass Spec Solution shows a specificity and analytical accuracy profile superior to conventional immunoassay methods, owing to the greater capacity of LC-MS/MS to distinguish the parent drug from its metabolites. This translates into a reduced risk of inaccurate concentration measurements which, in the TDM of immunosuppressants, could lead to critically incorrect therapeutic decisions: chronic overdosing associated with nephrotoxicity, neurotoxicity, and opportunistic infections, or underdosing with a consequent risk of acute organ rejection.

Analytical validation data for the Ionify® Immunosuppressants reagents, conducted according to the CLSI EP05-A3 protocol over 84 determinations across 21 days, show for cyclosporine, everolimus, sirolimus, and tacrolimus repeatability coefficients of variation (CV) ranging from 1.7% to 5.3% and intermediate precision CVs ranging from 4.2% to 7.5%. Comparison by weighted Deming regression against traditional laboratory LC-MS/MS shows slopes ranging from 0.883 to 1.061 and intercepts close to zero (from −1.87 to −0.06 ng/mL; r 0.977-0.997), whereas comparison against automated immunoassay (Elecsys) shows slopes systematically below 1 (0.740-0.921), consistent with the known positive bias of immunoassay due to cross-reactivity with metabolites. In external ring trials (LGC), the median percentage bias remains relatively stable across the entire analytical range, including concentrations close to the medical decision points (MDPs): approximately −6% for cyclosporine, −3% for everolimus, +3% for sirolimus, and −10% for tacrolimus.

Automation of the analytical process reduces the operator-dependent sources of error typical of manual LC-MS/MS, improving occupational safety and limiting personnel exposure to chemical reagents. Quality control is integrated through continuous QC trend monitoring, autoverification algorithms under professional oversight, and RFID-tagged chromatography cartridges that reduce configuration errors. In the absence of direct RCTs on clinical endpoints, the available evidence plausibly supports a favorable indirect effect on patient safety through the reduction of dose-dependent complications associated with imprecise TDM, with a reduction in post-transplant complications estimated, conservatively, in the order of 10-20% compared with immunoassay-based protocols.

Clinical effectiveness (EFF)

The technology shows a favorable analytical performance profile across all three contexts evaluated, with analytical accuracy documented as superior to immunoassay and comparable to

reference traditional LC-MS/MS. For immunosuppressant TDM in transplant patients, analytical validations show intra- and inter-assay CVs predominantly below 10% (down to 6% for the fully automated panel), whereas immunoassay is burdened by a documented systematic bias — in particular an overestimation of concentrations due to cross-reactivity, up to 20% for tacrolimus, with a slope bias of 22-31% depending on the type of transplant.

The higher analytical specificity allows exclusive measurement of the active parent drug, correcting this systematic bias and supporting more precise dose adjustment. No experimental or observational studies with mortality or morbidity endpoints specifically attributable to the evaluated platform are currently available: the expected effect on the reduction of post-transplant complications (conservatively estimated in the order of 10-20% versus immunoassay) is hypothesized indirectly, based on the known association between greater time within the therapeutic range and improved clinical outcomes, rather than on data generated directly with the technology under evaluation. For steroid testing in patients with PCOS, LC-MS/MS shows a specificity for total testosterone of 0.92 versus 0.78 for immunoassay, albeit with slightly lower sensitivity for some androgens (e.g., total testosterone: 0.71 vs. 0.74) and wide confidence intervals that do not document a generalized diagnostic superiority. In critically ill patients, the greater selectivity improves the reliability of antibiotic and antiepileptic TDM in the presence of endogenous interferents and polypharmacy.

Compared with traditional LC-MS/MS, cobas® Mass Spec adds the advantage of end-to-end automation, which reduces pre- and post-analytical variability, improves inter-laboratory standardization, and significantly shortens turnaround times (approximately 6.8-fold, from 10h 37min to 1h 34min in a multicenter study across 93 workflows), with a positive impact on the timeliness of clinical decisions, particularly in emergency and intensive care settings. However, the direct impact on clinical decisions and patient health outcomes remains uncertain: demonstrating this requires prospective studies conducted on the automated platform within reference care pathways.

Cost and economic evaluation (ECO)

The economic analysis was conducted from the perspective of a high-volume Italian transplant centre over a five-year time horizon, considering only direct healthcare costs. The model comprises a diagnostic module (TDM costs: equipment, reagents, personnel) and a clinical module (post-transplant complication costs), and was validated by a multidisciplinary Advisory Board of laboratory medicine experts, clinical pharmacologists, and clinical engineers.

The total cost per test for cobas® Mass Spec Solution is €25.90, higher than immunoassay (€13.07) but lower than conventional LC-MS/MS (€30.40), owing to the reduction in average test execution time from 25 to 10 minutes for immunosuppressant testing, a conservative estimate relative to the multicentre study reporting an approximately 19-fold reduction in operator hands-on time (personnel cost: €6.40 vs. €16.00). Post-transplant complication costs were estimated using Italian NHS DRG-based microcosting, with acute rejection as the highest unit cost item (€8,361 per episode for liver transplantation, €5,329 for kidney transplantation).

The Budget Impact Analysis (BIA), conducted on a cohort of 200 patients/year (100 kidney, 100 liver transplants) over five cumulative years, demonstrates net savings for the NHS in both

comparisons: €718,122 cumulative vs. immunoassay (€718 per patient) and €480,955 vs. conventional LC-MS/MS (€481 per patient), with a growing savings trend over time. Clinical complications avoided over five years are estimated at 267 (vs. immunoassay) and 55 (vs. conventional LC-MS/MS). Deterministic sensitivity analysis (±20% variation of key parameters) confirms the robustness of savings across all tested scenarios.

Organisational aspects (ORG)

The introduction of the technology into clinical laboratories brings about a significant transformation of the clinical MS organisational model, aligning its operational workflow more closely with that of automated immunoassay platforms. The main limitations of conventional LC-MS/MS (high hands-on time, dependence on highly specialised staff, pre-analytical complexity, and limited flexibility for urgent requests) are addressed by the end-to-end automation of the new platform.

The expected future (TO BE) organisational model foresees a significant reduction in manual activities and in the manual technical time required per test. This also enables a reduction in reporting turnaround times, in addition to better management of activity peaks, greater 24/7 operational continuity, and reallocation of freed time towards higher value-added activities (quality control, clinical support, implementation of new diagnostic panels). The hub & spoke model is considered most consistent with the technology, with centralisation of high-volume activities at reference hub laboratories.

The expected organizational model (TO BE) envisages a significant reduction in manual activities and in the manual technical time required per test. This allows for a potential reduction in turnaround times, improved management of activity peaks, and greater operational continuity, also with a view to extending the service to 24-hour operation. However, the full realization of these benefits is contingent on the availability of the necessary professional resources, continuity of maintenance and technical support, as well as the availability of the reagents and platforms needed to ensure process continuity. The human time potentially freed up by automation could also be reallocated to higher-value-added activities, such as quality control, clinical support, and the implementation of new diagnostic panels. The hub-and-spoke model appears particularly coherent with the introduction of this technology, as centralizing volumes at hub laboratories can promote greater utilization of the platform and, consequently, the economic sustainability of the investment. Conversely, limited volumes might not allow for an adequate level of technology saturation.

The main implementation barriers identified include the initial investment for acquisition and infrastructure adaptation, the need for staff training, and interoperability challenges with existing LIS, middleware, and automated track systems. These challenges do not appear insurmountable for centralised high-volume laboratories, which represent the most appropriate organisational target. The current NHS tariff framework does not fully reflect the added value of automated MS over conventional immunoassay, representing a constraint on the economic sustainability of adoption in low-volume settings.

Introduzione e obiettivo

Il gruppo di ricerca di ALTEMS Advisory, *spin-off* dell'Università Cattolica del Sacro Cuore - Sede di Roma, ha prodotto il seguente report di Health Technology Assessment (HTA), che consiste in un'analisi multidimensionale di *cobas*® *Mass Spec Solution* per la valutazione del suo valore nei principali contesti clinici ad elevata complessità.

Il documento intende offrire una panoramica del potenziale impatto che l'utilizzo di questa tecnologia potrebbe avere nella gestione della patologia e sul Servizio Sanitario Nazionale (SSN), con particolare riferimento agli aspetti organizzativi ed economici.

A tal fine, è stata condotta una revisione della letteratura scientifica disponibile. Le evidenze sono state selezionate secondo criteri di inclusione prestabiliti e organizzati in base ai principali 6 domini dell'HTA, seguendo il framework dell'*European Network for Health Technology Assessment* (EUnetHTA) *Core Model*® (versione 3.0). Nel corso dello sviluppo del documento, le evidenze raccolte sono state sottoposte a una valutazione approfondita da parte di un gruppo multidisciplinare di esperti, il cui contributo ha permesso di arricchire l'analisi, fornire interpretazioni alternative e garantire una lettura completa e articolata dei risultati.

Il documento si compone dei seguenti capitoli:

- Problema di salute e uso corrente della tecnologia (CUR);
- Descrizione e caratteristiche tecniche della tecnologia (TEC);
- Sicurezza (SAF);
- Efficacia Clinica (EFF);
- Costi e valutazione economica (ECO);
- Aspetti organizzativi (ORG).

L'obiettivo del presente report è analizzare in modo sistematico e multidimensionale la tecnologia *cobas*® *Mass Spec Solution*. Attraverso l'utilizzo della metodologia HTA, l'analisi mira a valutare l'efficacia clinica e il profilo di sicurezza della stessa, integrando tali evidenze con considerazioni di natura economica ed organizzativa. La finalità è fornire una base conoscitiva rigorosa, contestualizzata al sistema sanitario italiano, a supporto delle decisioni strategiche relative alla potenziale adozione e diffusione della tecnologia, garantendo al contempo un uso appropriato delle risorse e una risposta mirata a bisogni clinici attualmente insoddisfatti. L'analisi è condotta in piena indipendenza scientifica, attraverso la raccolta delle evidenze cliniche, lo sviluppo di modelli economici e il coinvolgimento di diversi *stakeholder* in un processo di validazione dei risultati.

L'obiettivo del presente report è analizzare in modo sistematico e multidimensionale la tecnologia *cobas*® *Mass Spec Solution*. Attraverso l'utilizzo della metodologia HTA, l'analisi mira a valutare l'efficacia clinica e il profilo di sicurezza della stessa, integrando tali evidenze con considerazioni di natura economica ed organizzativa. La finalità è fornire una base conoscitiva rigorosa, contestualizzata al sistema sanitario italiano, a supporto delle decisioni strategiche relative alla potenziale adozione e diffusione della tecnologia, garantendo al contempo un uso appropriato delle risorse e una risposta mirata a bisogni clinici attualmente insoddisfatti. L'analisi è condotta in piena indipendenza scientifica, attraverso la raccolta delle evidenze cliniche, lo

sviluppo di modelli economici e il coinvolgimento di diversi *stakeholder* in un processo di validazione dei risultati.

In questo contesto metodologico, la selezione delle popolazioni target incluse nella presente valutazione è stata condotta sulla base delle applicazioni cliniche per cui la spettrometria di massa (MS) risulta tecnologicamente idonea, individuando i contesti in cui essa può apportare un beneficio clinico, organizzativo ed economico rilevante rispetto ai metodi diagnostici convenzionali. L'individuazione delle tre aree, pazienti trapiantati, pazienti critici e donne affette da sindrome ovarica poliendocrina metabolica (PMOS), risponde alla necessità di rappresentare ambiti caratterizzati da un'elevata complessità clinica e da un fabbisogno analitico specifico, in cui l'accuratezza e la riproducibilità delle misurazioni laboratoristiche assumono un ruolo determinante per l'appropriatezza delle decisioni cliniche. Nei pazienti sottoposti a trapianto d'organo, la gestione della terapia immunosoppressiva richiede un monitoraggio terapeutico dei farmaci (*Therapeutic Drug Monitoring*, TDM) altamente accurato, al fine di garantire un equilibrio ottimale tra efficacia e tossicità. In tale contesto, la MS rappresenta il *gold standard* per la quantificazione dei farmaci immunosoppressori (ad esempio tacrolimus, ciclosporina, sirolimus, everolimus), consentendo una maggiore specificità rispetto ai metodi immunometrici, spesso soggetti a interferenze dovute a metaboliti o cross-reattività anticorpale. L'impiego di tale tecnologia nei laboratori di riferimento per i centri trapianto può contribuire a ridurre eventi avversi, ottimizzare le dosi farmacologiche e migliorare la sopravvivenza dell'organo trapiantato. Per quanto riguarda i pazienti critici, ricoverati in unità di terapia intensiva o reparti ad alta intensità di cura, la rapidità, la precisione e l'affidabilità dei risultati laboratoristici costituiscono elementi essenziali per supportare decisioni cliniche in tempo reale. In questo setting, la MS offre la possibilità di misurare con elevata accuratezza concentrazioni plasmatiche di farmaci, biomarcatori e metaboliti, migliorando la capacità di personalizzare i trattamenti farmacologici (antibiotici, sedativi, farmaci vasoattivi) e di monitorare lo stato metabolico del paziente. L'adozione di questa tecnologia in tali contesti può quindi generare un impatto positivo sulla prognosi, sulla durata della degenza e sull'uso appropriato delle risorse sanitarie. Infine, nelle donne affette da PMOS, la caratterizzazione del profilo ormonale costituisce un elemento centrale per la diagnosi differenziale e la definizione del percorso terapeutico. I metodi immunometrici tradizionali presentano limiti significativi in termini di sensibilità e specificità nella quantificazione di ormoni steroidei, soprattutto a basse concentrazioni. La MS consente una determinazione simultanea e accurata di più ormoni (ad esempio testosterone, androstenedione, deidroepiandrosterone solfato, 17-OH-progesterone), riducendo il rischio di interferenze analitiche e migliorando la precisione diagnostica. Ciò può contribuire a una più adeguata classificazione fenotipica delle pazienti e a una maggiore appropriatezza degli interventi clinici. La selezione di queste tre popolazioni risponde quindi a criteri di rilevanza clinica, potenziale impatto sulla pratica laboratoristica e significatività economico-organizzativa, fornendo una rappresentazione bilanciata dei principali contesti in cui la tecnologia di MS proposta da Roche Diagnostics può esprimere il massimo valore aggiunto. Tale impostazione consente di articolare la successiva analisi secondo un approccio comparativo e multidimensionale, in linea con le finalità di una valutazione HTA orientata al supporto decisionale.

Metodi

Revisione della letteratura

Domanda di ricerca

La domanda di ricerca è stata formulata utilizzando il modello PICO, che include la popolazione dello studio (P), l'intervento in fase di valutazione (I), il comparatore (C) e l'esito di interesse (O). Sono stati costruiti tre diversi PICO, ciascuno relativo a una popolazione distinta: pazienti trapiantati, pazienti critici e pazienti affette da PMOS. Per ognuna di queste popolazioni sono stati definiti *outcome* specifici e differenziati in base alle peculiarità cliniche. Le **Tabelle 1**, **2** e **3** riportano i tre modelli PICO elaborati, che costituiscono la base della presente ricerca.

Tabella 1 – PICO 1: Pazienti trapiantati

Popolazione	**Pazienti sottoposti a trapianto**
Intervento	*cobas*® *Mass Spec Solution*
Comparatori	Dosaggi immunometrici (ELISA, CLIA)
Outcome	Specificità, Sensibilità, Accuratezza del dosaggio vs LC-MS/MS
	% di campioni in target terapeutico
	Riduzione falsi positivi/negativi
	Potenziale impatto su riduzione rigetti/tossicità
	TAT, *Hand-on-time*, *Throughput* (campioni/ora)

Tabella 2 – PICO 2: Pazienti critici (terapia intensiva)

Popolazione	**Pazienti critici**
Intervento	*cobas*® *Mass Spec Solution*
Comparatori	Dosaggi immunometrici (ELISA, CLIA) LC-MS/MS GC-MS
Outcome	Specificità, Sensibilità, Accuratezza quantitativa vs IA o GC-MS
	TAT in ICU/DEA
	Riduzione invii esterni
	Costo/test in *setting* d'urgenza

Tabella 3 – PICO 3: Pazienti affette da PMOS

Popolazione	**Pazienti affette da PMOS**
Intervento	*cobas*® *Mass Spec Solution*
Comparatori	Dosaggi immunometrici (ELISA, CLIA) LC-MS/MS
Outcome	Specificità, Sensibilità, Accuratezza diagnostica rispetto allo standard clinico

	Concordanza diagnostica (criteri di Rotterdam/NIH)
	Riclassificazione di pazienti *borderline*
	Riduzione test ripetuti/esami aggiuntivi

Strategia di ricerca

Nell'ambito del progetto è stata condotta una revisione della letteratura scientifica attualmente disponibile e i risultati sono stati ulteriormente arricchiti con fonti di letteratura grigia e prove scientifiche identificate tramite una ricerca manuale, seguendo un elenco *standard* di fonti istituzionali e *database* specializzati.

Per raccogliere le prove necessarie per una valutazione completa della tecnologia in esame, a settembre 2025 sono state lanciate tre stringhe di ricerca, definite sulla base dei modelli PICO delineati, nei principali *database* scientifici (**Appendice 1**). È stato applicato esclusivamente un filtro temporale, considerando gli ultimi 15 anni, un orizzonte ritenuto adeguato a garantire la comparabilità degli studi inclusi con l'attuale standard tecnologico (LC-MS/MS) e con i criteri diagnostici e i percorsi clinico-organizzativi correntemente in uso, escludendo al contempo la letteratura relativa a tecnologie o pratiche cliniche non più rappresentative del contesto attuale.

Fonti di informazione

La banca dati utilizzata è stata PubMed.

Processo di selezione

La selezione della letteratura è stata condotta attraverso un processo strutturato e articolato in più fasi. È stato effettuato uno *screening* iniziale di titoli e *abstract* mediante la piattaforma Rayyan. Gli articoli ritenuti potenzialmente eleggibili sono stati quindi esportati in un foglio di calcolo Excel® e analizzati in *full text*, al fine di identificare gli studi da includere nella revisione.

Le evidenze scientifiche individuate sono state verificate rispetto ai criteri di esclusione sotto elencati; l'inclusione nella valutazione è stata disposta esclusivamente in assenza di corrispondenza con uno o più di tali criteri:

- Studi duplicati;
- Studi riguardanti una tecnologia o dei comparatori diversi da quelli oggetto di valutazione;
- Studi relativi a condizioni cliniche non oggetto di analisi;
- Studi condotti su una popolazione non in linea con quella di interesse;
- Studi che non riportano alcun *outcome* di interesse;
- Studi condotti in Paesi non oggetto di indagine;
- Tipologie di studio non rilevanti ai fini dell'analisi (editoriali, studi preclinici);
- Informazioni insufficienti riportate nello studio rispetto ad almeno uno degli aspetti oggetto di valutazione;
- *Abstract* o *full text* non disponibili;
- Studi non pubblicati in lingua inglese o italiana.

I risultati della revisione della letteratura sono stati successivamente analizzati e classificati secondo i domini previsti dall'*HTA Core Model*® 3.0 di EUnetHTA. In particolare, le evidenze sono state assegnate ai domini relativi a: problema di salute e uso corrente della tecnologia (CUR), descrizione e caratteristiche tecniche (TEC), sicurezza (SAF), efficacia clinica (EFF), costi ed efficacia economica (ECO) e aspetti organizzativi (ORG).

L'assegnazione delle evidenze ai diversi domini è avvenuta sulla base della loro rilevanza rispetto ai quesiti di ricerca definiti, garantendo una valutazione sistematica e coerente con il *framework* metodologico di riferimento.

Analisi economica

L'analisi economica è stata articolata attorno allo sviluppo di un modello di *Budget Impact Analysis* (BIA), costruito in Microsoft Excel da ALTEMS Advisory e validato da un *Advisory Board* multidisciplinare. Il modello adotta la prospettiva di un centro trapiantologico italiano ad alto volume, su un orizzonte temporale di cinque anni, e confronta l'introduzione di *cobas*® *Mass Spec Solution* con due comparatori: le metodiche immunometriche (CMIA, ECLIA, CLIA) e la MS tradizionale (LC-MS/MS manuale), nel contesto del TDM degli immunosoppressori nei pazienti sottoposti a trapianto renale ed epatico.

Il modello è strutturato in due moduli complementari:

1) un modulo diagnostico, che quantifica i costi del TDM nelle sue componenti di noleggio/manutenzione della strumentazione, reagenti e risorse umane (queste ultime stimate in funzione del tempo di esecuzione per test, pari a circa 10 minuti per la piattaforma automatizzata contro i 25 minuti della LC-MS/MS manuale); e,

2) un modulo clinico, che stima l'impatto della qualità analitica del metodo TDM sull'incidenza delle complicanze post-trapianto dose-dipendenti (rigetto acuto, nefrotossicità, neurotossicità, infezioni opportunistiche), i cui costi sono stati stimati mediante un approccio di *microcosting* integrato con le tariffe *Diagnosis-Related Groups* (DRG) del SSN.

Gli esiti sanitari sono stati quantificati in termini di complicanze cliniche evitate, a partire dalle probabilità di incidenza riportate in letteratura per il gruppo di controllo (immunometria) e dalle riduzioni attese in funzione della maggiore accuratezza analitica della MS, con un moltiplicatore incrementale applicato alla piattaforma automatizzata per riflettere i benefici organizzativi legati alla maggiore tempestività del *workflow* analitico. Non è stato sviluppato un modello esplicito di costo-efficacia; il confronto tra le tecnologie è stato pertanto condotto in termini di costo-conseguenza, mettendo in relazione il differenziale di costo diagnostico con i risparmi attesi a valle del percorso clinico.

La robustezza del modello è stata verificata mediante un'analisi di sensibilità deterministica (DSA), con variazione del ±20% dei principali parametri rispetto al caso base.

Risultati

Revisione della letteratura

In data 25 settembre 2025, la strategia di ricerca ha identificato un totale di:

- 170 *records* per la stringa dei pazienti trapiantati, di cui, in base ai criteri di esclusione sopra definiti, sono stati esclusi dalla prima valutazione un totale di 116 *records* per le seguenti motivazioni: risultato non oggetto di indagine (77); popolazione non oggetto di indagine (27); tecnologia non oggetto di indagine (9); tipologia di studio non oggetto di indagine (3);
- 853 *records* per la stringa dei pazienti critici. In base ai criteri di esclusione sopra definiti, sono stati esclusi dalla prima valutazione un totale di 808 *records* per le seguenti motivazioni: risultato non oggetto di indagine (227); popolazione non oggetto di indagine (527); tecnologia non oggetto di indagine (9); tipologia di studio non oggetto di indagine (34); Paese non oggetto di indagine (11);
- 42 *records* per la stringa delle pazienti affette da PMOS. In base ai criteri di esclusione sopra definiti, sono stati esclusi dalla prima valutazione un totale di 20 *records* per le seguenti motivazioni: risultato non oggetto di indagine (10); popolazione non oggetto di indagine (8); tipologia di studio non oggetto di indagine (1); Paese non oggetto di indagine (1).

Nel secondo *screening*, secondo gli stessi criteri di esclusione, sono stati esclusi un totale di:

- Ulteriori 32 studi per la stringa dei pazienti trapiantati;
- Ulteriori 26 studi per la stringa dei pazienti critici;
- Ulteriori 9 studi per la stringa delle pazienti affette da PMOS.

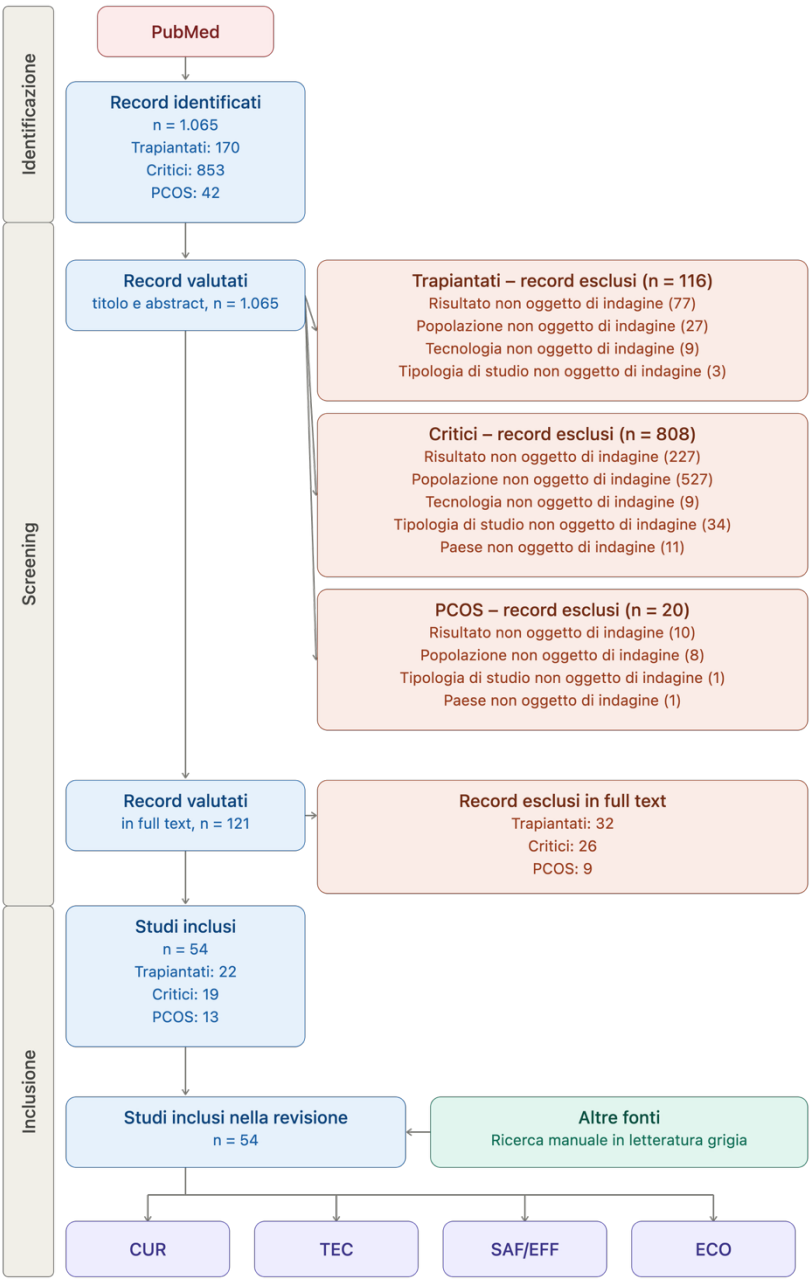
In conclusione, sono stati inclusi nella revisione un totale di:

- 22 studi per la stringa dei pazienti trapiantati;
- 19 studi per la stringa dei pazienti critici;
- 13 studi per la stringa delle pazienti affette da PMOS.

Successivamente, le evidenze sono state distribuite nei seguenti domini: CUR, TEC, SAF/EFF, ECO; alcuni studi sono stati assegnati a più di un dominio. Inoltre, è stata condotta una ricerca manuale della letteratura e alcuni documenti sono stati forniti direttamente dall'azienda

La **Figura 1** presenta il diagramma di flusso PRISMA 2020 (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) relativo alla ricerca della letteratura scientifica.

Figura 1 – *PRISMA model*. Schema illustrativo del processo di revisione della letteratura



Dominio CUR
Problema di salute e uso attuale della tecnologia

Topic & Issue del dominio

Problema di salute e uso attuale della tecnologia (CUR)

Tabella 4 – *Topic & Issue* Problema clinico e gestione corrente della tecnologia (CUR)

Topic	*Issue*	*Assessment element ID*
Popolazione Target	Qual è la popolazione target di questa valutazione?	A0007
	Quante persone appartengono alla popolazione target?	A0023
Condizione Target	Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione?	A0002
	Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute?	A0003
	Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute?	A0004
	Quali sono i sintomi e il peso della malattia o della condizione di salute per il paziente?	A0005
Gestione attuale della patologia	Quali sono le altre alternative tipiche o comuni alla tecnologia attuale?	A0018
	Come viene attualmente diagnosticata la malattia o la condizione di salute secondo le linee guida pubblicate e nella pratica?	A0024
	Come viene gestita attualmente la malattia o la condizione di salute secondo le linee guida pubblicate e nella pratica?	A0025
Utilizzo	Per quali condizioni di salute e popolazioni e per quali scopi viene utilizzata la tecnologia?	A0001

PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO

1. Popolazione target

A007 – Qual è la popolazione target di questa valutazione?

La popolazione target della presente valutazione comprende pazienti adulti che hanno ricevuto un trapianto di fegato o di rene. Questa categoria rappresenta un gruppo clinicamente rilevante, in quanto è caratterizzata da specifiche esigenze di gestione terapeutica, *follow-up* e prevenzione delle complicanze post-trapianto, quali il rigetto dell'organo, le infezioni opportunistiche e le alterazioni metaboliche legate alla terapia immunosoppressiva (1,2).

A0023 – Quante persone appartengono alla popolazione target?

I pazienti trapiantati di fegato o di rene rappresentano una quota molto rilevante del totale delle persone che oggi vivono grazie a un trapianto in Italia. Secondo i dati più recenti, nel corso del 2025 sono oltre 48.000 le persone in *follow-up* post-trapianto, assistite nei 97 centri attivi a livello nazionale (3). All'interno di questa popolazione, la maggioranza è composta proprio da trapiantati di rene e di fegato, che insieme costituiscono le due tipologie di trapianto più frequenti nel Paese. Nel 2024, anno record per l'attività trapiantologica in Italia (**Tabella 5**), sono stati realizzati 2.367 trapianti di rene (+5,5% rispetto al 2023) e 1.721 trapianti di fegato (+1,2%) (4,5).

Tabella 5 – Attività di trapianto di organi in Italia nell'anno 2024 (5)

Organo trapiantato	Trapianti da donatore deceduto	Trapianti da donatore vivente	Totale trapianti
Rene	2.031	336	2.367
Fegato	1.691	30	1.721
Cuore	413	-	413
Pancreas	35	-	35
Polmone	174	-	174
Intestino	1	-	1
Attività complessiva trapianto	**4.276**	**366**	**4.642**

2. Condizione target

A0002 – Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione?

Il trapianto di fegato e di rene rappresenta un trattamento salvavita per pazienti affetti da grave insufficienza d'organo, una condizione clinica irreversibile nella quale la funzionalità epatica o

renale è compromessa in modo tale da non poter essere più mantenuta con le sole terapie mediche o di supporto.

Nel caso del rene, l'indicazione principale è l'insufficienza renale cronica terminale, stadio finale di numerose patologie nefrologiche (come glomerulonefriti, nefropatie diabetiche, ipertensive o genetiche), in cui la perdita progressiva della funzione filtrante rende necessario il ricorso alla dialisi o al trapianto per garantire la sopravvivenza del paziente. Il trapianto renale consente di ripristinare una funzione renale fisiologica, migliorando la qualità e l'aspettativa di vita e riducendo le complicanze legate alla dialisi prolungata. Per quanto riguarda il fegato, l'indicazione principale è l'insufficienza epatica terminale, acuta o cronica, derivante da epatopatie evolutive (come cirrosi virali, alcoliche o autoimmuni), da epatocarcinoma in fase iniziale o da insufficienze epatiche fulminanti. In tali casi, la perdita della funzione metabolica, detossificante e sintetica dell'organo comporta gravi squilibri sistemici incompatibili con la vita, rendendo il trapianto l'unica opzione terapeutica efficace.

In entrambi i casi, si tratta di condizioni cliniche gravi e progressive, che determinano una compromissione sostanziale delle funzioni vitali e per le quali il trapianto rappresenta l'unica opzione terapeutica efficace (6). Tuttavia, l'esito favorevole del trapianto non elimina la necessità di una gestione clinica continuativa: nel periodo post-trapianto, il paziente richiede una terapia immunosoppressiva cronica per prevenire il rigetto d'organo, caratterizzata da una finestra terapeutica ristretta in cui il sottodosaggio espone al rischio di rigetto ed il sovradosaggio a tossicità sistemica. Il monitoraggio accurato e tempestivo dell'esposizione a tali farmaci rappresenta pertanto un elemento clinico critico nella gestione del paziente trapiantato.

A0003 – Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute?

I principali fattori di rischio che conducono alla necessità di un trapianto di rene coincidono con le condizioni patologiche che determinano un'evoluzione verso la malattia renale cronica in stadio avanzato (*End-Stage Renal Disease*, ESRD), nella quale il danno d'organo diventa irreversibile e incompatibile con la sopravvivenza senza trattamento sostitutivo. Il trapianto renale rappresenta oggi la terapia più efficace per l'insufficienza renale cronica terminale o uremia, potendo essere effettuato anche in modalità *pre-emptive*, ossia prima del ricorso alla dialisi. I principali fattori di rischio includono il diabete mellito e l'ipertensione arteriosa, che rappresentano le cause più frequenti a livello mondiale in quanto responsabili di un progressivo deterioramento della funzione glomerulare e della perdita irreversibile di nefroni. A questi si aggiungono altri fattori di rischio sistemici e metabolici, quali dislipidemia, obesità e malattie cardiovascolari, che concorrono a peggiorare il danno renale e accelerano la progressione verso l'insufficienza terminale (7,8).

Analogamente, anche il trapianto di fegato rappresenta l'esito finale di un processo patologico in cui il danno epatico diviene irreversibile, acuto o cronico, compromettendo in modo definitivo la funzione metabolica e sintetica dell'organo. Le condizioni che possono condurre alla necessità di un trapianto di fegato comprendono tutte le patologie in grado di determinare un danno epatico irreversibile. Tra queste, un ruolo di primaria importanza è ricoperto dall'insufficienza epatica non

reversibile, che rappresenta l'indicazione principale al trapianto. Essa può manifestarsi come forma acuta fulminante, conseguente a epatiti virali, intossicazioni da farmaci o sostanze tossiche, ischemie o disordini metabolici, oppure come evoluzione terminale di epatopatie croniche di varia origine. Nell'ambito delle patologie croniche, la cirrosi epatica costituisce il fattore di rischio più comune, indipendentemente dalla sua eziologia: alcolica, virale (virus dell'epatite B, C e D – HBV, HCV, HDV), autoimmune o metabolica (come nella steatoepatite non alcolica o nella malattia di Wilson). Anche la presenza di epatocarcinoma non resecabile può rappresentare una condizione di rischio per l'indicazione al trapianto, in quanto associata a una compromissione strutturale e funzionale dell'organo. L'eleggibilità del paziente al trapianto rimane tuttavia soggetta a valutazione accurata secondo criteri oncologici e trapiantologici definiti.

Ulteriori fattori che possono rendere necessario l'intervento trapiantologico includono le malattie colestatiche croniche, come la colangite sclerosante primitiva (PSC) e la cirrosi biliare primitiva (PBC), nonché le malattie congenite o ereditarie quali la malattia policistica epatica e alcune forme di epatopatia infiltrativa o vascolare. Infine, la concomitanza di insufficienza renale cronica, nei casi di trapianto combinato fegato-rene, costituisce un elemento aggravante del quadro clinico e un ulteriore fattore di rischio per l'inclusione in lista trapianto (9).

A0004 – Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute?

Il decorso naturale a seguito di trapianto di rene è caratterizzato da un andamento cronico che riflette l'interazione tra la funzione dell'organo trapiantato, la risposta immunologica dell'organismo ricevente e l'evoluzione delle comorbidità preesistenti. In una prima fase, il paziente attraversa un periodo di stabilizzazione della funzione renale, durante il quale si monitora attentamente la ripresa del filtrato glomerulare e si regolano le terapie immunosoppressive per prevenire episodi di rigetto acuto. Successivamente, il decorso si evolve in una fase di mantenimento, in cui l'obiettivo principale è preservare nel tempo la funzionalità del *graft* e prevenire complicanze tardive, come il rigetto cronico, le infezioni opportunistiche e le patologie cardiovascolari, che rappresentano una causa rilevante di morbilità e mortalità nei soggetti trapiantati.

La durata dell'insufficienza renale terminale e l'eventuale esposizione alla dialisi prima del trapianto influenzano in modo significativo l'evoluzione post-operatoria. Un periodo limitato o nullo di dialisi non sembra avere effetti negativi sulla sopravvivenza del rene trapiantato né su quella del paziente, mentre un'esposizione prolungata alla terapia dialitica si associa a un aumento del rischio di perdita del *graft* e di mortalità, con un impatto che diventa rilevante oltre i sei mesi di dialisi e tende a stabilizzarsi dopo alcuni anni. Questo andamento può essere ricondotto alla progressiva perdita della funzione renale residua e all'accumulo di comorbidità correlate alla malattia renale cronica e al trattamento sostitutivo. Nel lungo termine, la funzione dell'organo trapiantato tende gradualmente a ridursi per effetto di processi immunologici, tossicità farmacologica e danno vascolare cronico, determinando un progressivo peggioramento della funzione renale che, in alcuni casi, può condurre alla perdita del trapianto. Complessivamente, tuttavia, il trapianto di rene rappresenta un evento che modifica in modo sostanziale la storia naturale della malattia renale terminale, garantendo una sopravvivenza e una

qualità di vita nettamente superiori rispetto alla prosecuzione della dialisi cronica (10,11). In modo analogo, il decorso clinico del trapianto di fegato è caratterizzato da un'evoluzione complessa ma generalmente favorevole, che riflette il delicato equilibrio tra la ripresa funzionale dell'organo trapiantato, la risposta immunitaria del ricevente e l'impatto delle condizioni cliniche sottostanti. Dopo l'intervento, il paziente attraversa una fase iniziale di recupero della funzione epatica, durante la quale si assiste alla progressiva normalizzazione dei parametri biochimici e alla stabilizzazione emodinamica, mentre la terapia immunosoppressiva viene modulata per prevenire episodi di rigetto acuto e limitare la tossicità farmacologica. Superata la fase post-operatoria precoce, il decorso evolve verso una condizione di equilibrio clinico a lungo termine, in cui l'attenzione è rivolta al mantenimento della funzione epatica, alla prevenzione del rigetto cronico e alla gestione delle complicanze metaboliche, cardiovascolari e infettive correlate al trattamento immunosoppressivo. Nel tempo, la funzionalità del fegato trapiantato tende a stabilizzarsi, garantendo nella maggior parte dei casi un netto miglioramento della sopravvivenza e della qualità di vita rispetto alla condizione pre-trapianto. Nel lungo periodo, la prognosi dei pazienti trapiantati di fegato è generalmente favorevole, con tassi di sopravvivenza elevati a uno, cinque e dieci anni dall'intervento. Tuttavia, la presenza di comorbidità, la recidiva della patologia epatica di base, le infezioni opportunistiche e gli effetti collaterali della terapia immunosoppressiva possono condizionare l'andamento clinico e la durata della funzione del *graft*. Nonostante ciò, il trapianto epatico modifica profondamente la storia naturale della malattia epatica terminale, consentendo una *restitutio ad integrum* funzionale e una prospettiva di vita significativamente più lunga e qualitativamente migliore rispetto a qualsiasi altra opzione terapeutica disponibile (12).

A0005 – Quali sono i sintomi e la gravità della malattia o condizione di salute per il paziente?

Una delle complicanze più rilevanti del periodo post-operatorio è il rigetto, che rappresenta l'evento clinico più serio e potenzialmente pericoloso. Il rigetto può determinare un rapido deterioramento della funzione dell'organo trapiantato e richiede un intervento tempestivo per evitare danni irreversibili.

Il rigetto può avvenire in momenti diversi dopo il trapianto. In base al tempo in cui si verifica, si distinguono:

- Rigetto iperacuto (compare da qualche minuto a poche ore dopo il trapianto);
- Rigetto acuto (avviene da qualche giorno a poche settimane dopo il trapianto);
- Rigetto cronico (si manifesta da alcuni mesi fino a diversi anni dopo il trapianto).

I meccanismi che determinano le varie tipologie di rigetto sono diversi e possono essere legati alla presenza/produzione di anticorpi (rigetto umorale) e/o dall'attivazione diretta di cellule del sistema immunitario, i linfociti (rigetto cellulare). Nel caso del rigetto cronico la causa è, probabilmente, multifattoriale ed è legata a meccanismi immunitari e non (tossicità ai farmaci, ischemia cronica, ripetuti attacchi immunitari precedenti di rigetto acuto) (13).

In Europa, per il trapianto di rene, circa il 15% dei pazienti sperimenta rigetto acuto entro il primo anno, e la perdita del trapianto dovuto a rigetto è responsabile di circa il 50% dei casi di perdita

dell'organo. Negli Stati Uniti, i tassi di rigetto risultano simili, con incidenza iniziale del 15-25% nel primo anno post-trapianto sia per rene che fegato. In Italia, la percentuale di fallimento a 10 anni per il trapianto renale è di circa il 40% con meccanismi di rigetto anticorpo-mediato che spiegano il 70% delle cause di perdita di funzione del rene trapiantato (14,15)

Accanto al rischio di rigetto, i pazienti trapiantati di rene possono manifestare una vasta gamma di sintomi fisici e psicologici che incidono sul benessere generale e sulla qualità di vita. Tra i disturbi più frequenti si riscontrano perdita o indebolimento dei capelli, tremori alle mani, aumento dell'appetito, stanchezza persistente, difficoltà di concentrazione e di memoria, dolori articolari e muscolari, alterazioni del gusto e disturbi visivi. Sono comuni anche modificazioni dell'aspetto fisico, come gonfiore del viso, aumento di peso, crescita eccessiva dei peli e fragilità della pelle, spesso correlate agli effetti collaterali della terapia immunosoppressiva, indispensabile per prevenire il rigetto dell'organo trapiantato. A questi sintomi si possono aggiungere disturbi psicologici quali ansia, irritabilità, insonnia, calo del desiderio sessuale e alterazioni dell'umore, che talvolta aggravano la percezione di malessere fisico. L'intensità e la gravità dei sintomi variano in base a molteplici fattori, tra cui il tempo trascorso dal trapianto, la presenza di complicanze cliniche, il numero e la tipologia di farmaci assunti, nonché le caratteristiche personali e la capacità individuale di adattamento. In alcuni casi, la molteplicità dei sintomi e il disagio percepito possono compromettere l'aderenza terapeutica, creando un circolo vizioso tra peggioramento del benessere e riduzione dell'efficacia del trattamento. Nel complesso, la condizione post-trapianto renale richiede una gestione attenta e continuativa, che integri il controllo clinico dei sintomi con un adeguato supporto psicologico e un monitoraggio costante della risposta fisica ed emotiva del paziente, al fine di preservare la stabilità del trapianto e migliorare la qualità della vita (16,17).

Per i trapianti di fegato, secondo la revisione sistematica della letteratura condotta da Nacif et al. (2015), il rigetto acuto si verifica nel 7-40% dei pazienti, con incidenza più frequente nel primo anno post-trapianto (18). Negli Stati Uniti, vi è un'incidenza di rigetto acuto tra il 19,1% nei giovani adulti (18-34 anni) e fino al 29% nei pazienti pediatrici entro il primo anno dal trapianto. In Europa, la percentuale di rigetto acuto entro il primo anno è circa intorno al 15%, con variazioni in base all'età e al regime immunosoppressivo. In Italia, la sopravvivenza a 1 anno dopo il trapianto di fegato si attesta intorno all'87% (19-22).

Oltre al rischio di rigetto, la fase post-trapianto epatico è spesso caratterizzata da un quadro clinico complesso, dominato nella fase precoce da dolore, debolezza muscolare, affaticamento e disturbi del sonno, con l'affaticamento come sintomo più frequente nel primo mese. Con il passare del tempo, molti pazienti mostrano un miglioramento dei sintomi e una riduzione dello stress, ma la funzionalità fisica rimane inferiore rispetto alla popolazione generale. A distanza di due anni si osserva un recupero parziale della capacità fisica rispetto al periodo preoperatorio, pur restando al di sotto dei valori attesi per età, mentre entro cinque anni fattori come l'età superiore ai sessant'anni e gli episodi di rigetto acuto o cronico si associano a una riduzione della funzionalità. Uno dei motivi principali di questa condizione è la perdita di massa muscolare scheletrica: la sarcopenia pre-trapianto interessa fino al 70% dei pazienti e può peggiorare subito dopo l'intervento, poiché la degenza in terapia intensiva e le complicanze biliari riducono ulteriormente la massa magra. Sebbene molti pazienti aumentino di peso nel tempo, tale incremento è spesso dovuto all'accumulo di tessuto adiposo più che a un recupero muscolare. A

un anno dal trapianto, circa un terzo dei pazienti presenta ancora una bassa massa muscolare scheletrica. Ai sintomi fisici si aggiungono spesso disturbi sessuali, con circa un quarto dei pazienti che riferisce una disfunzione persistente e un terzo che sviluppa una nuova disfunzione dopo l'intervento, influenzata sia da fattori ormonali e psicologici sia dagli effetti collaterali della terapia immunosoppressiva. Anche l'area psicologica risulta frequentemente compromessa: oltre un terzo dei pazienti manifesta disagio mentale clinicamente significativo, e fino a un quarto presenta sintomi persistenti di ansia e depressione che possono peggiorare nel lungo periodo, riducendo la qualità di vita e l'aderenza terapeutica. La depressione, in particolare, è stata associata a una maggiore mortalità e a un rischio più elevato di rigetto del trapianto, soprattutto nei soggetti con malattia epatica alcol-correlata. Si osservano inoltre deficit neuropsicologici che possono interessare memoria, linguaggio, attenzione e funzioni visuospaziali, legati all'immunosoppressione, alle complicanze perioperatorie e a preesistenti condizioni di encefalopatia epatica. I sintomi più comuni riportati dai pazienti trapiantati di fegato comprendono affaticamento, disturbi del sonno, riduzione della memoria, prurito, debolezza muscolare, mancanza di fiato e tremore alle mani, con variazioni nel tempo: l'affaticamento è prevalente nei primi mesi, l'insonnia tra i sette e i dodici mesi e la riduzione della memoria dopo il primo anno. Le complicanze postoperatorie, la percezione di essere un peso per la famiglia, le limitazioni nelle attività quotidiane e il tipo di *caregiver* rappresentano fattori che influenzano l'intensità e la durata dei sintomi. Nel complesso, la condizione post-trapianto epatico richiede un approccio clinico integrato e multidisciplinare volto non solo al controllo delle complicanze e all'ottimizzazione della terapia immunosoppressiva, ma anche alla gestione dei sintomi e al supporto psicologico, con l'obiettivo di favorire il recupero funzionale e la reintegrazione nella vita quotidiana (23,24).

3. Gestione attuale della patologia

A0018 – Quali sono le altre tipiche o comuni alternative alla tecnologia corrente?

Il TDM dei farmaci immunosoppressori rappresenta un elemento fondamentale nella gestione dei pazienti sottoposti a trapianto di rene o di fegato, poiché consente di mantenere concentrazioni plasmatiche ottimali, prevenendo sia il rigetto dell'organo trapiantato sia la comparsa di tossicità sistemica.

Attualmente, la determinazione dei livelli ematici di questi farmaci si basa prevalentemente su metodiche immunochimiche (*immunoassay*), tra cui le più diffuse sono l'*enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e il *chemiluminescent immunoassay* (CLIA). Tali tecniche si fondano sull'interazione antigene-anticorpo e presentano il vantaggio di essere rapide, relativamente semplici da eseguire e facilmente automatizzabili, caratteristiche che ne favoriscono l'impiego nei laboratori clinici di routine. Tra le metodiche più utilizzate per la misurazione del tacrolimus nel sangue intero figura l'immunoanalisi mediata da colonna di affinità (ACMIA), che permette un'analisi veloce senza la necessità di pretrattamento del campione (25). Altre tecniche comunemente impiegate includono il *microparticle enzyme immunoassay* (MEIA) e il *chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA), anch'esse

basate sul legame antigene-anticorpo. È importante sottolineare che metodiche diverse, come MEIA, CMIA e in particolare ACMIA, utilizzano anticorpi anti-tacrolimus caratterizzati da profili di cross-reattività molto differenti nei confronti dei metaboliti del farmaco. Questa variabilità rappresenta uno dei principali limiti dell'immunochimica nella determinazione dei livelli di tacrolimus: ad esempio, gli anticorpi impiegati nei metodi CLIA mostrano un'elevata cross-reattività non solo verso il metabolita attivo M-II (94%), ma anche verso il metabolita inattivo M-III (45%), mentre l'anticorpo utilizzato in ACMIA risulta molto più specifico per il tacrolimus non modificato.

Tali differenze metodologiche possono condurre a sovrastima o sottostima delle concentrazioni misurate, poiché alcune tecniche rilevano anche una quota significativa dei metaboliti, mentre altre misurano quasi esclusivamente la molecola attiva. In particolare, una sovrastima immunometrica può indurre riduzione della dose e sottoesposizione; al contrario, una sottostima può indurre incremento della dose e tossicità. Inoltre, aspetti preanalitici come la preparazione del campione, in particolare nell'ACMIA, dove la precipitazione degli eritrociti può introdurre *bias* negativi e aumentare la variabilità, rappresentano ulteriori fonti di errore.

Le discrepanze analitiche tra metodiche differenti possono tradursi in rischi clinici sostanziali: un errato sovradosaggio espone il paziente a tossicità neuro- o nefrologica, mentre una sottostima può predisporre al rigetto acuto, compromettendo l'equilibrio terapeutico essenziale nei pazienti trapiantati. La mancanza di uno standard unico tra ospedali e laboratori implica inoltre che lo stesso paziente possa ricevere aggiustamenti terapeutici divergenti semplicemente cambiando centro di riferimento. Ne deriva quindi la necessità di adottare metodiche affidabili e altamente specifiche e di riportare sempre la tecnica utilizzata nel TDM, rivalutando sistematicamente la relazione tra concentrazione misurata, quadro clinico ed eventuali eventi avversi, al fine di garantire una personalizzazione ottimale del trattamento (26).

A0024 – Come la malattia o condizione di salute è diagnosticata in accordo con le Linee Guida?

Nei pazienti sottoposti a trapianto di rene o di fegato, la diagnosi della condizione clinica post-trapianto è finalizzata all'identificazione precoce di segni di rigetto e di disfunzione dell'organo trapiantato. Le principali Linee Guida europee raccomandano un approccio integrato basato su valutazione clinica, monitoraggio biochimico, controllo dei livelli degli immunosoppressori, indagini strumentali e biopsia quando necessaria. Le modalità di diagnosi differiscono tuttavia in relazione all'organo trapiantato e ai parametri più significativi per valutarne la funzione.

Secondo le Linee Guida dell'*European Association of Urology* (EAU), relative al trapianto di rene, l'inquadramento diagnostico si basa su:

- Monitoraggio della funzione renale, tramite creatininemia, filtrazione glomerulare ed esame delle urine;
- Controllo dei livelli degli immunosoppressori per garantire efficacia terapeutica ed evitare nefrotossicità;
- Ecografia renale e Doppler per identificare complicanze vascolari o urologiche;

- Biopsia renale, considerata il *gold standard*, utilizzata precocemente anche in presenza di lievi variazioni della creatinina per confermare rigetto acuto o cronico.

Secondo le Linee Guida dell'*European Association for the Study of the Liver* (EASL), relative al trapianto di fegato, la diagnosi si concentra invece su:

- Valutazione della funzione epatica, attraverso Aspartato Aminotransferasi (AST), Alanina Aminotransferasi (ALT), bilirubina, Gamma-glutamil transferasi (GGT) e *International Normalized Ratio* (INR);
- Monitoraggio dei livelli degli immunosoppressori, con attenzione al rischio di sovraesposizione e tossicità;
- Ecografia epatica con Doppler, esame di prima linea per verificare la pervietà dei vasi e individuare precocemente complicanze vascolari o biliari;
- Biopsia epatica, indicata quando le alterazioni biochimiche persistono o non trovano spiegazione con l'*imaging*, utile per differenziare il rigetto da colestasi, complicanze vascolari o recidive di malattia.

L'integrazione di queste procedure consente una diagnosi tempestiva del rigetto e delle principali complicanze post-trapianto, guidando in modo efficace la gestione terapeutica del paziente (27,28).

A0025 – Come la malattia o condizione di salute è gestita in accordo con le Linee Guida?

La gestione attuale del paziente sottoposto a trapianto di rene o di fegato si basa su protocolli di immunosoppressione prolungata e su un *follow-up* multidisciplinare continuo, finalizzato a preservare la funzione dell'organo trapiantato e a prevenire complicanze infettive, tossiche o neoplastiche. Secondo le linee guida EASL (2024) e EAU (2025), il trattamento immunosoppressivo è personalizzato in base al profilo immunologico e clinico del paziente, con l'obiettivo di mantenere un equilibrio tra efficacia nella prevenzione del rigetto e minimizzazione della tossicità.

Nei trapiantati di rene, la EAU raccomanda un regime iniziale standard costituito da un inibitore della calcineurina (CNI) (preferibilmente tacrolimus, in alternativa ciclosporina), un antimetabolita come micofenolato mofetile o sodio micofenolato, corticosteroidi e una terapia di induzione con basiliximab nei pazienti a basso o medio rischio o con globulina anti-timocitaria nei casi ad alto rischio. Il TDM è imprescindibile, poiché tacrolimus e ciclosporina sono farmaci a stretto indice terapeutico: la valutazione regolare dei livelli plasmatici consente di adattare le dosi per evitare tossicità renale o perdita di efficacia. Nei casi di nefrotossicità da inibitori della calcineurina, le linee guida EAU suggeriscono strategie di conversione verso regimi privi di CNI, come quelli a base di inibitori mTOR (everolimus o sirolimus), micofenolato o belatacept, con attento monitoraggio del rischio di rigetto. Il *follow-up* post-trapianto è di natura permanente e condotto da specialisti esperti, con controlli regolari di funzione renale, pressione arteriosa, proteinuria e parametri immunologici; deve includere uno screening annuale per neoplasie cutanee, cardiovascolari e ginecologiche, nonché un'ecografia addominale con valutazione del *graft*, come raccomandato dall'EAU.

Nei trapiantati di fegato, l'EASL sottolinea che la gestione immunosoppressiva si basa su una triplice combinazione iniziale analoga, con successiva riduzione graduale e adattamento al profilo di rischio, alla funzione epatica e alla presenza di comorbilità. L'uso di tacrolimus rimane lo standard, ma può essere modulato o sostituito in caso di nefrotossicità o intolleranza. L'interruzione completa dell'immunosoppressione resta una pratica sperimentale, da eseguire solo in contesti di trial clinici controllati e con monitoraggio istologico e biochimico intensivo, poiché solo circa il 20% dei pazienti raggiunge una tolleranza operazionale stabile, e il rischio di rigetto acuto rimane elevato. Il *follow-up* post-trapianto epatico richiede una sorveglianza proattiva delle complicanze infettive, che rappresentano una delle principali cause di morbidità e mortalità, con strategie di profilassi e monitoraggio specifiche per i diversi agenti (batterici, virali, fungini). L'uso di profilassi antimicrobica, in particolare per il citomegalovirus e le infezioni opportunistiche, è raccomandato nei primi mesi dopo il trapianto, periodo in cui l'immunosoppressione è massima.

Il controllo delle comorbilità metaboliche e cardiovascolari è parte integrante della gestione a lungo termine: l'epatologo deve monitorare regolarmente funzione epatica e renale, metabolismo glucidico e lipidico, peso corporeo e segni di sindrome metabolica o steatoepatite post-trapianto. In caso di sospetta MASH (*Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis*) ricorrente o *de novo*, il paziente deve essere indirizzato a un *team* multidisciplinare che includa un nutrizionista e un diabetologo, e può essere necessario ricorrere a metodiche non invasive (elastografia, biomarcatori) o a biopsia epatica. L'adozione di uno stile di vita equilibrato, la sospensione dell'alcol e un'adeguata attività fisica sono raccomandate sin dalle fasi precoci del *follow-up*.

Entrambe le linee guida ribadiscono che la cura del paziente trapiantato deve essere affidata a un *team* multidisciplinare, epatologo o nefrologo trapiantologo, infettivologo, psicologo, dietista e in alcuni casi oncologo o ginecologo, e che il monitoraggio dell'aderenza terapeutica è cruciale per la sopravvivenza a lungo termine del *graft*. Nei trapiantati di fegato, particolare attenzione è riservata anche al supporto psicologico e alla qualità della vita, che può risentire nel tempo degli effetti collaterali dell'immunosoppressione. In entrambi i tipi di trapianto, la gestione clinica si fonda dunque su un approccio integrato, dinamico e personalizzato, basato sul TDM degli immunosoppressori, sulla prevenzione delle complicanze e sul mantenimento di un equilibrio ottimale tra tolleranza immunologica e sicurezza farmacologica (27,28).

4. Utilizzo

A0001 – Per quale scopo, condizione di salute e popolazione è utilizzata la tecnologia?

La tecnologia *cobas*® *Mass Spec Solution* di Roche trova un'applicazione particolarmente rilevante nella gestione clinica dei pazienti sottoposti a trapianto di rene e di fegato, contesti in cui è fondamentale garantire un TDM preciso e affidabile dei farmaci immunosoppressori. In questi pazienti, la corretta modulazione della terapia è essenziale per prevenire fenomeni di rigetto e, al tempo stesso, evitare effetti tossici dovuti a sovradosaggio. La MS utilizzata nel sistema *cobas*® *Mass Spec Solution*, oggi configurato come piattaforma standalone, consente di

misurare con elevata sensibilità, specificità e accuratezza concentrazioni nel sangue intero molto basse di molecole come tacrolimus, ciclosporina, everolimus o sirolimus, superando i limiti dell'immunometria tradizionale, spesso soggetta a interferenze e cross-reattività. In questo modo, *cobas*® *Mass Spec Solution* rappresenta uno strumento avanzato a supporto della medicina personalizzata nei trapianti d'organo, offrendo al clinico risultati affidabili e tempestivi per l'ottimizzazione terapeutica e la sicurezza del paziente.

Bibliografia

1. Gabrielli, F., Golfieri, L., Nascimbeni, F., Andreone, P., & Gitto, S. (2024). Metabolic Disorders in Liver Transplant Recipients: The State of the Art. Journal of clinical medicine, 13(4), 1014. https://doi.org/10.3390/jcm13041014
2. Liu, X., Shen, J., Yan, H., Hu, J., Liao, G., Liu, D., Zhou, S., Zhang, J., Liao, J., Guo, Z., Li, Y., Yang, S., Li, S., Chen, H., Guo, Y., Li, M., Fan, L., Li, L., Luo, P., Zhao, M., ... Liu, Y. (2024). Posttransplant complications: molecular mechanisms and therapeutic interventi ons. MedComm, 5(9), e669. https://doi.org/10.1002/mco2.669
3. AISI. (2025). Trapianti in Italia: un passo avanti importante. Associazione Imprese Sanitarie Indipendenti. Disponibile presso: https://www.associazioneisi.it/trapianti-in-italia-un-passo-avanti-importante - ultima visita ottobre 2025
4. Avis. (2025). Donazioni e trapianti, per l'Italia il 2024 è un anno da record. Avis. Disponibile presso: https://www.avis.it/donazioni-e-trapianti-per-litalia-il-2024-e-un-anno-da-record/ - ultima visita ottobre 2025
5. Ministero della Salute – Centro Nazionale Trapianti. (2025). Report 2024: Donazione e trapianto di organi, tessuti e cellule. Dipartimento della salute (o equivalente). Ministero della Salute. Disponibile presso: https://www.trapianti.salute.gov.it/sites/default/files/2025-10/REPORT%202024_Interattivo.pdf - ultima visita dicembre 2025
6. Domini, F., Vespasiano, F., Di Ciaccio, P., Lombardini, L., & Cardillo, M. (2023). Trasparenza, efficacia ed efficienza della Rete Nazionale Trapianti dalla sua nascita ai giorni nostri: evoluzione di un modello organizzativo al servizio del paziente affetto da grave insufficienza di organo. Bollettino Epidemiologico Nazionale, 4(3), 27–34. Istituto Superiore di Sanità. https://doi.org/10.53225/BEN_072
7. Kazancioğlu R. (2013). Risk factors for chronic kidney disease: an update. Kidney international supplements, 3(4), 368–371. https://doi.org/10.1038/kisup.2013.79
8. Wouk N. (2021). End-Stage Renal Disease: Medical Management. American family physician, 104(5), 493–499.
9. Trautwein, C., Koch, A. (2020). Mechanisms of Acute Liver Failure. In: Gershwin, M.E., M. Vierling, J., Tanaka, A., P. Manns, M. (eds) Liver Immunology . Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51709-0_29
10. Goldfarb-Rumyantzev, A., Hurdle, J. F., Scandling, J., Wang, Z., Baird, B., Barenbaum, L., & Cheung, A. K. (2005). Duration of end-stage renal disease and kidney transplant outcome. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association, 20(1), 167–175. https://doi.org/10.1093/ndt/gfh541
11. Hariharan, S., Rogers, N., Naesens, M., Pestana, J. M., Ferreira, G. F., Requião-Moura, L. R., Foresto, R. D., Kim, S. J., Sullivan, K., Helanterä, I., Goutaudier, V., Loupy, A., Kute, V. B., Cardillo, M., Tanabe, K., Åsberg, A., Jensen, T., Mahillo, B., Jeong, J. C., Anantharaman, V., ...

Mehta, R. B. (2024). Long-term Kidney Transplant Survival Across the Globe. Transplantation, 108(9), e254–e263. https://doi.org/10.1097/TP.0000000000004977

12. Trautwein, C., Koch, A. (2020). Mechanisms of Acute Liver Failure. In: Gershwin, M.E., M. Vierling, J., Tanaka, A., P. Manns, M. (eds) Liver Immunology . Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51709-0_29
13. Istituto Superiore di Sanità. (2018). Rigetto acuto e cronico. ISSalute. Disponibile presso: https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/r/rigetto-acuto-e-cronico - ultima visita dicembre 2025
14. European Commission. (2025). Personalisation of immunosuppression by monitoring viral load post kidney transplantation – A randomised controlled phase II trial (TTV GUIDE TX, Grant Agreement ID: 896932). CORDIS. https://cordis.europa.eu/project/id/896932/reporting
15. Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS. (2020). Trapianto di rene, scoperta una possibile soluzione al rigetto dell'organo. Policlinico Gemelli. Disponibile presso: https://www.policlinicogemelli.it/news-eventi/trapianto-di-rene-scoperta-una-possibile-soluzione-al-rigetto-dellorgano/ - ultima visita dicembre 2025
16. Wang, H., Du, C., Liu, H., Zhang, S., Wu, S., Fu, Y., & Zhao, J. (2020). Exploration of symptom experience in kidney transplant recipients based on symptoms experience model. Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation, 29(5), 1281–1290. https://doi.org/10.1007/s11136-019-02404-5
17. de Barros, C. T., & Cabrita, J. (1999). Self-report of symptom frequency and symptom distress in kidney transplant recipients. Pharmacoepidemiology and drug safety, 8(6), 395–403. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1557(199910/11)8:6<395::AID-PDS449>3.0.CO;2-D
18. Nacif, L. S., Pinheiro, R. S., Pécora, R. A., Ducatti, L., Rocha-Santos, V., Andraus, W., & D'Albuquerque, L. C. (2015). Rigetto acuto tardivo nel trapianto di fegato: una revisione sistematica. Archivi brasiliani di cirurgia digestiva : ABCD = Archivi brasiliani di chirurgia digestiva, 28(3), 212–215. https://doi.org/10.1590/S0102-67202015000300017
19. Dahiya, M., Minkley, M., Owen, D. R., Hussaini, T., Cox, B., Marquez, V., Chahal, D., & Yoshida, E. M. (2024). Severe acute allograft rejection 22 years after liver transplantation. Canadian liver journal, 7(4), 500–504. https://doi.org/10.3138/canlivj-2024-0004
20. Ghali, P., Ibrahim, R. M., Hodge, D., White, L., & Wadei, H. M. (2024). Kidney after liver transplantation does not have an increased risk of rejection compared to liver alone. Clinical transplantation, 38(4), e15311. https://doi.org/10.1111/ctr.15311
21. Kwong, A. J., Kim, W. R., Lake, J. R., Schladt, D. P., Schnellinger, E. M., Gauntt, K., McDermott, M., Weiss, S., Handarova, D. K., Snyder, J. J., & Israni, A. K. (2024). OPTN/SRTR 2022 Annual Data Report: Liver. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons, 24(2S1), S176–S265. https://doi.org/10.1016/j.ajt.2024.01.014

22. A.I.S.F. (2004). Trapianto di fegato non urgente dell'adulto: Raccomandazioni della Commissione di studio AISF. A cura della Commissione "Trapianto di fegato", Associazione Italiana per lo Studio del Fegato. Disponibile presso: https://www.webaisf.org/wp-content/uploads/2019/01/documento_trapianto.pdf - ultima visita dicembre 2025
23. Kaplan, A., Korenjak, M., & Brown, R. S., Jr (2023). Post-liver transplantation patient experience. Journal of hepatology, 78(6), 1234–1244. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.01.008
24. Chen, X., Zhang, Y., & Yu, J. (2021). Symptom Experience and Related Predictors in Liver Transplantation Recipients. Asian nursing research, 15(1), 8–14. https://doi.org/10.1016/j.anr.2020.11.001
25. Garg, N., Mo, J., Fitzmaurice, M. G., Warnke, S., & Jafri, S. M. (2024). Falsely Elevated Tacrolimus (FK506) Trough Levels in a Liver Transplant Recipient. Cureus, 16(2), e54548. https://doi.org/10.7759/cureus.54548
26. Hashi, S., Masuda, S., Kikuchi, M., Uesugi, M., Yano, I., Omura, T., Yonezawa, A., Fujimoto, Y., Ogawa, K., Kaido, T., Uemoto, S., & Matsubara, K. (2014). Assessment of four methodologies (microparticle enzyme immunoassay, chemiluminescent enzyme immunoassay, affinity column-mediated immunoassay, and flow injection assay-tandem mass spectrometry) for measuring tacrolimus blood concentration in Japanese liver transplant recipients. Transplantation proceedings, 46(3), 758–760. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2013.11.060
27. European Association of Urology. (2025). EAU Guidelines on Renal Transplantation 2025. Disponibile presso: https://d56bochluxqnz.cloudfront.net/documents/full-guideline/EAU-Guidelines-on-Renal-Transplantation-2025.pdf - ultima visita ottobre 2025
28. European Association for the Study of the Liver. (2024). Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. Disponibile presso: https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(24)02440-1/fulltext - ultima visita ottobre 2025

PAZIENTI CRITICI

1. Popolazione target

A007 – Qual è la popolazione target di questa valutazione?

La popolazione target di questa valutazione è costituita dai pazienti critici, ovvero soggetti affetti da una o più condizioni acute o croniche gravi che comportano una compromissione potenzialmente reversibile di una o più funzioni vitali. Si tratta di una popolazione eterogenea che comprende pazienti ricoverati in unità di terapia intensiva (UTI/ICU), trattati con specifici farmaci per cui *Therapeutic Drug Monitoring* (TDM) è clinicamente indicato. Tali pazienti spesso vertono in condizioni di instabilità emodinamica, respiratoria, metabolica o neurologica, richiedendo monitoraggio continuo, supporto organico avanzato e interventi terapeutici intensivi. Questi pazienti necessitano di un approccio diagnostico e terapeutico rapido, preciso e standardizzato, finalizzato a ottimizzare la gestione clinica e a ridurre il rischio di complicanze o eventi avversi (1).

A0023 – Quante persone appartengono alla popolazione target?

Attualmente non sono disponibili stime nazionali precise sul numero complessivo di pazienti critici ricoverati annualmente nelle terapie intensive italiane. Tuttavia, i dati strutturali e organizzativi disponibili consentono di delineare in modo generale l'ampiezza di questa popolazione.

In Italia si contano oltre 7.500 posti letto di terapia intensiva, distribuiti tra unità generali e specialistiche. Secondo le rilevazioni del Ministero della Salute e delle principali società scientifiche di area critica, il tasso medio di occupazione delle terapie intensive è compreso tra l'80% e l'85%, mentre la degenza media dei pazienti si attesta intorno ai 7-10 giorni, valori in linea con le medie europee (2,3).

La mortalità associata al ricovero in Terapia Intensiva è riportata intorno al 25%, con variazioni legate all'età, alla patologia di base e alla gravità clinica (2).

2. Condizione target

A0002 – Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione?

La presente valutazione riguarda pazienti in condizioni cliniche critiche, caratterizzate da un grave rischio di compromissione della vita dovuto a insufficienza acuta di uno o più organi vitali (cervello, cuore, polmoni, reni) o al rapido peggioramento di malattie croniche, traumi, interventi chirurgici complessi, sepsi o intossicazioni. Anche malattie acute gravi, come la sepsi, possono provocare rapidamente disfunzioni multiorgano, richiedendo interventi immediati e un monitoraggio costante.

In questi pazienti le funzioni vitali risultano gravemente compromesse o assenti. Come indicato dal Comitato per le Linee Guida della Società Americana di Terapia Intensiva, la criticità si manifesta principalmente con instabilità cardiocircolatoria, respiratoria o neurologica dovuta a patologie acute, chirurgiche o traumatiche.

La gestione clinica di questi pazienti avviene in unità di Medicina Intensiva o in unità di monitoraggio intermedio (*Intermediate Care Unit*), dove è garantito un monitoraggio continuo 24 ore su 24 e la presenza immediata di personale medico e infermieristico altamente qualificato. Le moderne strutture di terapia intensiva sono inoltre dotate di strumenti avanzati per il supporto delle funzioni vitali, che permettono di assistere e monitorare costantemente pazienti con compromissione multiorgano (4,5).

I pazienti critici possono presentare diverse condizioni cliniche, tra cui:

- Instabilità emodinamica, con pressione arteriosa <90 mmHg o >200 mmHg, frequenza cardiaca <40 o >160 battiti/minuto, o aritmie pericolose;
- Insufficienza respiratoria, con o senza ventilazione meccanica, frequenza respiratoria <10 o >34 atti/minuto e saturazione <86%;
- Insulto neurologico acuto e ipertensione endocranica (*Glasgow Coma Scale*<12);
- Insufficienza renale acuta;
- Disordini metabolici o endocrini potenzialmente letali (glucosio <40 mg/dl o >250–300 mg/dl);
- Overdose, intossicazioni o reazioni avverse ai farmaci (4).

Dal punto di vista farmacologico, questi pazienti mostrano spesso alterazioni significative della farmacocinetica, con variabilità inter- e intraindividuale nella distribuzione e nell'escrezione dei farmaci. Ciò rende complesso l'utilizzo di dosaggi standard di antimicrobici o altri farmaci: ad esempio, la clearance renale può variare di oltre dieci volte nei pazienti con infezioni gravi, influenzando l'escrezione di farmaci idrofili come i beta-lattamici e richiedendo strategie di dosaggio personalizzato (6).

A0003 – Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute?

Il paziente affetto da malattia critica presenta una complessa combinazione di fattori di rischio che favoriscono il prolungarsi dello stato critico e la necessità di cure intensive a lungo termine. Secondo la revisione sistematica di Ohbe et al. (2024), i principali determinanti sono l'età avanzata, la maggiore gravità della malattia acuta al momento dell'ammissione in terapia intensiva, la presenza di sepsi o di shock settico, il trauma maggiore e la necessità prolungata di ventilazione meccanica. Altri elementi rilevanti includono punteggi elevati nei sistemi di valutazione della disfunzione d'organo (come APACHE II e SOFA), l'uso di vasopressori, l'indice di comorbilità elevato (*Charlson Comorbidity Index*), l'ipoalbuminemia, alterazioni della coagulazione (PT-INR elevato) e lo stato nutrizionale compromesso. Inoltre, l'immunosoppressione e l'infiammazione persistente, come descritte nella sindrome PIICS (*Persistent Inflammatory, Immunosuppressive, and Catabolic Syndrome*), sembrano contribuire al mantenimento dello stato critico. In generale,

i pazienti critici sono più frequentemente maschi, con età media superiore ai 60 anni e caratterizzati da un'elevata complessità clinica e necessità di supporti organici multipli, elementi che rendono questa condizione una delle più gravi e impegnative in ambito di terapia intensive (7).

A0004 – Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute?

Il paziente critico, pur sopravvivendo all'evento acuto iniziale, sviluppa una disfunzione organica duratura che comporta una dipendenza prolungata dai supporti vitali e una degenza estesa in terapia intensiva. Circa il 10–18% dei pazienti ricoverati in terapia intensiva evolve verso questa condizione, con incidenze maggiori nei casi di sepsi, trauma o infezione da COVID-19. La sepsi rappresenta una delle principali cause di deterioramento clinico nel decorso del paziente critico: la mortalità nei quadri di sepsi e sepsi grave è pari al 25–30%, raggiungendo il 40–50% nello shock settico. Le cause più frequenti includono infezioni delle vie urinarie, polmoniti acquisite in comunità e infezioni addominali. Nei pazienti critici, tali complicanze infettive determinano una progressiva disfunzione d'organo con ipossia tissutale e necessità di interventi intensivi quali fluidoterapia endovenosa e supporto vasopressorio; oltre al controllo della fonte e all'antibioticoterapia, le opzioni terapeutiche specifiche rimangono limitate. Le popolazioni a maggiore rischio di sviluppare complicanze infettive severe comprendono anziani, maschi, neonati e soggetti con comorbidità come immunodeficienze (incluso HIV) o neoplasie, con una maggiore incidenza di sepsi grave documentata nelle persone di discendenza africana. Recenti analisi proteomiche hanno inoltre identificato biomarcatori associati alla progressione della sepsi e dello shock settico, tra cui la riduzione di ApoC3 e l'aumento di VCAM1, B2M e ApoE, con un gradiente crescente dai pazienti non settici alla sepsi fino allo shock settico. In combinazione con marcatori convenzionali come la procalcitonina (PCT) e la proteina C reattiva (CRP), tali profili migliorano l'accuratezza diagnostica (AUC-ROC 0,772) (8-10).

Il decorso clinico di questi pazienti è segnato da una lunga permanenza in terapia intensiva, con durata media della ventilazione meccanica di 17–20 giorni e degenza ospedaliera superiore ai 40 giorni. La mortalità intraospedaliera si attesta intorno al 27–28%, mentre quella a un anno raggiunge circa il 45%. Un elemento caratteristico di questa fase è la debolezza muscolare acquisita in terapia intensiva, definita come *ICU-acquired weakness*, una condizione neuromuscolare che si manifesta con perdita di massa muscolare e debolezza simmetrica degli arti e dei muscoli respiratori. Tale debolezza, frequentemente associata a disfunzione multiorgano, prolunga la dipendenza dalla ventilazione meccanica, ritarda lo svezzamento respiratorio e comporta un significativo peggioramento della prognosi funzionale. Tra i sopravvissuti, solo una minoranza, pari a circa un quarto, riesce a essere dimessa al domicilio, mentre la maggior parte necessita di trasferimento in strutture riabilitative o di lungodegenza. La qualità della vita risulta gravemente compromessa, con ridotte capacità fisiche e punteggi EuroQol inferiori a 0,8.

Il decorso naturale della condizione è determinato da una complessa interazione di fattori non modificabili, quali l'età avanzata e la gravità della malattia, e di fattori modificabili, come l'uso prolungato di corticosteroidi e bloccanti neuromuscolari, l'iperglicemia non controllata, la sepsi,

l'immobilità e la malnutrizione. Questi elementi concorrono a instaurare un circolo vizioso di debolezza, infezioni ricorrenti e ridotta autonomia funzionale, che spesso conduce a una disabilità cronica e a un'elevata dipendenza assistenziale. Nel lungo termine, la prognosi rimane severa, con un rischio di mortalità persistente e un impatto rilevante sia sul piano sanitario sia su quello sociale, rendendo indispensabili strategie di prevenzione precoce, un adeguato controllo metabolico e programmi riabilitativi intensivi sin dalle prime fasi del ricovero in terapia intensiva (7-11).

A0005 – Quali sono i sintomi e la gravità della malattia o condizione di salute per il paziente?

Nei pazienti critici la condizione clinica è caratterizzata dalla presenza di sintomi acuti di elevata severità che, in assenza di un tempestivo e adeguato trattamento medico, possono evolvere rapidamente verso un esito sfavorevole, con rischio di danno funzionale permanente, lesione grave d'organo o pericolo di vita. Tali pazienti possono presentare arresto cardiocircolatorio, traumatismi maggiori come politraumi con interessamento di più organi vitali, traumi cranici severi con compromissione dello stato di coscienza, rottura di visceri parenchimatosi o non, traumi toracici e volet costale con alterazioni degli scambi gassosi, pneumotorace traumatico o ustioni estese superiori al 20% della superficie corporea. Possono inoltre manifestarsi condizioni di tossicità acuta da farmaci o sostanze, con alterazione dello stato neurologico, o gravi patologie gastrointestinali come insufficienza epatica fulminante e perforazione esofagea. In molti casi si riscontrano alterazioni significative dei parametri di laboratorio che non rispondono al trattamento medico convenzionale, quali ipercalcemia con alterazioni dello stato mentale, disnatriemie o diskalemie associate a convulsioni o aritmie. Le alterazioni neurologiche acute comprendono emorragie cerebrali intraparenchimali o subaracnoidee, meningiti con compromissione dello stato di coscienza e necessità di protezione delle vie aeree, stati di coma o situazioni potenzialmente evolutive verso la morte cerebrale. Tra le cause frequenti di instabilità emodinamica e insufficienza multiorgano rientrano le forme di sepsi severa e shock di diversa eziologia (settico, emorragico, anafilattico), che determinano una compromissione acuta di due o più organi vitali. Le manifestazioni respiratorie possono includere ostruzione acuta delle vie aeree, emottisi massiva e insufficienza respiratoria tale da richiedere supporto ventilatorio invasivo (4,12).

In sintesi, i sintomi nei pazienti critici riflettono uno stato di estrema gravità clinica, in cui la sopravvivenza dipende da un intervento intensivo e immediato volto a stabilizzare le funzioni vitali e prevenire danni irreversibili; la natura acuta e potenzialmente letale di tali condizioni rende indispensabile un monitoraggio continuo e un approccio terapeutico altamente specializzato, in quanto anche minime variazioni cliniche possono determinare un rapido peggioramento e un aumento significativo della mortalità.

3. Gestione attuale della patologia

A0018 – Quali sono le altre tipiche o comuni alternative alla tecnologia corrente?

Un'alternativa diffusa alla MS nei pazienti critici in terapia intensiva è rappresentata dai metodi immunometrici, tra cui i saggi immunoenzimatici. Queste metodiche, che si basano sul riconoscimento anticorpo-antigene, sono state applicate al dosaggio di alcuni antibiotici come vancomicina e teicoplanina, farmaci per i quali è indicato un TDM. Tuttavia, i dosaggi immunometrici tradizionali, come l'ELISA, risultano poco utilizzati nella pratica clinica per la determinazione di antibiotici in terapia intensiva, a causa della loro complessità operativa, della necessità di incubazioni e lavaggi multipli e dei tempi di analisi incompatibili con le esigenze di rapidità proprie del contesto critico. Nuovi sviluppi tecnologici hanno portato alla progettazione di test immunometrici più rapidi, come i *lateral flow immunoassay* (LFIA), che consentono la rilevazione di vancomicina in sangue intero senza necessità di separazione plasmatica, con un limite di rilevazione di 18 ng/mL e un tempo di risposta di circa 20 minuti. Questi dispositivi offrono un compromesso tra accuratezza analitica, semplicità d'uso e rapidità di risposta, rendendoli potenzialmente utili in contesti di terapia intensiva, sebbene restino ad oggi meno diffusi rispetto ai POCT standardizzati per parametri biochimici o metabolici (13,14).

In conclusione, mentre la MS rimane la tecnologia di riferimento per la quantificazione precisa e multiparametrica di molecole, le alternative più comuni nei reparti di terapia intensiva sono rappresentate dai test POC, che garantiscono rapidità e semplicità operativa, e dai metodi immunometrici, che offrono un'opzione per specifiche molecole come alcuni antibiotici, ma che, per complessità e limitata diffusione, trovano ancora impiego marginale nella pratica clinica quotidiana dei pazienti critici.

A0024 – Come la malattia o condizione di salute è diagnosticata in accordo con le Linee Guida?

Nelle linee guida e nella pratica corrente la diagnosi dell'infezione nei pazienti critici in terapia intensiva si basa su una combinazione di valutazione clinica immediata, raccolta mirata di campioni microbiologici e uso strategico di biomarcatori e tecniche analitiche di laboratorio per identificare il microrganismo e quantificare il suo profilo di sensibilità; le raccomandazioni internazionali sottolineano che la conferma microbiologica richiede prelievi appropriati (emocolture multiple e campioni dal sito di infezione) e l'uso di metodi standardizzati per la determinazione della sensibilità (con il *broth microdilution* come metodo di riferimento per la minima concentrazione inibente – MIC, quando disponibile), pur riconoscendo la variabilità intrinseca delle misurazioni di MIC che impone cautela nell'interpretazione e nell'uso clinico dei valori isolati. La pratica quotidiana in molti reparti critici è organizzata secondo linee guida e percorsi locali che prevedono l'accesso a microbiologia diagnostica e a report di antibiogramma cumulativi, ma esistono grandi differenze tra centri nella disponibilità e tempestività degli esami: *survey* internazionali mostrano che, sebbene la maggior parte delle UTI disponga di linee guida locali e consulto infettivologico, non sempre sono presenti report di sensibilità aggiornati né

sistemi di sorveglianza uniformi, e la capacità di effettuare indagini diagnostiche veloci (compresa la microbiologia molecolare o test rapidi) varia sensibilmente tra gli ospedali (15).

Per quanto riguarda i biomarcatori, le linee guida di riferimento per la sepsi e i documenti di consenso raccomandano di integrare i dati clinici con marker come PCT e CRP per supportare decisioni diagnostiche e di probabilità di infezione, ma sottolineano i limiti di questi test come strumenti diagnostici autonomi (sono utili come supporto, ma non sostituiscono la ricerca microbiologica diretta o la valutazione clinica complessiva).

In ambito di identificazione microbica e analisi dei campioni, le raccomandazioni tecniche citano l'importanza di metodi analitici accurati e tempestivi: per la misurazione delle concentrazioni farmacologiche e per il monitoraggio (che talvolta viene utilizzato come elemento indiretto di "diagnosi" di esposizione/insuccesso terapeutico), i laboratori clinici esperti impiegano la *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) e *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC–MS/MS) e la disponibilità di queste tecniche incide fortemente sui tempi di refertazione; la letteratura di consenso osserva che turnaround rapidi (<8 h quando possibile) e metodi affidabili sono fondamentali per rendere utili le informazioni analitiche alla pratica clinica in terapia intensiva (16).

La MS, in particolare nelle sue forme avanzate come LC–MS/MS, sta assumendo un ruolo centrale nella pratica della terapia intensiva per il TDM, consentendo dosaggi più frequenti, accurati e tempestivi e offrendo potenziali vantaggi clinici rispetto ai metodi tradizionali. Le linee guida internazionali di riferimento (*European Society of Intensive Care Medicine* – ESICM, *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* – ESCMID, *International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology* – IATDMCT, *International Society for Antimicrobial Chemotherapy* – ISAC) raccomandano infatti l'uso di tecniche spettrometriche per la quantificazione degli antibiotici, con l'obiettivo di migliorare la precisione della valutazione dell'esposizione e di conseguenza l'efficacia e la sicurezza della terapia nei pazienti critici.

Le principali società scientifiche europee sottolineano che, in terapia intensiva, lo spettro di variabilità farmacocinetica dei farmaci è massimo e la precisione nella valutazione dei livelli plasmatici è determinante per guidare il dosaggio individualizzato degli antibiotici. La MS permette:

- Analisi simultanea di diversi farmaci (*multi-analyte*), rendendo possibile il monitoraggio integrato di più terapie antimicrobiche in tempi ristretti;
- Maggiore accuratezza nella misura rispetto agli immunodosaggi tradizionali, riducendo le interferenze e la variabilità analitica, caratteristica cruciale per pazienti con farmacocinetica alterata (ad es. insufficienza renale, *ExtraCorporeal Membrane Oxygenation* – ECMO, *Continuous Renal Replacement Therapy* – CRRT);
- *Turnaround* rapido (talvolta <8 ore), aspetto che, secondo la letteratura di consenso e le *survey* internazionali, è essenziale per rendere fruibili i risultati nella quotidianità clinica in reparti critici, favorendo la possibilità di adattare tempestivamente la terapia.

Le linee guida suggeriscono che il TDM tramite spettrometria sia indicato non solo per farmaci con finestra terapeutica stretta (glicopeptidi, aminoglicosidi, azoli antifungini), ma anche per molte beta-lattamine, in ragione della spiccata variabilità dei livelli osservata in terapia intensiva. Viene raccomandata la ripetizione dei dosaggi:

- Dopo modifiche della dose o variazioni cliniche importanti (ad es. inizio/sospensione di CRRT, cambiamento dello stato infiammatorio, peggioramento della funzione d'organo);
- A intervalli regolari anche in terapia stabile, per intercettare precocemente perdita di esposizione o accumulo;
- Con intervalli più brevi rispetto a quelli previsti in altre popolazioni, proprio grazie all'implementazione di metodi spettrometrici ad alta produttività che permettono risultati puntuali anche più volte a settimana (15,16).

Infine, nel contesto di antibiotici specifici per i quali esistono linee guida di TDM (ad es. teicoplanina), le raccomandazioni pratiche indicano tempi e modalità precisi per il campionamento e i target di concentrazione (per teicoplanina è raccomandato un controllo del *trough* al Giorno 4 come surrogato dello *steady state* e target di concentrazione minima (Cmin) differenziati in base alla gravità dell'infezione), indicazioni che sono adottate nella pratica per confermare esposizione terapeutica e supportare la diagnosi indiretta di inefficacia o necessità di rivalutazione diagnostica (17). La diagnosi in ICU segue, dunque, un approccio multimodale: valutazione clinica e criteri di sepsi, prelievi microbiologici appropriati e metodologie standard per l'identificazione e il MIC, supporto da biomarcatori e, quando disponibili, tecniche analitiche rapide e TDM per confermare esposizione terapeutica; le linee guida internazionali raccomandano questa integrazione ma evidenziano variabilità di disponibilità e tempi di referto tra i centri, il che condiziona fortemente la pratica diagnostica quotidiana.

A00025 – Come la malattia o condizione di salute è gestita in accordo con le Linee Guida?

La gestione delle infezioni nei pazienti critici ricoverati in terapia intensiva si basa su un approccio integrato e multidisciplinare, che combina il riconoscimento clinico precoce, la tempestiva attuazione della terapia antimicrobica empirica e la successiva ottimizzazione del trattamento sulla base dei risultati microbiologici e farmacocinetico-farmacodinamici. Le più recenti linee guida internazionali sottolineano come la gestione delle infezioni in questo contesto non possa limitarsi alla selezione empirica dell'antibiotico, ma debba prevedere un processo dinamico e continuo di valutazione, monitoraggio e personalizzazione terapeutica, volto a garantire il massimo equilibrio tra efficacia e sicurezza.

In presenza di un sospetto di infezione grave o di sepsi, le raccomandazioni europee e internazionali indicano che la terapia antimicrobica debba essere avviata tempestivamente, idealmente entro un'ora dal riconoscimento clinico della condizione, basandosi su linee guida locali, dati epidemiologici e profili di resistenza microbiologica dell'ospedale. Tale intervento precoce rappresenta un determinante essenziale dell'esito clinico, ma deve essere sempre accompagnato da un'adeguata raccolta di campioni biologici per l'identificazione dell'agente patogeno e per consentire una successiva *de-escalation* terapeutica, mirata a ridurre l'uso inappropriato di antibiotici ad ampio spettro.

La gestione della terapia antimicrobica nei pazienti critici è oggi sostenuta dai programmi di *Antimicrobial Stewardship* (ASP), che rappresentano uno dei pilastri fondamentali per garantire appropriatezza prescrittiva, ottimizzazione del dosaggio, prevenzione dell'insorgenza di

resistenze e riduzione degli eventi avversi. Tali programmi, diffusi nella maggior parte delle unità di terapia intensiva europee, promuovono l'utilizzo di linee guida locali, la revisione post-prescrizione del trattamento, la consulenza infettivologica e microbiologica, nonché il monitoraggio dell'aderenza alle raccomandazioni terapeutiche. Nonostante ciò, la loro applicazione pratica rimane eterogenea tra i diversi centri, a causa di differenze organizzative e di risorse disponibili.

Un elemento rilevante nella gestione contemporanea è rappresentato dal TDM, riconosciuto dalle linee guida internazionali come strumento utile per ottimizzare l'esposizione ai farmaci antimicrobici a stretta finestra terapeutica nei pazienti critici, la cui fisiologia alterata può comportare ampie variazioni dei parametri farmacocinetici. Il TDM consente di personalizzare la terapia in base ai target farmacodinamici (Area sotto la curva – AUC/MIC, fT>MIC, Concentrazione massima – Cmax/MIC) definiti per ciascun farmaco, garantendo il mantenimento di concentrazioni plasmatiche efficaci e riducendo al minimo il rischio di tossicità. L'adozione di questo approccio è particolarmente raccomandata per antibiotici con stretta finestra terapeutica, come aminoglicosidi, beta-lattamici, glicopeptidi, linezolid e antifungini azolici (15-16).

In particolare, i più recenti dati relativi alla vancomicina hanno portato a una revisione delle precedenti raccomandazioni di monitoraggio. Le linee guida di consenso aggiornate, elaborate congiuntamente dalla *American Society of Health-System Pharmacists*, dalla *Infectious Diseases Society of America*, dalla *Pediatric Infectious Diseases Society* e dalla *Society of Infectious Diseases Pharmacists*, suggeriscono l'abbandono del monitoraggio basato esclusivamente sui livelli di valle (*trough*), precedentemente raccomandato dalle linee guida del 2009 come surrogato dell'AUC/MIC, poiché associato a un rischio aumentato di nefrotossicità. Le nuove evidenze cliniche indicano che il rapporto ottimale AUC/MIC per ottenere efficacia e sicurezza nei pazienti trattati per infezioni gravi da *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) è compreso tra 400 e 600 mg·h/L, assumendo un valore di MIC pari a 1 mg/L determinato mediante microdiluizione in brodo. Questo approccio basato sull'AUC consente una valutazione più accurata dell'esposizione complessiva e una migliore personalizzazione del trattamento.

Analogamente, per la teicoplanina, le linee guida giapponesi raccomandano l'impiego sistematico del TDM per garantire il raggiungimento dei target terapeutici desiderati, con concentrazioni plasmatiche minime comprese tra 15–30 mg/L per infezioni non complicate e 20–40 mg/L per forme complicate, e con una prima valutazione farmacocinetica al quarto giorno di trattamento, considerato surrogato dello *steady state* (17,18).

In conclusione, la gestione attuale delle infezioni nei pazienti critici, secondo le più recenti linee guida e la pratica clinica, si fonda su un modello integrato che unisce la tempestiva terapia empirica, la verifica microbiologica, il TDM per specifiche classi di antimicrobici a ristretto indice terapeutico, e la revisione continua del trattamento. L'adozione di programmi di ASP e l'implementazione mirata del TDM rappresentano, per tali farmaci, un elemento raccomandato per assicurare un uso razionale e personalizzato degli antibiotici, garantendo al contempo efficacia clinica, sicurezza del paziente e contenimento della resistenza antimicrobica.

4. Utilizzo

A0001 – Per quale scopo, condizione di salute e popolazione è utilizzata la tecnologia?

L'applicazione principale di *cobas*® *Mass Spec Solution* di Roche, nel contesto dei pazienti critici ricoverati in terapia intensiva, riguarda il TDM, con l'obiettivo di ottimizzare la terapia antimicrobica in condizioni cliniche caratterizzate da elevata variabilità farmacocinetica.

Nei pazienti critici, la presenza di insufficienza renale o epatica, l'uso di supporti extracorporei e le alterazioni del volume di distribuzione rendono complessa la previsione delle concentrazioni plasmatiche dei farmaci. In questo scenario, la tecnologia in oggetto consente una quantificazione accurata, sensibile e specifica dei livelli plasmatici di antibiotici, come vancomicina o teicoplanina, garantendo una gestione terapeutica personalizzata e basata su dati oggettivi.

La tecnologia consente di supportare decisioni terapeutiche tempestive e basate su dati oggettivi, riducendo il rischio di tossicità o di inefficacia dovuto a concentrazioni subterapeutiche degli antibiotici e contribuendo così a migliorare la prognosi nei pazienti con infezioni severe o sepsi. L'accuratezza e la sensibilità analitica di *cobas*® *Mass Spec Solution* permettono di monitorare in modo affidabile le variazioni farmacocinetiche tipiche del paziente critico, favorendo un controllo terapeutico più mirato e sicuro.

Bibliografia

1. Vincent, J.-L., & Creteur, J. (2019). The critically ill patient. In C. Ronco, R. Bellomo, J. A. Kellum, & Z. Ricci (Eds.), Critical care nephrology (3rd ed., pp. 1–4.e1). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44942-7.00001-7
2. Società Italiana di Anestesia, Analgesia, Rianimazione e Terapia Intensiva (SIAARTI). (2024). Dati sulla rete delle Terapie Intensive in Italia. Disponibile presso: https://www.siaarti.it – ultima visita ottobre 2025
3. Istituto Mario Negri. (2024). Terapia intensiva in Italia: cos'è, come funziona, come sta migliorando. Disponibile presso: https://www.marionegri.it/magazine/terapia-intensiva-italia--cosa-e-come-funziona - ultima visita ottobre 2025
4. Gastroepato. Il paziente critico. Disponibile presso: https://www.gastroepato.it/paziente_critico.htm - ultima visita ottobre 2025
5. Azienda USL di Reggio Emilia. (2024). Modulo 3 Valutazione. Ausl Re. Disponibile presso: https://www.ausl.re.it/allegati/modulo3_valutazione_140124060125.pdf - ultima visita ottobre 2025
6. Neef, S. K., Hinderer, A. D., Arbash, W., Kinzig, M., Sörgel, F., Wunder, C., Schwab, M., & Hofmann, U. (2024). A high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for therapeutic drug monitoring of 10 drug compounds commonly used for antimicrobial therapy in plasma and serum of critically ill patients: Method optimization, validation, cross-validation and clinical application. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 559, 119690. https://doi.org/10.1016/j.cca.2024.119690
7. Ohbe, H., Satoh, K., Totoki, T., Tanikawa, A., Shirasaki, K., Kuribayashi, Y., Tamura, M., Takatani, Y., Ishikura, H., Nakamura, K., & J-STAD (JAPAN Sepsis Treatment and Diagnosis) Study Group (2024). Definitions, epidemiology, and outcomes of persistent/chronic critical illness: a scoping review for translation to clinical practice. Critical care (London, England), 28(1), 435. https://doi.org/10.1186/s13054-024-05215-4
8. Ludwig, K. R., & Hummon, A. B. (2017). Mass spectrometry for the discovery of biomarkers of sepsis. Molecular bioSystems, 13(4), 648–664. https://doi.org/10.1039/c6mb00656f
9. Li, M., Ren, R., Yan, M., Chen, S., Chen, C., & Yan, J. (2022). Identification of novel biomarkers for sepsis diagnosis via serum proteomic analysis using iTRAQ-2D-LC-MS/MS. Journal of clinical laboratory analysis, 36(1), e24142. https://doi.org/10.1002/jcla.24142
10. Vincent, J. L., Brealey, D., Libert, N., Abidi, N. E., O'Dwyer, M., Zacharowski, K., Mikaszewska-Sokolewicz, M., Schrenzel, J., Simon, F., Wilks, M., Picard-Maureau, M., Chalfin, D. B., Ecker, D. J., Sampath, R., Singer, M., & Rapid Diagnosis of Infections in the Critically Ill Team (2015). Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a Multicenter Study

of Molecular Detection in Bloodstream Infections, Pneumonia, and Sterile Site Infections. Critical care medicine, 43(11), 2283–2291. https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001249

11. Fuentes-Aspe, R., Gutierrez-Arias, R., González-Seguel, F., Marzuca-Nassr, G. N., Torres-Castro, R., Najum-Flores, J., & Seron, P. (2024). Which factors are associated with acquired weakness in the ICU? An overview of systematic reviews and meta-analyses. Journal of intensive care, 12(1), 33. https://doi.org/10.1186/s40560-024-00744-0

12. Grande Ospedale Metropolitano "Bianchi Melacrino Morelli di Reggio Calabria, U.O.C. Medicina e Chirurgia di Accettazione e d'Urgenza, Direttore Dr. Angelo Ianni. Procedura di gestione del paziente critico in sala emergenza del pronto soccorso con intervento del rianimatore. Disponibile presso: https://www.gomrc.it/files/old/PROCEDURA%20DI%20GESTIONE%20DEL%20PAZIENTE%20CRITICO%20IN%20SALA%20EMERGENZA%20DEL%20PRONTO%20SOCCORSO%20CON%20INTERVENTO%20DEL%20RIANIMATORE.pdf – ultima visita ottobre 2025

13. Fridlund, J., Woksepp, H., & Schön, T. (2016). A microbiological method for determining serum levels of broad spectrum β-lactam antibiotics in critically ill patients. Journal of microbiological methods, 129, 23–27. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.07.020

14. Jung, Y., Kim, S., Kim, M. G., Lee, Y. E., Shin, M. G., & Yang, S. (2024). One-Step Detection of Vancomycin in Whole Blood Using the Lateral Flow Immunoassay. Biosensors, 14(3), 129. https://doi.org/10.3390/bios14030129

15. Lanckohr, C., Boeing, C., De Waele, J. J., de Lange, D. W., Schouten, J., Prins, M., Nijsten, M., Povoa, P., Morris, A. C., & Bracht, H. (2021). Antimicrobial stewardship, therapeutic drug monitoring and infection management in the ICU: results from the international A- TEAMICU survey. Annals of intensive care, 11(1), 131. https://doi.org/10.1186/s13613-021-00917-2

16. Abdul-Aziz, M. H., Alffenaar, J. C., Bassetti, M., Bracht, H., Dimopoulos, G., Marriott, D., Neely, M. N., Paiva, J. A., Pea, F., Sjovall, F., Timsit, J. F., Udy, A. A., Wicha, S. G., Zeitlinger, M., De Waele, J. J., Roberts, J. A., Infection Section of European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), Pharmacokinetic/pharmacodynamic and Critically Ill Patient Study Groups of European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Group of International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT), & Infections in the ICU and Sepsis Working Group of International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC) (2020). Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper. Intensive care medicine, 46(6), 1127–1153. https://doi.org/10.1007/s00134-020-06050-1

17. Hanai, Y., Takahashi, Y., Niwa, T., Mayumi, T., Hamada, Y., Kimura, T., Matsumoto, K., Fujii, S., & Takesue, Y. (2022). Clinical practice guidelines for therapeutic drug monitoring

of teicoplanin: a consensus review by the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. The Journal of antimicrobial chemotherapy, 77(4), 869–879. https://doi.org/10.1093/jac/dkab499

18. FADOI. (2020). Linee guida per il monitoraggio della vancomicina nelle infezioni gravi da Stafilococco meticillino-resistenti. FADOI. Disponibile presso: https://www.fadoi.org/en/download/2020-09-01-linee-guida-monitoraggio-della-vancomicina-per-le-infezioni-gravi-da-stafilococco-meticilino-resistenti/ - ultima visita ottobre 2025

PAZIENTI AFFETTE DA SINDROME OVARICA POLIENDOCRINA METABOLICA (PMOS)

1. Popolazione target

A007 – Qual è la popolazione target di questa valutazione?

La popolazione target della presente valutazione comprende donne in età riproduttiva, generalmente tra i 15 e i 45 anni, affette da PMOS. Si tratta di una condizione endocrina cronica e complessa che colpisce un numero considerevole di donne a livello globale e rappresenta una delle principali cause di infertilità anovulatoria. La PMOS si caratterizza per un ampio spettro fenotipico, che va da forme prevalentemente riproduttive, con irregolarità mestruali e disfunzione ovulatoria, a forme metaboliche, con insulino-resistenza, obesità viscerale e alterazioni lipidiche.

La popolazione interessata presenta quindi un'elevata eterogeneità clinica, tanto da rendere necessaria una stratificazione accurata basata su parametri biochimici e metabolici. In tale contesto, il valore aggiunto diagnostico della spettrometria di massa risulta particolarmente rilevante nelle pazienti con sospetto iperandrogenismo biochimico, valori ormonali bassi o *borderline*, o quadri clinici che richiedono una diagnosi differenziale complessa, condizioni nelle quali i metodi immunometrici convenzionali presentano i maggiori limiti di accuratezza. Gli studi più recenti hanno dimostrato come l'impiego della MS nella determinazione del profilo steroideo e metabolico permetta di caratterizzare meglio i sottogruppi di pazienti e identificare fenotipi ad alto rischio metabolico o cardiovascolare (1). Tale approccio consente di distinguere, con maggiore precisione rispetto alle metodiche immunochimiche, le pazienti con PMOS "classica" da quelle con forme lievi o *borderline*.

A0023 – Quante persone appartengono alla popolazione target?

La PMOS rappresenta il disturbo endocrino più frequente nella donna in età fertile, con una prevalenza stimata tra il 6% e il 20% a seconda dei criteri diagnostici utilizzati (Rotterdam, NIH, AE-PMOS). In Italia, si stima che oltre un milione di donne presentino una forma clinica o subclinica di PMOS. La prevalenza è tuttavia fortemente influenzata dal profilo demografico e metabolico della popolazione considerata: le donne con sovrappeso o obesità mostrano un rischio fino a tre volte superiore di sviluppare la sindrome, mentre la frequenza tende a ridursi nelle donne normopeso con ciclo regolare (2). Le analisi metabolomiche basate su UHPLC/ *Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry* – Q-TOFMS hanno inoltre dimostrato che la PMOS non è un'entità univoca, ma una costellazione di alterazioni biochimiche e ormonali, che riflettono un continuum di gravità e rischio (3). Ciò rafforza la necessità di strumenti diagnostici ad alta precisione, capaci di supportare una classificazione fenotipica e terapeutica più accurata.

2. Condizione target

A0002 – Qual è la malattia o la condizione di salute oggetto di questa valutazione?

La PMOS è una condizione endocrino-metabolica cronica caratterizzata da iperandrogenismo, oligo-anovulazione e morfologia ovarica policistica. I criteri di Rotterdam (2003) definiscono la diagnosi in presenza di almeno due di queste tre caratteristiche. A livello fisiopatologico, la PMOS rappresenta un disturbo complesso dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio, con una produzione eccessiva di androgeni e un'alterata risposta insulinica periferica (4).

La PMOS è riconosciuta come una sindrome multisistemica che coinvolge non solo la funzione ovarica, ma anche i meccanismi metabolici e cardiovascolari. La combinazione di insulino-resistenza, iperinsulinemia compensatoria e iperandrogenismo contribuisce alla disfunzione ovulatoria e all'accumulo di tessuto adiposo viscerale. Questi fattori spiegano l'elevata prevalenza di obesità, dislipidemia, intolleranza al glucosio e rischio aumentato di diabete mellito tipo 2 nelle pazienti con PMOS. Oltre alle implicazioni endocrine e metaboliche, la PMOS si associa a una maggiore incidenza di disturbi dell'umore, ansia e ridotta qualità di vita, aspetti riconosciuti e inclusi nelle più recenti linee guida internazionali (*European Society of Human Reproduction and Embryology* – ESHRE/*American Society for Reproductive Medicine* – ASRM 2023). La sindrome, dunque, non si limita a un disordine riproduttivo, ma rappresenta una condizione cronica complessa e di rilevanza clinica e sociale, che richiede un approccio multidimensionale nella diagnosi e nella gestione.

A0003 – Quali sono i fattori di rischio noti per la malattia o la condizione di salute?

La PMOS è una condizione multifattoriale, nella quale interagiscono componenti genetiche, endocrine, metaboliche e ambientali, dando luogo a un quadro clinico complesso e altamente eterogeneo. I fattori di rischio non agiscono in modo indipendente, ma si influenzano reciprocamente, creando un circolo vizioso che contribuisce al mantenimento della disfunzione ovarica, dell'iperandrogenismo e della resistenza insulinica.

Uno dei principali determinanti di suscettibilità è la predisposizione familiare. Numerosi studi hanno evidenziato che la presenza di PMOS, diabete mellito di tipo 2 o obesità in familiari di primo grado, in particolare nella madre o nelle sorelle, aumenta significativamente il rischio di sviluppare la sindrome. Questo dato suggerisce l'esistenza di una base genetica comune legata a geni coinvolti nella regolazione dell'ovulazione, del metabolismo glucidico e della sintesi steroidea. È stato ipotizzato, infatti, che varianti genetiche che influenzano la sensibilità all'insulina o la produzione ovarica di androgeni possano predisporre all'espressione fenotipica della malattia. Tuttavia, la penetranza dei geni associati sembra essere modulata da fattori ambientali e metabolici, come l'indice di massa corporea (BMI) e la dieta, che ne determinano la manifestazione clinica finale. Tra i fattori fisiopatologici centrali, l'insulino-resistenza e l'iperinsulinemia compensatoria rivestono un ruolo chiave nel determinare e amplificare l'iperandrogenismo ovarico. L'insulina, oltre al suo ruolo metabolico classico, esercita un effetto

sinergico con l'ormone luteinizzante (LH) a livello delle cellule della teca ovarica, stimolando la sintesi di androgeni e riducendo la produzione epatica di globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG). Ciò determina un aumento della quota di androgeni liberi circolanti e un'ulteriore alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio (5). Questa condizione di iperinsulinemia cronica agisce anche su altri tessuti bersaglio, contribuendo alla disfunzione endoteliale e all'incremento del rischio cardiovascolare a lungo termine.

Un ruolo determinante è rivestito anche dall'obesità viscerale, la quale aggrava la resistenza insulinica e favorisce uno stato infiammatorio cronico di basso grado. Il tessuto adiposo, in particolare quello addominale, funge da organo endocrino attivo, capace di secernere citochine pro-infiammatorie (TNF-α, IL-6) e adipokine disfunzionali che alterano la sensibilità insulinica e promuovono la disfunzione ovarica. Le pazienti con PMOS e obesità mostrano livelli più elevati di leptina e resistina e ridotti livelli di adiponectina, con conseguente peggioramento del quadro metabolico generale. Inoltre, la sedentarietà e la dieta ipercalorica accentuano ulteriormente la disfunzione insulinica e lo squilibrio ormonale, creando un contesto metabolico sfavorevole che perpetua la malattia (6).

L'insieme di questi dati ha permesso di ridefinire la PMOS non più soltanto come un disturbo endocrino ovarico, ma come una vera e propria condizione sistemica che coinvolge in modo coordinato i metabolismi lipidico, amminoacidico e glucidico. Tale visione integrata è supportata anche dagli studi che evidenziano correlazioni tra profilo lipidico plasmatico alterato, incremento di acidi grassi fosfolipidici e severità del quadro clinico, in particolare nelle pazienti con insulino-resistenza (6,7). In altre parole, il metabolismo alterato rappresenta sia un marcatore diagnostico sia un possibile target terapeutico precoce.

Questa prospettiva conferma come la PMOS sia una sindrome multiorgano e multifattoriale, nella quale la combinazione di fattori genetici, metabolici e ambientali definisce l'intensità e l'evoluzione della malattia.

A0004 – Qual è il decorso naturale della malattia o della condizione di salute?

La PMOS è una condizione cronica e a decorso persistente che tende a manifestarsi fin dall'adolescenza e ad accompagnare la paziente per tutta la vita riproduttiva. In assenza di trattamento, le conseguenze comprendono infertilità anovulatoria, rischio aumentato di diabete mellito tipo 2, dislipidemia, sindrome metabolica e steatosi epatica non alcolica.

Il decorso clinico riflette l'evoluzione dell'insulino-resistenza e dell'iperandrogenismo. In molte pazienti, le alterazioni metaboliche precedono la comparsa dei sintomi riproduttivi, suggerendo un'origine sistemica del disturbo. Le analisi di *plasma metabolomics* hanno rivelato che le pazienti PMOS con insulino-resistenza presentano profili lipidici e amminoacidici alterati, distinti da quelli delle pazienti senza resistenza insulinica (3,8). Queste differenze persistono anche dopo il trattamento sintomatico, indicando che il dismetabolismo sottostante è un tratto stabile della malattia.

È stato dimostrato che la PMOS evolve nel tempo, con variazioni fenotipiche e persistenza del rischio metabolico. Durante l'adolescenza, i segni di iperandrogenismo e irregolarità mestruali

possono rappresentare l'esordio precoce della sindrome, spesso non riconosciuto (9). Nella vita adulta, la disfunzione ovulatoria e l'insulino-resistenza raggiungono la massima espressione. Le evidenze recenti indicano che, pur attenuandosi i sintomi iperandrogenici con l'età, le alterazioni metaboliche e cardiovascolari tendono a permanere, mantenendo la PMOS come condizione cronica ad alto rischio cardiometabolico (10).

In menopausa o nella transizione perimenopausale, aumenta la massa grassa viscerale e si accentua la disfunzione insulinica, confermando la necessità di un monitoraggio metabolico continuo (11). In parallelo, studi recenti hanno evidenziato la persistenza di disturbi psicologici (ansia, depressione, insoddisfazione corporea) anche dopo la stabilizzazione ormonale, sottolineando il carattere multisistemico e biopsicosociale del disturbo (12).

La PMOS è una sindrome evolutiva e sistemica: i segni riproduttivi possono attenuarsi nel tempo, ma la vulnerabilità metabolica, cardiovascolare e psicologica persiste.

A0005 – Quali sono i sintomi e la gravità della malattia o condizione di salute per il paziente?

La PMOS presenta un quadro clinico estremamente eterogeneo e multidimensionale, con manifestazioni che coinvolgono simultaneamente l'ambito riproduttivo, endocrino, metabolico e psicologico.

La varietà dei sintomi, la loro intensità e la combinazione con disfunzioni metaboliche rendono la PMOS una condizione clinica ad elevato impatto sulla qualità di vita e sulla salute a lungo termine della donna.

È riconosciuta come la principale causa di infertilità anovulatoria nelle donne in età fertile e, al tempo stesso, come una delle patologie endocrino-metaboliche più comuni e sottodiagnosticate (1).

Sul piano riproduttivo, i sintomi più frequentemente osservati sono oligomenorrea o amenorrea, che riflettono una ridotta frequenza o assenza dell'ovulazione, e infertilità anovulatoria, causata da una disfunzione cronica del follicolo ovarico. L'assenza di ovulazione regolare determina l'accumulo di follicoli immaturi e la caratteristica morfologia policistica ovarica visibile all'ecografia (2).

Questi sintomi possono manifestarsi già in età adolescenziale, spesso confondendosi con una fisiologica irregolarità mestruale, con conseguente diagnosi tardiva o sottostimata, per questo motivo un'analisi steroidea accurata potrebbe consentire una classificazione precoce e più precisa dei fenotipi clinici (1).

A livello androgenico, il segno clinico più rilevante è l'iperandrogenismo, che può manifestarsi con irsutismo (crescita eccessiva di peli terminali in sedi tipicamente maschili), acne severa, seborrea e, nei casi più marcati, alopecia androgenetica (3,13).

Tali manifestazioni, oltre a riflettere un disordine endocrino, rappresentano una delle principali fonti di disagio psicologico e sociale per le pazienti. L'impatto estetico e relazionale dell'irsutismo e dell'acne è infatti notevole: diversi studi hanno dimostrato una correlazione tra gravità dei segni

cutanei e peggioramento della qualità di vita, con incremento di ansia, depressione e riduzione dell'autostima (3).

In molti casi, la PMOS si associa a *body image dissatisfaction* e a una percezione alterata della propria femminilità, con ripercussioni sulla sfera relazionale e sessuale.

Dal punto di vista metabolico, la PMOS non è un disturbo limitato all'ovaio ma una condizione sistemica, caratterizzata da profonde alterazioni del metabolismo glucidico e lipidico.

Le pazienti presentano frequentemente insulino-resistenza e iperinsulinemia compensatoria, condizioni che amplificano la sintesi di androgeni a livello ovarico e aggravano il quadro di iperandrogenismo.

Sono inoltre comuni dislipidemia (aumento dei trigliceridi e riduzione dell'*High-Density Lipoprotein* – HDL), resistenza alla leptina, aumento della massa grassa viscerale e alterazioni del metabolismo glucidico, con conseguente incremento del rischio di intolleranza al glucosio e diabete mellito di tipo 2 (2,5).

Queste alterazioni metaboliche sono particolarmente evidenti nei fenotipi caratterizzati da sovrappeso o obesità viscerale, nei quali il tessuto adiposo funge da vero e proprio organo endocrino, capace di secernere citochine infiammatorie (TNF-α, IL-6) e di ridurre la produzione di SHBG, amplificando la disponibilità di androgeni liberi e perpetuando il circolo vizioso tra iperandrogenismo e insulino-resistenza. È stato infatti dimostrato che le donne con PMOS e insulino-resistenza presentano profili lipidici plasmatici profondamente alterati, con incremento degli acidi grassi fosfolipidici e correlazione diretta tra entità della disfunzione lipidica e gravità clinica (7).

Le evidenze metabolomiche ottenute mediante LC-MS/MS e GC-MS hanno fornito una chiave di lettura più precisa della complessità biochimica della PMOS, secondo cui le donne con PMOS presentano concentrazioni plasmatiche significativamente più elevate di testosterone totale, androstenedione e 17-idrossiprogesterone rispetto ai controlli sani (14).

È stato, inoltre, confermato che l'aumento dei livelli di androgeni circolanti è strettamente correlato sia con la gravità dell'iperandrogenismo clinico, sia con la presenza di insulino-resistenza, sottolineando come le metodiche immunochimiche tradizionali tendano a sottostimare i livelli reali di androgeni e a compromettere la valutazione clinica della gravità del disturbo (13).

3. Gestione attuale della patologia

A0018 – Quali sono le altre tipiche o comuni alternative alla tecnologia corrente?

Il dosaggio degli androgeni e degli steroidi sessuali nelle pazienti con sospetta PMOS è tradizionalmente effettuato mediante metodi immunochimici come ELISA o CLIA. Sebbene rapidi e automatizzati, tali metodi presentano limiti significativi in termini di specificità, a causa della cross-reattività tra molecole steroidee strutturalmente simili.

Le metodiche basate su MS (LC-MS/MS o GC-MS) costituiscono oggi lo standard di riferimento per la quantificazione accurata degli ormoni sessuali, consentendo la misurazione simultanea di più androgeni con un'unica analisi, riducendo errori e variabilità interlaboratorio (15). Analogamente, l'uso della *dispersive magnetic solid-phase extraction* (d-MSPE) integrata alla LC-MS/MS permette una purificazione efficiente del campione e un'accuratezza diagnostica superiore. Più nel dettaglio, la d-MSPE impiega nanoparticelle magnetiche funzionalizzate (es. Fe3O4@GO o C18-beads) disperse nel campione (200-250 µL siero/plasma), che catturano selettivamente androgeni/steroidi in 1-3 min, seguiti da separazione magnetica ed eluizione automatica. Questo elimina proteine/lipidi/fosfolipidi (principali cause di ME), con recupero 85-95%, ME <15% e LOD 0.01-0.1 ng/mL. Validato su centinaia di campioni PMOS, supera immunodosaggi in specificità (no *cross-reattività*) e *multiplexing* (8-15 ormoni simultanei), riducendo la variabilità inter-laboratorio (13).

A0024 – Come la malattia o condizione di salute è diagnosticata in accordo con le Linee Guida?

Secondo le linee guida ESHRE/ASRM (2023), la diagnosi di PMOS si basa sulla presenza di almeno due tra i seguenti elementi:

- Oligo/anovulazione;
- Iperandrogenismo clinico o biochimico;
- Morfologia policistica ovarica all'ecografia.

Per le donne adulte, le stesse linee guida propongono un algoritmo aggiornato che include l'impiego dell'ormone antimülleriano (AMH) come alternativa all'ecografia per la valutazione del criterio di morfologia ovarica policistica all'interno dell'algoritmo diagnostico, rendendo la diagnosi più standardizzata e accessibile, ferma restando la necessità di valutare l'AMH in combinazione con gli altri criteri di Rotterdam e non come test diagnostico autonomo. In adolescenza, invece, l'uso dell'AMH è sconsigliato e la diagnosi deve basarsi esclusivamente su oligo/anovulazione persistente e iperandrogenismo clinico o biochimico (9). È inoltre fondamentale escludere altre cause di iperandrogenismo e disfunzione ovulatoria, come iperplasia surrenalica congenita, sindrome di Cushing, iperprolattinemia e disfunzioni tiroidee, prima di confermare la diagnosi.

L'accurata valutazione biochimica degli ormoni rappresenta un elemento chiave nella conferma della PMOS. La misurazione degli androgeni principali, come testosterone totale e libero, androstenedione e deidroepiandrosterone solfato (DHEAS), permette di identificare l'iperandrogenismo e, nel caso del DHEAS, di distinguere un'origine ovarica da una surrenalica. Altri ormoni utili nel percorso diagnostico comprendono il 17-idrossiprogesterone, per escludere forme non classiche di iperplasia surrenalica congenita, e le gonadotropine ipofisarie, LH e l'ormone follicolo-stimolante (FSH), che consentono di valutare il rapporto LH/FSH frequentemente alterato nelle donne con PMOS.

Studi condotti con LC-MS/MS hanno evidenziato come la MS migliori significativamente la specificità diagnostica rispetto ai metodi immunometrici tradizionali, particolarmente alle basse concentrazioni di androgeni tipiche del sesso femminile. *Cobas® Mass Spec Solution*, consente il

dosaggio simultaneo di androgeni e altri ormoni rilevanti per la PMOS, come androstenedione, estradiolo, testosterone, deidroepiandrosterone (DHEA), DHEAS, diidrotestosterone (DHT) e progesterone. Questa caratteristica permette di ottenere un profilo ormonale completo, preciso e affidabile, riducendo le diagnosi errate e favorendo la riclassificazione dei casi *borderline* in accordo con i criteri di Rotterdam (16).

A0025 – Come la malattia o condizione di salute è gestita in accordo con le Linee Guida?

La gestione clinica della PMOS richiede un approccio multidisciplinare, integrato e personalizzato, poiché la sindrome coinvolge contemporaneamente la funzione riproduttiva, endocrina e metabolica della donna.

Le raccomandazioni delle principali linee guida internazionali (ESHRE/ASRM 2023, *Endocrine Society*, *National Institute for Health and Care Excellence* – NICE) sottolineano la necessità di adattare il trattamento al fenotipo clinico predominante e agli obiettivi specifici della paziente (ripristino della fertilità, regolarizzazione del ciclo mestruale, controllo dell'iperandrogenismo o prevenzione delle complicanze metaboliche).

Le modifiche comportamentali rappresentano il cardine iniziale della terapia e vengono raccomandate a tutte le pazienti, indipendentemente dal fenotipo.

Gli interventi mirano principalmente alla riduzione del peso corporeo, alla correzione dell'alimentazione e all'aumento dell'attività fisica regolare, con l'obiettivo di migliorare la sensibilità insulinica e ripristinare la funzione ovulatoria. Una modesta perdita di peso (5–10%) può infatti determinare miglioramenti significativi nella regolarità mestruale e nei livelli sierici di androgeni (2). Gli studi basati su metabolomica e MS (3) hanno evidenziato che tali interventi modificano in modo favorevole il profilo lipidico e amminoacidico, riducendo la concentrazione di *marker* associati a insulino-resistenza e migliorando la risposta endocrina complessiva.

Parallelamente, i contraccettivi orali combinati rappresentano il trattamento di prima linea nelle donne che non ricercano una gravidanza, con lo scopo di regolarizzare il ciclo mestruale, ridurre l'iperandrogenismo e proteggere l'endometrio da un'eccessiva stimolazione estrogenica.

I contraccettivi orali combinanti (COC) agiscono diminuendo la secrezione di LH e sopprimendo la produzione ovarica di androgeni, oltre ad aumentare la concentrazione di SHBG, riducendo così la quota di testosterone libero, sia essa misurata direttamente sia stimata mediante indici calcolati come il *Free Androgen Index* (FAI).

Le linee guida ESHRE raccomandano formulazioni con basso contenuto di estrogeni e progestinici non androgenici. La risposta terapeutica può variare in base al fenotipo: gli studi LC-MS/MS hanno dimostrato che la riduzione dei livelli di testosterone totale e androstenedione dopo 3–6 mesi di trattamento è più marcata nei fenotipi iperandrogenici classici (14). La MS consente quindi di monitorare con precisione la risposta ormonale alla terapia, migliorando la personalizzazione dei protocolli farmacologici.

Un ulteriore pilastro della gestione terapeutica è rappresentato dalle terapie insulino-sensibilizzanti. Nelle pazienti con evidenze di insulino-resistenza, iperinsulinemia o alterata

tolleranza al glucosio, il trattamento con metformina è indicato come terapia di supporto metabolico (5,13).

La metformina agisce migliorando la sensibilità periferica all'insulina, riducendo la produzione epatica di glucosio e, indirettamente, abbassando i livelli circolanti di androgeni.

L'impiego della metformina si è dimostrato particolarmente utile nei fenotipi PMOS con obesità viscerale e alterazioni glicemiche. La terapia insulino-sensibilizzante migliora anche i profili lipidici e steroidei, con una diminuzione dei *marker* metabolomici associati a disfunzione ovarica (3,7).

Inoltre, la metformina può essere associata ai COC o ad altre terapie, con l'obiettivo di ridurre il rischio cardiovascolare e metabolico a lungo termine.

Nelle donne che desiderano una gravidanza, la gestione terapeutica è orientata al ripristino dell'ovulazione. Il letrozolo, un inibitore dell'aromatasi, è oggi considerato il farmaco di prima scelta per l'induzione dell'ovulazione, poiché offre tassi di gravidanza superiori al clomifene citrato e un minor rischio di gravidanze multiple. Nei casi resistenti, si può ricorrere all'uso di gonadotropine esogene o a tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA). Anche in questo contesto, il monitoraggio ormonale mediante MS consente di valutare con maggiore precisione l'andamento dei livelli di estradiolo, progesterone e androgeni, ottimizzando la tempistica dell'induzione ovulatoria e la risposta ovarica (13,14). Questo approccio riduce il rischio di iperstimolazione ovarica e aumenta la sicurezza complessiva del trattamento.

4. Utilizzo

A0001 – Per quale scopo, condizione di salute e popolazione è utilizzata la tecnologia?

Cobas® *Mass Spec Solution* trova applicazione nella diagnosi e nel monitoraggio delle donne affette da PMOS. Essa consente di:

- Quantificare con precisione gli androgeni plasmatici e i loro precursori;
- Migliorare la concordanza diagnostica con i criteri internazionali;
- Supportare la riclassificazione dei fenotipi *borderline*;

Attraverso il dosaggio *multiplex* e la capacità di correlare parametri ormonali e metabolici, la MS rappresenta un pilastro della medicina personalizzata nella PMOS, garantendo una diagnosi più accurata e una gestione clinica più efficace (16).

Bibliografia

1. Handelsman, D. J., Teede, H. J., Desai, R., Norman, R. J., & Moran, L. J. (2017). Performance of mass spectrometry steroid profiling for diagnosis of polycystic ovary syndrome. Human reproduction (Oxford, England), 32(2), 418–422. https://doi.org/10.1093/humrep/dew328
2. Yang, Y., Ding, M., Di, N., Azziz, R., Yang, D., & Zhao, X. (2019). Close correlation between hyperandrogenism and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome-Based on liquid chromatography with tandem mass spectrometry measurements. Journal of clinical laboratory analysis, 33(3), e22699. https://doi.org/10.1002/jcla.22699
3. Chen, Y. X., Zhang, X. J., Huang, J., Zhou, S. J., Liu, F., Jiang, L. L., Chen, M., Wan, J. B., & Yang, D. Z. (2016). UHPLC/Q-TOFMS-based plasma metabolomics of polycystic ovary syndrome patients with and without insulin resistance. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 121, 141–150. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.01.025
4. Cao, Z., Lu, Y., Cong, Y., Liu, Y., Li, Y., Wang, H., Zhang, Q., Huang, W., Liu, J., Dong, Y., Tang, G., Luo, Y. R., Yin, C., & Zhai, Y. (2020). Simultaneous quantitation of four androgens and 17-hydroxyprogesterone in polycystic ovarian syndrome patients by LC-MS/MS. Journal of clinical laboratory analysis, 34(12), e23539. https://doi.org/10.1002/jcla.23539
5. Xu, S., Liu, Y., Xue, K., Liu, X., Jia, G., Zeng, Y., & Chen, Y. (2022). Diagnostic value of total testosterone and free androgen index measured by LC-MS/MS for PMOS and insulin resistance. Journal of clinical laboratory analysis, 36(11), e24739. https://doi.org/10.1002/jcla.24739
6. Paczkowska, K., Rachoń, D., Berg, A., Rybka, J., Kapczyńska, K., Bolanowski, M., & Daroszewski, J. (2023). Alteration of Branched-Chain and Aromatic Amino Acid Profile as a Novel Approach in Studying Polycystic Ovary Syndrome Pathogenesis. N utrients, 15(19), 4153. https://doi.org/10.3390/nu15194153
7. Zhang, X. J., Huang, L. L., Su, H., Chen, Y. X., Huang, J., He, C., Li, P., Yang, D. Z., & Wan, J. B. (2014). Characterizing plasma phospholipid fatty acid profiles of polycystic ovary syndrom e patients with and without insulin resistance using GC-MS and chemometrics approach. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 95, 85–92. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.02.014
8. Yarmolinskaya, M. I., Glavnova, O. B., Vorokhobina, N. V., Velikanova, L. I., & Malevanaya, E. V. (2025). New characteristics of polycystic ovary syndrome phenotypes according to gas chromatography-mass spectrometry-based study of urinary steroid metabolome. Minerva obstetrics and gynecology, 77(2), 93–102. https://doi.org/10.23736/S2724-606X.24.05461-7.
9. Peña, A. S., Witchel, S. F., Boivin, J., Burgert, T. S., Ee, C., Hoeger, K. M., Lujan, M. E., Mousa, A., Oberfield, S., Tay, C. T., & Teede, H. (2025). International evidence-based recommendations for polycystic ovary syndrome in adolescents.BMC Medicine, 23, Article 151. https://doi.org/10.1186/s12916-025-03901-w

10. Kiconco, S., Tay, C. T., Rassie, K. L., Azziz, R., Teede, H. J., & Joham, A. E. (2022). Where are we in understanding the natural history of polycystic ovary syndrome? A systematic review of longitudinal cohort studies. Human Reproduction, 37(7), 1522–1533. https://doi.org/10.1093/humrep/deac077
11. Teede, H. J. et al. (2023). Recommendations from the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. Human Reproduction, 38(8), 1376–1398. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37580314/
12. Teede, H. J., Moran, L. J., Morman, R., Gibson, M., Dokras, A., Berry, L., Laven, J. S. E., Joham, A., Piltonen, T. T., Costello, M. F., Norman, R. J., & Khomami, M. B. (2025). Polycystic ovary syndrome perspectives from patients and health professionals on clinical features, current name, and renaming: a longitudinal international online survey.eClinicalMedicine, 84, 103287. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2025.103287
13. Xianhua Zhang, Huiyu Xu, Guoshuang Feng, Li Yang, Libo Zhao, Rong Li, Rongsheng Zhao, Sensitive HPLC-DMS/MS/MS method coupled with dispersive magnetic solid phase extraction followed by in situ derivatization for the simultaneous determination of multiplexing androgens and 17-hydroxyprogesterone in human serum and its application to patients with polycystic ovarian syndrome, Clinica Chimica Acta, Volume 538, 2023, Pages 221-230, https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.11.025
14. Zhang, X., Zhou, C., Xu, H., Feng, Y., Yang, P., Zhai, S., Song, J., & Yang, L. (2021). A sensitive HPLC-DMS/MS/MS method for multiplex analysis of androgens in human serum without derivatization and its application to PMOS patients. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 192, 113680. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113680
15. Hou, E., Zhao, Y., Hang, J., & Qiao, J. (2021). Metabolomics and correlation network analysis of follicular fluid reveals associatio ns between l-tryptophan, l-tyrosine and polycystic ovary syndrome. Biomedical chromatography : BMC, 35(3), e4993. https://doi.org/10.1002/bmc.4993
16. Rajska, A., Raczak-Gutknecht, J., Struck-Lewicka, W., Buszewska-Forajta, M., Wityk, P., Verding, P., Kowalewska, A., Siluk, D., Rachoń, D., & Jan Markuszewski, M. (2024). Determination of urinary androgens in women with polycystic ovary syndrome using LC-QqQ/MS and the application of thin film solid-phase microextraction (TF-SPME). Journal of chromatography. A, 1718, 464735. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2024.464735

Dominio TEC
Descrizione delle caratteristiche tecniche della tecnologia

Topic & Issue del dominio

Descrizione delle caratteristiche tecniche della tecnologia (TEC)

Tabella 6 – *Topic & Issue* Descrizione e caratteristiche tecniche della tecnologia (TEC)

Topic	***Issue***	***Assessment element ID***
Caratteristiche della tecnologia	Che tipo di tecnologia è e quali sono i comparatori?	B0001
	Qual è il beneficio dichiarato della tecnologia in relazione ai comparatori?	B0002
	Chi gestisce la tecnologia e il/i comparatore/i e in quale contesto e livello di assistenza vengono forniti?	B0004
Formazione e informazioni necessarie per l'utilizzo della tecnologia	Quali investimenti materiali sono necessari per l'utilizzo della tecnologia?	B0007
	Quali tipi di requisiti in termini di processi di qualificazione e garanzia della qualità sono necessari per l'uso o la manutenzione della tecnologia?	B0012
	Quali competenze, caratteristiche di formazione e informazioni sono necessarie per il personale che utilizza la tecnologia?	B0013
Stato regolatorio	Per quali indicazioni la nuova tecnologia ha ricevuto l'autorizzazione o il marchio CE?	A0020
	Qual è lo stato del rimborso della tecnologia?	A0021
Altro	Chi produce la tecnologia?	A0022

1. Caratteristiche della tecnologia

B0001 – Che tipo di tecnologia è e quali sono i comparatori?

cobas® *Mass Spec Solution* è una piattaforma diagnostica avanzata e completamente automatizzata, progettata per fornire misurazioni precise e affidabili attraverso l'integrazione di diverse tecnologie diagnostiche in un unico sistema. *cobas*® *Mass Spec Solution* integra le tecnologie LC e MS in un flusso di lavoro altamente automatizzato, riducendo la necessità di interventi manuali e favorendo una maggiore efficienza operativa nei laboratori clinici. *cobas*® *i 601* è l'analizzatore della piattaforma *cobas*® *Mass Spec Solution* e svolge un ruolo cruciale nell'automazione del flusso di lavoro diagnostico. Esso integra funzioni di preparazione automatica dei campioni, LC e MS, rendendo l'analisi rapida, precisa e altamente sensibile *cobas*® *i 601* è progettato per ridurre al minimo l'intervento umano e aumentare la produttività del laboratorio, processando grandi volumi di campioni con alta efficienza. Ciò aumenta la standardizzazione e permette di ridurre gli errori di processo.

I reattivi *Ionify*®, ulteriori componenti chiave della tecnologia, sono appositamente progettati per essere utilizzati con il sistema *cobas*® *i 601* e garantiscono la precisione delle analisi. Questi reagenti sono progettati specificamente per ogni analita, permettendo una misurazione accurata e tracciabile. La piattaforma è compatibile con test per analiti quali ormoni steroidei (es. testosterone, estradiolo, aldosterone), farmaci immunosoppressori (es. tacrolimus, ciclosporina, everolimus), vitamina D, droghe d'abuso, antiepilettici e antibiotici; inoltre supporta ulteriori analiti di interesse per il TDM, tra cui *methotrexate*, *voriconazole*, *acetaminophen*, *digoxin*, *salicylate* e *theophylline*. Ogni test è calibrato con valori target assegnati, che consentono di ottenere risultati riproducibili e di alta qualità; le calibrazioni sono definite in conformità alla norma ISO 17511 e assicurano la tracciabilità metrologica ai metodi di riferimento, mentre una solida curva di calibrazione principale assicura l'affidabilità dei risultati.

Figura 2 – L'analizzatore *cobas*® *i 601*

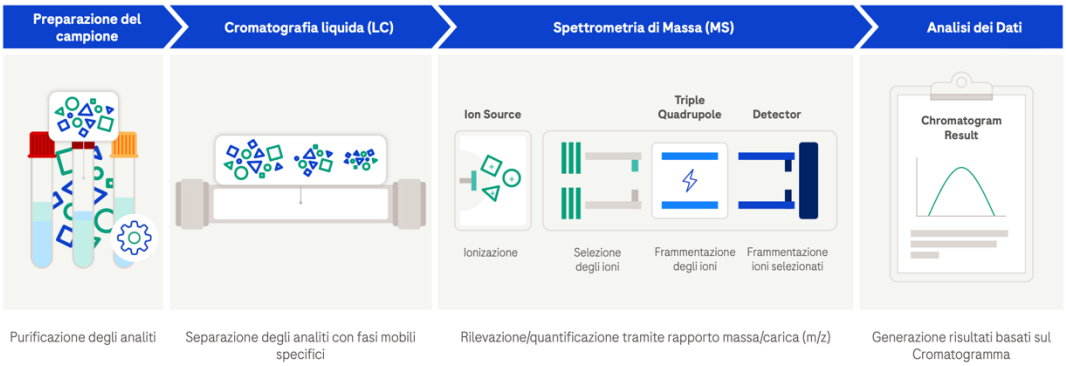


cobas® *i 601* è costituito da quattro componenti principali che lavorano insieme in un unico sistema per offrire un'analisi fluida e precisa:

1. Unità di caricamento campioni (SSU, *Sample Supply Unit*): Questa unità gestisce il caricamento automatizzato dei campioni, supportando un volume elevato di test in modo continuo e rapido. Il sistema consente di caricare fino a 300 campioni contemporaneamente, con la possibilità di utilizzare una porta STAT per campioni urgenti. Ciò consente ai laboratori di rispondere rapidamente a richieste di test con una capacità di elaborazione ad alte prestazioni. L'unità di caricamento è progettata per ottimizzare il flusso di lavoro e garantire che i campioni vengano processati senza ritardi.
2. Unità di preparazione dei campioni (SPU, *Sample Preparation Unit*): Questo componente gestisce la purificazione del campione attraverso l'utilizzo di una tecnologia brevettata che sfrutta particelle paramagnetiche. Le particelle si legano agli analiti target nel campione in maniera selettiva permettendo di separare le molecole di interesse da componenti della matrice e dagli interferenti esogeni ed endogeni. Questo processo di preparazione è completamente automatizzato, riducendo il rischio di errori umani e aumentando l'efficienza del flusso di lavoro. Il sistema è, inoltre, progettato per lavorare in modalità *random access*, permettendo al laboratorio di processare campioni in modo flessibile e dinamico senza seguire l'esecuzione dei campioni in batch in un ordine predefinito, ottimizzando i tempi di risposta.
3. Unità di cromatografia liquida (LC, *Liquid Chromatography Unit*): La LC separa gli analiti presenti nel campione in base alle loro proprietà chimiche. Utilizzando colonne cromatografiche specifiche per ogni test, il sistema assicura una separazione altamente precisa degli analiti da altre molecole presenti nel campione. Questo processo è essenziale per ridurre le interferenze e migliorare l'accuratezza dei risultati. La configurazione a 8 canali paralleli permette di eseguire fino a 100 iniezioni per ora, garantendo alta produttività. Inoltre, la possibilità di miscelare automaticamente le fasi mobili durante il processo migliora ulteriormente la flessibilità e l'efficienza.
4. Unità di MS (MS, *Mass Spectrometry Unit*): La MS rappresenta il cuore analitico della piattaforma. L'unità utilizza uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo tandem (QQQ), che consente di rilevare e quantificare gli analiti in base al loro rapporto massa/carica (m/z). Il sistema opera tramite ionizzazione *elettrospray* (ESI), una tecnica che garantisce elevata sensibilità e specificità anche per analiti presenti a concentrazioni molto basse. Un aspetto fondamentale dell'unità MS è l'impiego della modalità di acquisizione *Multiple Reaction Monitoring* (MRM), che costituisce il principio di misurazione centrale dell'unità. In questa modalità, il primo quadrupolo seleziona lo ione precursore dell'analita, il secondo quadrupolo lo frammenta tramite collisione controllata e il terzo quadrupolo rileva specifici ioni-prodotto. Il monitoraggio simultaneo di più transizioni precursore/prodotto consente una selettività elevata e la capacità di distinguere l'analita target da potenziali interferenti strutturalmente simili. Questa caratteristica contribuisce in modo determinante alla riduzione di falsi positivi e falsi negativi e alla capacità della piattaforma di analizzare con precisione molecole complesse come immunosoppressori, steroidi, antiepilettici e vitamine. L'analisi MS genera un cromatogramma, nel quale l'intensità delle transizioni selezionate viene rappresentata in funzione del tempo di ritenzione; tale profilo costituisce la base per la quantificazione degli analiti in modalità MRM. Grazie alla combinazione di ionizzazione ESI, tecnologia QQQ e

acquisizione MRM, l'unità di MS garantisce robustezza analitica, elevata specificità e affidabilità dei risultati anche in matrici biologiche complesse.

Figura 3 – Processo analitico di *cobas*® *Mass Spec Solution*



Un altro aspetto chiave di *cobas*® *Mass Spec Solution* è l'integrazione con i sistemi informatici di laboratorio (LIS), che permette di gestire i dati in modo centralizzato e automatizzato. L'analisi dei dati è supportata da algoritmi di autoverifica, configurati sulla base di regole di validazione documentate e definite a livello locale dal laboratorio, che contribuiscono a verificare la conformità dei risultati agli *standard* diagnostici e metrologici. La validazione finale dei risultati rimane sotto la supervisione del personale di laboratorio, che ne mantiene la piena responsabilità. Inoltre, il sistema permette di ottenere una tracciabilità completa dei test, assicurando che ogni risultato sia facilmente accessibile per la revisione e l'archiviazione.

Marcatori analitici e di qualità

Per garantire l'accuratezza, la specificità e la tracciabilità metrologica dei risultati, la piattaforma utilizza molteplici marcatori integrati nel processo analitico. L'identificazione dell'analita si basa sulla MS tandem in modalità MRM, che consente il riconoscimento selettivo delle molecole attraverso il monitoraggio di specifiche transizioni m/z tra ione precursore e ioni prodotto. A supporto di tale identificazione, il sistema utilizza criteri di conferma aggiuntivi quali il rapporto tra ione quantificatore e ione qualificatore (*ion ratio*) e la verifica del tempo di ritenzione cromatografico, che contribuiscono a distinguere l'analita target da potenziali interferenti strutturalmente simili.

Nell'ambito del menu analitico disponibile, i singoli *assay* presentano caratteristiche specifiche in termini di matrice biologica, destinazione d'uso e *performance* analitiche. La **Tabella 7** riporta, per ciascun analita, lo status CE-IVD, la matrice di riferimento, *l'intended use,* l'intervallo di misura e il limite di quantificazione (LoQ).

Tabella 7 – Caratteristiche regolatorie, cliniche e analitiche degli *assay* disponibili per *cobas*® *Mass Spec Solution*

Analita	Status CE-IVD	Matrice	*Intended use*	Intervallo di misura	LoQ
Ciclosporina	CE-IVD	Sangue intero	Supporto gestione pazienti trapianto cuore, fegato, rene, polmone, midollo osseo in terapia con ciclosporina	10.0-1500 ng/mL	10.0 ng/mL
Everolimus	CE-IVD	Sangue intero	Supporto gestione pazienti trapianto rene, fegato, cuore in terapia con everolimus	0.50-20 ng/mL	0.50 ng/mL
Sirolimus	CE-IVD	Sangue intero	Supporto gestione pazienti trapianto rene in terapia con sirolimus	0.50-30 ng/mL	0.50 ng/mL
Tacrolimus	CE-IVD	Sangue intero	Supporto gestione pazienti trapianto rene, fegato, cuore in terapia con tacrolimus	0.50-30 ng/mL	0.50 ng/mL
Aldosterone	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio disordini funzionali ghiandola surrenale	25-1000 pg/mL	25 pg/mL
Androstenedione	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio disturbi da eccesso di androgeni	0.01-10 ng/mL	0.01 ng/mL
Estradiolo	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio metabolismo steroideo, funzionalità ovarica, terapie fertilità	1.5-4000 pg/mL	1.5 pg/mL
Testosterone	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio disordini ormoni sessuali maschili	0.01-15 ng/mL	0.01 ng/mL
Linezolid	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico livelli linezolid	0.100-40.0 µg/mL	0.100 µg/mL
Vancomicina	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico livelli vancomicina	1.50-50.0 µg/mL	1.50 µg/mL
Fenitoina (totale)	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico fenitoina	0.800-40.0 µg/mL	0.800 µg/mL
Fenitoina libera	CE-IVD	Siero/Plasma (ultrafiltrato)	Monitoraggio terapeutico fenitoina libera	0.100-4.00 µg/mL	0.100 µg/mL
Acido valproico (totale)	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico acido valproico	3.00-120 µg/mL	3.00 µg/mL
Acido valproico libero	CE-IVD	Siero/Plasma (ultrafiltrato)	Monitoraggio terapeutico acido valproico libero	2.00-35.0 µg/mL	2.00 µg/mL
Carbamazepina	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico carbamazepina	1.00-5.0 µg/mL	1.00 µg/mL
Carbamazepina-10,11-epossido	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio metabolita attivo della carbamazepina	0.0500-0.0 µg/mL	0.0500 µg/mL
Gabapentin	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico gabapentin	0.400-40.0 µg/mL	0.400 µg/mL
Lamotrigina	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico lamotrigina	0.800-20.0 µg/mL	0.800 µg/mL
Fenobarbitale	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico fenobarbitale	2.40-60.0 µg/mL	2.40 µg/mL
Primidone	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico primidone (con dosaggio congiunto di fenobarbitale)	0.200-24.0 µg/mL	0.200 µg/mL

Topiramato	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico topiramato	1.50-30.0 µg/mL	1.50 µg/mL
Zonisamide	CE-IVD	Siero/Plasma	Monitoraggio terapeutico zonisamide	2.00-50.0 µg/mL	2.00 µg/mL
17-Idrossiprogesterone	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio disordini metabolismo steroideo (CAH, PCOS, iperandrogenismo)	0.0250-50 ng/mL	0.0250 ng/mL
Cortisolo	CE-IVD	Siero/Plasma	Diagnosi/monitoraggio disordini funzionali ghiandola surrenale (Cushing, insufficienza surrenalica)	1.0-500 ng/mL	1.0 ng/mL
Cortisone	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio metabolismo steroideo (eccesso apparente mineralcorticoidi)	0.10-100 ng/mL	0.10 ng/mL
DHEA	CE-IVD	Siero/Plasma	Diagnosi disturbi metabolismo steroideo (CAH)	0.10-30 ng/mL	0.10 ng/mL
DHEAS	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi disturbi metabolismo steroideo (iperandrogenismo, PCOS, CAH)	30.0-7000 ng/mL	30.0 ng/mL
Diidrotestosterone	CE-IVD	Siero/Plasma	Supporto diagnosi/monitoraggio disturbi metabolismo steroideo (iperandrogenismo, deficit 5α-reduttasi)	0.050-2.30 ng/mL	0.050 ng/mL
Progesterone	CE-IVD	Siero/Plasma	Diagnosi disordini fertilità femminile (ovulazione, fase luteale)	0.050-60 ng/mL	0.050 ng/mL

Oltre ai marcatori di identificazione analitica, la piattaforma impiega ulteriori indicatori di qualità del processo, tra cui:

- Standard interno isotopico, utilizzato per compensare le variabilità di estrazione e ionizzazione e garantire accuratezza e recupero costante;
- Parametri di qualità cromatografica, quali forma, simmetria, ampiezza e intensità del picco, inclusi indicatori di rapporto segnale/rumore, impiegati per verificare la stabilità della separazione LC;
- Valori target assegnati ai calibratori, definiti attraverso processi di standardizzazione multilivello e conformi alla norma ISO 17511;
- Verifica della calibrazione su livelli multipli (alto, basso e multi-range), finalizzata alla conferma di linearità, accuratezza e coerenza del metodo;
- Monitoraggio dei *trend* dei controlli di qualità (QC), con valutazione della stabilità del sistema, individuazione di eventuali drift e rilevazione di anomalie di performance;
- Marcatori di tracciabilità metrologica conformi alla norma ISO 17511, la cui adeguatezza in uso è garantita dal laboratorio attraverso verifica locale delle prestazioni (secondo i requisiti della norma ISO 15189), qualifica dell'installazione, operativa e delle prestazioni (IQ/OQ/PQ), partecipazione a programmi di valutazione esterna della qualità (EQA), stima dell'incertezza di misura e valutazione di *carryover* e interferenze, a garanzia di risultati tracciabili, riproducibili e robusti rispetto a variazioni di lotto, condizioni operative e fattori preanalitici.

L'integrazione di questi marcatori nei reagenti Ionify® e nei workflow automatizzati di cobas® i 601 consente un controllo continuo della qualità lungo l'intero processo diagnostico e supporta la conformità ai requisiti regolatori applicabili.

Marcatori clinici

Il menù di test di *cobas® Mass Spec Solution*, supportato dai reagenti *Ionify®*, copre un ampio ventaglio di marcatori clinici rilevanti per le aree di trapiantologia, endocrinologia e medicina critica. Tra i pannelli disponibili, *Ionify® Immunosuppressants e Ionify® 3MV* comprendono tacrolimus, ciclosporina, sirolimus, everolimus, acido micofenolico (MPA) e MPA-glucuronide, farmaci fondamentali nel TDM dei pazienti sottoposti a trapianto. La misurazione accurata di questi analiti è essenziale poiché il loro intervallo terapeutico è ristretto e la farmacocinetica può variare significativamente, rendendo la quantificazione tramite LC-MS/MS particolarmente utile per prevenire fenomeni di rigetto e limitare la tossicità.

Un secondo ambito di particolare rilevanza clinica è quello endocrinologico, coperto dai pannelli *Ionify® Steroids*, che includono testosterone, estradiolo, aldosterone, progesterone, androstenedione, 17-idrossiprogesterone, diidrotestosterone (DHT), cortisone, cortisolo, DHEA e DHEA-S. Questi marcatori permettono una valutazione approfondita del profilo steroideo, supportando la diagnosi delle condizioni iperandrogeniche, incluse le PMOS, e dei disturbi dell'asse surrenalico. L'utilizzo della MS consente di ridurre interferenze e cross-reattività tipiche degli immunodosaggi, aumentando la precisione diagnostica.

Ionify® AED (*Anti-epilect drug*) comprendono farmaci antiepilettici quali carbamazepina, acido valproico, lamotrigina, fenitoina e levetiracetam, carbamazepina-10,11-epossido, fenobarbital, primidone, gabapentin, zonisamide e topiramato, frequentemente utilizzati nella gestione delle crisi convulsive e nei quadri neurologici complessi. Nei pazienti instabili, la farmacocinetica di questi farmaci può risultare notevolmente alterata, rendendo il TDM uno strumento essenziale per prevenire tossicità o inefficacia terapeutica.

Accanto agli antiepilettici, la piattaforma include il pannello *Ionify® Antibiotics*, composto da antibiotici critici quali linezolid, vancomicina, piperacillina e meropenem. In terapia intensiva questi farmaci presentano una variabilità farmacocinetica significativa legata a condizioni come insufficienza renale, sepsi o politerapie, e richiedono pertanto un monitoraggio frequente per garantire una concentrazione efficace e sicura. La capacità di eseguire tali misurazioni con rapidità e alta specificità rappresenta un vantaggio rilevante nei contesti in cui il *turnaround time* influisce direttamente sulle decisioni cliniche.

Completano il menu analitico i reagenti *Ionify®* dedicati alla quantificazione di 25-OH vitamina D totale, 25-OH D2 e 25-OH D3, nonché di 24,25-Di-OH vitamina D2 e 24,25-Di-OH vitamina D3, utili per la valutazione dello stato vitaminico, e i pannelli *Ionify®* destinati al *drug testing*, che includono oppioidi, *alcool-markers* (etilglucuronide – ETG/solfato di etile – ETS) e altri composti di interesse tossicologico, a cui disponibilità è prevista in una seconda *wave* di lancio. Questi ultimi sono particolarmente utili nel contesto dell'emergenza e della terapia intensiva, dove una rapida identificazione di sostanze d'abuso può essere determinante per l'impostazione del trattamento.

Nel loro insieme, i pannelli *Ionify®* consentono a *cobas® Mass Spec Solution* di coprire un'ampia gamma di bisogni diagnostici, integrando il TDM trapiantologico, l'analisi endocrinologica e il

supporto alla medicina critica in un'unica piattaforma completamente automatizzata, caratterizzata da elevata specificità, riduzione delle interferenze analitiche e capacità di gestire analiti complessi con precisione e robustezza.

Tabella 8 – Reagenti *Ionify*®

Reagente *Ionify*®	Analiti inclusi	Popolazione target tra le popolazioni considerate nello studio
Ionify® Immunosuppressants	Tacrolimus, ciclosporina, sirolimus, everolimus, MPA, MPA-glucuronide	Pazienti trapiantati
Ionify® Steroids	Testosterone, estradiolo, aldosterone, androstenedione, progesterone, 17-idrossiprogesterone, DHT, cortisone, cortisolo, DHEA, DHEA-S	Pazienti affette da PMOS
Ionify® AED	Carbamazepina, carbamazepina-10-11-epossido, lamotrigina, fenitoina, acido valproico, levetiracetam, gabapentin, fenobarbitale, primidone, topiramato, zonisamide	Pazienti critici
Ionify® Antibiotics	Linezolid, vancomicina, tobramicina, piperacillina, meropenem, gentamicina	Pazienti critici
Ionify® Vitamin D	25-OH-vitamina D totale (D2+D3), 24,25-di-OH-vitamina D totale (D2+D3), 1,25-di-OH-vitamina D totale (D2+D3)	Valutazione dello stato vitaminico, pazienti fragili, endocrinologia
Ionify® Drugs of Abuse	Pannello di oppioidi, metaboliti dell'alcol (ETG/ETS) *(di prossima introduzione)*	Pazienti critici (tossicologia d'urgenza)

Comparatori

cobas® *Mass Spec Solution* compete principalmente con altre tecniche di MS (come LC-MS/MS tradizionale) e con metodi più convenzionali come gli immunodosaggi. Gli immunodosaggi (ELISA, CLIA), pur essendo ampiamente utilizzati nei laboratori clinici per la loro semplicità d'uso, presentano limitazioni in termini di sensibilità e specificità, specialmente quando si tratta di analiti complessi o presenti in basse concentrazioni. Sebbene gli immunodosaggi abbiano il vantaggio di essere economici e facili da implementare, *cobas*® *Mass Spec Solution* offre un valore aggiunto grazie alla sua capacità di fornire risultati più precisi, affidabili e riproducibili, riducendo il rischio di errori umani grazie all'automazione e al monitoraggio in tempo reale del processo di analisi.

cobas® *Mass Spec Solution* si distingue, dunque, come una tecnologia avanzata e altamente automatizzata, che integra perfettamente LC e MS per analisi cliniche precise e affidabili. Questa soluzione offre notevoli vantaggi in termini di precisione, efficienza e flessibilità, configurandosi

come una soluzione applicabile in laboratori clinici ad alto volume, in grado di gestire grandi volumi di test con tempi rapidi.

Al fine di fornire un confronto strutturato tra le principali alternative tecnologiche considerate, la **Tabella 9** sintetizza le caratteristiche di *cobas*® *Mass Spec Solution*, dei sistemi LC-MS/MS tradizionali e degli immunodosaggi rispetto alle principali dimensioni di interesse per il laboratorio clinico, includendo aspetti relativi alle performance analitiche, all'operatività e alla gestione del sistema.

Tabella 9 – Confronto tra *cobas*® *Mass Spec Solution*, LC-MS/MS tradizionale e immunodosaggi

Dimensione	***cobas*® *Mass Spec Solution***	**LC-MS/MS tradizionale**	**Immunodosaggi**
TAT	37 minuti (*time to first result*)	*Run* analitico tipicamente 2-4 min/campione; il processo complessivo richiede raccolta di più campioni, estrazione estesa e lavorazione in *batch*	*Turnaround* rapido, spesso citato come vantaggio per *test after-hours*/7 giorni su 7
Hands-on time	Minimo; automazione completa (tranne pretrattamento manuale per il pannello degli immunosoppressori)	Elevato: preparazione manuale, estrazione (LLE/SPE); la *sample prep* resta il principale *"bottleneck"*	Basso: non richiede personale specializzato né marcatura speciale
Throughput	Fino a 100 campioni/ora, *random access*, 9 analiti diversi	Variabile: tipico 50-150 iniezioni/ora per singolo strumento; *batch processing* limita *throughput* effettivo	Alto: 120-440 test/ora su piattaforme dedicate
LoQ	Specifico per analita	Specifico per analita	Specifico per analita
Bias	Riportato per singolo *assay* tramite regressione di Deming vs metodo di riferimento	*Bias* inter-laboratorio tra metodi LC-MS/MS diversi: 2.1–19.2%.	Variabile; cross-reattività con metaboliti attivi resta il principale problema di specificità; CV intra/inter-*assay* tipicamente <10%
QC	Frequenza ogni 24h, per cobas i pack, dopo sostituzione cartuccia LC e dopo ogni calibrazione	Materiali QC dedicati; deviazione accettabile esterna (RfB) 20-35% per la maggior parte degli steroidi, ma ±44% per aldosterone e ±60% per 17-OHP	CV intra/inter-*assay* tipicamente <10% (Strydom et al., 2024); la cross-reattività con metaboliti attivi resta il principale problema di specificità
Calibrazione	A 2 punti; frequenza variabile per analita	Richiede calibratori dedicati; assenza di materiale di riferimento certificato per molti ISD limita la tracciabilità	Calibratori proprietari del kit; standardizzazione limitata tra produttori diversi (Taylor, Keevil & Huhtaniemi, 2015)

B0002 – Qual è il beneficio dichiarato della tecnologia in relazione ai comparatori?

cobas® *Mass Spec Solution* dichiara come beneficio principale la capacità di tradurre la MS, storicamente caratterizzata da una notevole complessità operativa, in una tecnologia completamente automatizzata, standardizzata e utilizzabile nella routine dei laboratori clinici ad alto volume.

Rispetto alla MS tradizionale, che prevede estese procedure manuali di preparazione del campione e una forte dipendenza dall'intervento dell'operatore, *cobas*® *Mass Spec Solution* integra la quasi totalità della fase preanalitica all'interno di un *workflow* automatizzato a bordo

strumento. Per la maggior parte degli analiti presenti nel portafoglio, il campione viene caricato direttamente sul sistema dopo le comuni fasi preanalitiche di laboratorio (prelievo e centrifugazione), senza necessità di preparazioni *off-line*. Fanno eccezione gli immunosoppressori analizzati su sangue intero, per i quali è richiesta una fase preliminare di lisi dei globuli rossi, necessaria per liberare l'analita dalla matrice cellulare. Tale requisito rappresenta una limitazione intrinseca della matrice e comune a tutte le tecnologie LC-MS/MS attualmente disponibili. In questo contesto, la lisi può essere eseguita manualmente oppure mediante strumentazioni di automazione dei liquidi dedicate (ad esempio piattaforme Hamilton o Tecan); anche in questo scenario, tuttavia, *cobas*® *Mass Spec Solution* limita l'intervento esterno a questo singolo passaggio, reintegrando poi completamente il campione nel flusso analitico automatizzato e standardizzato all'interno della piattaforma analitica. Un beneficio rilevante rispetto ai sistemi LC-MS/MS tradizionali riguarda non solo l'automazione della fase analitica, ma anche la generazione e validazione del risultato. Nei sistemi convenzionali, l'interpretazione dei profili cromatografici e dei picchi richiede frequentemente una valutazione manuale da parte dell'operatore, introducendo variabilità e dipendenza dall'esperienza individuale. *cobas*® *Mass Spec Solution* automatizza anche questa fase, producendo risultati strutturati e standardizzati, riducendo il contributo del fattore umano e migliorando la riproducibilità intra- e inter-laboratorio.

Un ulteriore beneficio dichiarato riguarda la gestione avanzata della calibrazione e del controllo qualità. A differenza dei sistemi LC-MS/MS tradizionali, che richiedono frequenti ricalibrazioni manuali e verifiche operatore-dipendenti, la piattaforma utilizza valori target assegnati, curve di calibrazione di lotto e procedure di standardizzazione multilivello. La calibrazione viene richiesta principalmente al cambio lotto, con un impatto significativo sulla riduzione del consumo di reagenti, del tempo analitico e delle risorse umane dedicate. Analogamente, il controllo qualità è integrato nel sistema con monitoraggio continuo dei trend QC e gestione automatica degli eventi fuori range, contribuendo a una maggiore stabilità dei risultati.

Rispetto agli immunodosaggi di routine, *cobas*® *Mass Spec Solution* dichiara benefici sostanziali sul piano della specificità e dell'accuratezza analitica. Le tecniche immunometriche, pur essendo ampiamente diffuse, presentano limiti intrinseci legati a interferenze e cross-reattività anticorpale. L'approccio LC-MS/MS automatizzato consente invece una discriminazione molecolare basata sulla separazione cromatografica e sul monitoraggio selettivo delle transizioni MRM, migliorando la qualità del risultato per steroidi, immunosoppressori, antiepilettici e altri analiti complessi.

cobas® *Mass Spec Solution* si posiziona come un'evoluzione della MS clinica, combinando la robustezza analitica della LC-MS/MS con un livello di automazione, standardizzazione e controllo del processo che ne consente l'utilizzo nella *routine* clinica, con una riduzione significativa dell'impegno operativo, della variabilità legata all'operatore e del consumo di risorse rispetto ai sistemi tradizionali.

B0004 – Chi gestisce la tecnologia e il/i comparatore/i e in quale contesto e livello di assistenza vengono forniti?

L'introduzione di *cobas*® *Mass Spec Solution* all'interno di un laboratorio clinico coinvolge una molteplicità di figure decisionali e operative, ciascuna con un ruolo specifico nella valutazione, implementazione e gestione della tecnologia. La decisione di adottare questa piattaforma ricade generalmente sui responsabili del laboratorio e sulle direzioni sanitarie e amministrative delle strutture, che valutano la compatibilità della tecnologia con i flussi analitici esistenti, il potenziale impatto sui processi diagnostici e l'integrazione con le infrastrutture di automazione già presenti.

La tecnologia è progettata per essere implementata in laboratori clinici strutturati, sia pubblici sia privati, inclusi contesti non storicamente specializzati in MS, grazie alla standardizzazione del *workflow* e alla riduzione della complessità operativa rispetto ai sistemi LC-MS/MS tradizionali. Ciò ne consente l'adozione specialmente in laboratori ad alto volume orientati alla routine diagnostica.

Una volta implementata, la gestione operativa della piattaforma è affidata a tecnici di laboratorio qualificati che operano all'interno di un processo diagnostico fortemente automatizzato.

La decisione di adottare la tecnologia coinvolge frequentemente anche i responsabili dell'assicurazione qualità. Gli aspetti di qualità assumono, infatti, un ruolo particolarmente rilevante, in quanto la piattaforma è progettata per operare in conformità agli standard internazionali relativi alla tracciabilità metrologica e alle procedure analitiche.

La valutazione dell'integrazione coinvolge inoltre i referenti IT e gli specialisti dell'automazione, poiché la piattaforma opera in connessione nativa con LIS e sistemi gestionali, richiedendo coerenza con le infrastrutture informatiche e le politiche di sicurezza dei dati.

Nel complesso, la decisione e l'utilizzo di *cobas*® *Mass Spec Solution* emergono da un processo multidisciplinare che comprende direzione sanitaria, responsabili di laboratorio, responsabili della qualità e figure IT, assicurando un'integrazione efficace e conforme agli standard operativi e normativi della struttura. I sistemi comparatori attualmente in uso (immunodosaggi e LC-MS/MS tradizionale) sono gestiti negli stessi contesti laboratoristici e livelli di assistenza, senza differenze sostanziali in termini di governance organizzativa.

2. Formazione e informazioni necessarie per l'utilizzo della tecnologia

B0007 – Quali investimenti materiali sono necessari per l'utilizzo della tecnologia?

L'implementazione di *cobas*® *Mass Spec Solution* non richiede investimenti infrastrutturali specifici o aggiuntivi rispetto a quelli normalmente necessari per l'installazione e l'utilizzo di sistemi di MS tradizionali in ambito clinico. La piattaforma è progettata per essere integrata nei laboratori già dotati di spazi e dotazioni standard per strumentazione analitica avanzata, senza la necessità di modifiche strutturali dedicate o di interventi impiantistici complessi.

I requisiti tecnici richiesti per l'installazione della tecnologia risultano sostanzialmente sovrapponibili a quelli dei sistemi LC-MS/MS convenzionali. In particolare, l'unica dotazione specifica richiesta è la disponibilità di una linea di azoto, elemento comunemente già presente nei laboratori che operano con strumentazione di MS o con altre tecnologie analitiche avanzate. L'installazione richiede inoltre la verifica dell'adeguatezza degli spazi e delle condizioni infrastrutturali del laboratorio, con particolare riferimento all'alimentazione elettrica e agli eventuali sistemi UPS, ai requisiti di ventilazione e climatizzazione (HVAC) e alla gestione del calore prodotto, alla connettività e integrazione con i sistemi IT/LIS, nonché alla gestione degli scarichi e dei rifiuti. Devono infine essere considerate adeguate procedure di continuità operativa e soluzioni di *backup* in caso di indisponibilità della piattaforma. La maggior parte del processo preanalitico risulta integrata a bordo strumento, limitando la necessità di apparecchiature esterne dedicate alla preparazione dei campioni.

Dal punto di vista dell'ingombro fisico, *cobas*® *Mass Spec Solution* presenta dimensioni compatibili con gli spazi tipici dei laboratori clinici. Sebbene una piattaforma di MS comporti inevitabilmente un'occupazione di spazio dedicato, tale aspetto può essere valutato in termini di produttività per metro quadrato, considerando la capacità della tecnologia di sostituire più sistemi LC-MS/MS tradizionali e relative apparecchiature accessorie (inclusi moduli di preparazione esterna dei campioni). In questo senso, l'adozione della piattaforma può contribuire a una razionalizzazione degli spazi e a una semplificazione del parco strumentale.

L'adozione di *cobas*® *Mass Spec Solution* non comporta, dunque, investimenti materiali aggiuntivi significativi rispetto alla MS tradizionale e si inserisce agevolmente nelle infrastrutture già presenti nei laboratori clinici, supportando una transizione verso modelli operativi più efficienti e integrati.

B0012 – Quali tipi di requisiti in termini di processi di qualificazione e garanzia della qualità sono necessari per l'uso o la manutenzione della tecnologia?

L'utilizzo di *cobas*® *Mass Spec Solution* richiede un insieme strutturato di requisiti relativi alla qualificazione dei processi, alla tracciabilità metrologica e alla garanzia della qualità, finalizzati ad assicurare l'affidabilità analitica, la riproducibilità dei risultati e la continuità operativa del sistema. La piattaforma è progettata per operare in un contesto altamente automatizzato e standardizzato, riducendo la variabilità operatore-dipendente e supportando l'implementazione in laboratori clinici di *routine*.

Un elemento centrale del sistema di qualità è rappresentato dalla calibrazione e dalla tracciabilità metrologica. I test *Ionify*® si basano su curve di calibrazione, associate a procedure di standardizzazione multilivello che comprendono la definizione dei valori target, l'attribuzione dei valori ai calibratori di prodotto e una fase di verifica finale. Questa architettura consente al laboratorio di limitare le attività di calibrazione locale, riducendo il rischio di variabilità inter-strumento e inter-operatore e garantendo l'allineamento ai metodi di riferimento riconosciuti.

L'accuratezza e la robustezza del processo analitico sono ulteriormente supportate da algoritmi di monitoraggio e validazione interna, in grado di identificare automaticamente deviazioni

analitiche, anomalie cromatografiche o incongruenze nel rapporto m/z. La gestione dei reagenti *Ionify*®*,* forniti come kit pronti all'uso con standard interni isotopicamente marcati e componenti preconfigurati, richiede il rispetto rigoroso delle condizioni di conservazione, stabilità e manipolazione. Le cartucce cromatografiche dotate di tecnologia RFID (*Radio-Frequency Identification*) consentono l'impostazione automatica dei parametri HPLC, riducendo il rischio di errori di configurazione manuale e garantendo la continuità di calibrazione tra lotti.

La garanzia della qualità comprende inoltre la gestione dei controlli di processo e dei controlli qualità interni, con monitoraggio continuo dello stato delle unità LC e MS, dei livelli dei liquidi e delle condizioni operative. L'integrazione con i LIS assicura la tracciabilità completa del campione, la registrazione automatica degli eventi di errore e la conservazione strutturata dei dati di calibrazione e QC, a supporto delle attività di audit e governance del processo analitico.

Sul fronte della manutenzione, il sistema richiede la gestione programmata e su condizione dei componenti consumabili e delle unità critiche, incluse le pompe HPLC, l'unità di MS e i moduli di preparazione del campione. Le attività di manutenzione e lo smaltimento dei materiali devono essere eseguiti in conformità alle normative vigenti, in considerazione della presenza di reagenti infiammabili o sostanze pericolose. L'insieme di questi requisiti consente di preservare la stabilità operativa del sistema e di ridurre il rischio di fermo strumentale.

B0013 – Quali competenze, caratteristiche di formazione e informazioni sono necessarie per il personale che utilizza la tecnologia?

L'utilizzo di *cobas*® *Mass Spec Solution* richiede personale di laboratorio adeguatamente formato all'impiego di strumentazione diagnostica automatizzata, con competenze orientate alla supervisione del processo analitico piuttosto che alla conduzione manuale delle singole fasi. Il livello di automazione e standardizzazione della piattaforma consente l'operatività in contesti clinici di routine, riducendo la dipendenza da operatori altamente specializzati in spettrometria di massa per le attività ordinarie, pur mantenendo necessarie competenze specialistiche per il controllo qualità, il *troubleshooting*, la gestione delle interferenze e la supervisione complessiva del processo analitico.

Le competenze richieste agli operatori includono una conoscenza funzionale dei principi di base della LC e della MS tandem, sufficiente a comprendere il *workflow* analitico complessivo, il ruolo delle diverse unità del sistema (preparazione del campione, LC e MS) e i criteri generali di identificazione e quantificazione dell'analita. È inoltre necessario che il personale sia in grado di interpretare i risultati generati automaticamente, riconoscere condizioni anomale segnalate dal sistema e applicare le procedure operative standard previste.

La formazione degli utilizzatori è focalizzata sull'uso operativo della piattaforma e comprende tipicamente l'avvio e l'arresto del sistema, la gestione dei campioni e dei reagenti *Ionify*®*,* il caricamento e la sostituzione dei consumabili, l'esecuzione delle routine giornaliere e periodiche e la gestione degli *alert* e delle segnalazioni di sistema. Particolare attenzione è dedicata alla corretta esecuzione e valutazione dei controlli di qualità, nonché all'identificazione delle situazioni che richiedono interventi correttivi o il coinvolgimento del supporto tecnico.

Un ulteriore ambito di competenza riguarda l'utilizzo dell'interfaccia *software* e l'integrazione con il LIS. Gli operatori devono essere in grado di monitorare lo stato delle analisi, validare i risultati, garantire la tracciabilità del campione e assicurare la corretta gestione dei dati lungo l'intero percorso analitico. L'impiego di procedure guidate, parametri preimpostati e controlli automatici contribuisce a ridurre la dipendenza dall'esperienza individuale, favorendo un utilizzo sicuro, coerente e sostenibile della tecnologia nel contesto della *routine* clinica.

3. Stato regolatorio

A0020 – Per quali indicazioni la nuova tecnologia ha ricevuto l'autorizzazione o il marchio CE?

cobas® *Mass Spec Solution*, costituita dal modulo analitico *cobas*® *i 601* e dai reagenti *Ionify*®, è classificata come dispositivo medico-diagnostico in vitro (IVD) ed è conforme al Regolamento (UE) 2017/746 (IVDR). La piattaforma *cobas*® *i 601* riporta marcatura CE ed è destinata alla cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa per la determinazione quantitativa in vitro di composti naturali e sintetici in campioni umani, in abbinamento ai reagenti *Ionify*® dedicati a ciascun analita. Tutti i pannelli *Ionify*® riportano a loro volta marcatura CE con organismo notificato 0123. La documentazione tecnica del sistema attesta la conformità ai requisiti normativi applicabili e la presenza della marcatura CE per l'uso diagnostico in vitro, che ne autorizza l'impiego nell'ambito della diagnostica clinica nei Paesi dell'Unione Europea.

L'autorizzazione riguarda l'utilizzo della piattaforma per l'analisi quantitativa di specifici analiti nel sangue, plasma o siero umano, attraverso metodi basati su LC e MS tandem. I test disponibili, forniti tramite i reagenti *Ionify*®, sono anch'essi dispositivi IVD-CE e includono le diverse classi analitiche (ormoni steroidei, farmaci immunosoppressori, metaboliti della vitamina D, droghe d'abuso, antiepilettici e antibiotici). I reagenti sono immessi sul mercato in modalità progressiva (*launch wave*) esclusivamente nei Paesi che accettano il marchio CE, in coerenza con la normativa vigente.

La combinazione tra marcatura CE, conformità all'IVDR e disponibilità di un ampio menu di test IVD-CE rende *cobas*® *Mass Spec Solution* idonea all'impiego diagnostico routinario nei laboratori clinici, supportando attività di TDM dei farmaci, diagnostica endocrinologica, valutazione di carenze vitaminiche e screening tossicologico, in linea con le indicazioni previste dai singoli test e dalla documentazione del produttore.

A0021 – Qual è lo stato del rimborso della tecnologia?

L'adozione e l'utilizzo della MS nella pratica clinica si collocano in un contesto di rimborso caratterizzato da una marcata eterogeneità territoriale e da una complessa interazione tra innovazione tecnologica, sostenibilità economica e programmazione sanitaria. Attualmente, non esiste un meccanismo di rimborso dedicato o specifico per *cobas*® *Mass Spec Solution* in quanto tecnologia, poiché il sistema di remunerazione si basa prevalentemente sulla prestazione diagnostica erogata e non sulla metodologia analitica utilizzata.

Nel *setting* ambulatoriale, il Nomenclatore Tariffario Nazionale delle prestazioni di assistenza specialistica ambulatoriale prevede una tariffa fissa per singolo analita, indipendente dalla metodica impiegata per l'esecuzione del test: la stessa tariffa si applica sia che il laboratorio utilizzi immunodosaggio, RIA o cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS/MS). Non esiste quindi, a livello di nomenclatore, un riconoscimento tariffario differenziato per l'impiego della tecnologia MS. Tra gli analiti dei pannelli *Ionify*® coperti da un codice specifico figurano, per l'area del monitoraggio terapeutico dei farmaci, l'acido valproico (codice 90.03.4, €10,88), la carbamazepina (90.12.3, €12,04), la ciclosporina (90.13.2, €14,64), la fenitoina (90.22.1, €10,74), il primidone (90.37.5, €10,64) e la teofillina (90.41.2, €12,36), oltre a un codice generico per gli antibiotici aminoglicosidici e la vancomicina (90.08.3, €8,91) e a un codice per i farmaci antitumorali ciclofosfamide e metotressato (90.20.5, €11,39). Per l'area endocrinologica sono presenti codici dedicati per aldosterone (90.05.3, €17,11), 17-idrossiprogesterone (90.01.2, €10,53), cortisolo (90.15.3, €7,79), DHEA (90.17.1, €9,27), DHEA-S (90.17.2, €15,55), diidrotestosterone (90.17.5, €20,59), androstenedione (90.17.3, €12,97), estradiolo (90.19.2, €9,11), progesterone (90.38.1, €9,13), testosterone totale (90.41.3, €9,78) e testosterone libero (90.41.4, €14,22); la vitamina D dispone invece di un unico codice generico (90.44.5, €15,86), che non distingue tra i singoli metaboliti (25-OH, 1,25-di-OH) né tra le forme D2 e D3. Per numerosi analiti di introduzione più recente presenti nel menù *Ionify*®, tra cui everolimus, sirolimus, tacrolimus, gabapentin, lamotrigina, topiramato, zonisamide, levetiracetam e linezolid, non risulta invece disponibile un codice dedicato nel nomenclatore.

Va inoltre chiarito che questi valori esprimono unicamente la tariffa della prestazione, cioè il rimborso riconosciuto dal SSN per l'esame. Un elemento distinto è il costo di produzione, cioè il costo realmente sostenuto dal laboratorio per eseguire il test. Un terzo elemento, ancora distinto, è la modalità di acquisizione della tecnologia, cioè le condizioni contrattuali con cui il laboratorio si dota del sistema *cobas*® *Mass Spec Solution*, che incidono sulla struttura dei costi fissi e variabili e sulla sostenibilità economica dell'adozione.

In ambito ospedaliero, le analisi effettuate mediante MS rientrano generalmente nella remunerazione complessiva dei ricoveri, attraverso i DRG di riferimento. In questo contesto, il rimborso non è legato alla singola prestazione di laboratorio, ma alla gestione complessiva del percorso assistenziale del paziente. Di conseguenza, l'adozione di *cobas*® *Mass Spec Solution* dipende in larga misura dalle valutazioni interne delle direzioni sanitarie e dei laboratori clinici, che devono considerare l'impatto della tecnologia sull'organizzazione dei processi diagnostici e terapeutici.

Alla luce di questo quadro, la valutazione economica di *cobas*® *Mass Spec Solution* non può limitarsi all'analisi delle tariffe di rimborso disponibili, ma deve includere una prospettiva più ampia sul valore generato dalla tecnologia. In particolare, l'integrazione della MS nei percorsi clinici può contribuire a una riduzione dei costi sanitari evitabili, attraverso una maggiore appropriatezza diagnostica, una migliore gestione terapeutica e una diminuzione di errori analitici o ripetizioni di test. Tali benefici, pur non sempre immediatamente riflessi nei meccanismi di rimborso, rappresentano un elemento rilevante per le decisioni di adozione e di programmazione sanitaria.

4. Altro

A0022 – Chi produce la tecnologia?

La tecnologia oggetto di valutazione è prodotta e commercializzata da Roche Diagnostics, parte del gruppo Roche. Roche Diagnostics opera in qualità di produttore legale e operatore economico responsabile della tecnologia, assicurando gli adempimenti regolatori applicabili, nonché le attività di assistenza tecnica e supporto associate all'installazione, all'utilizzo e alla manutenzione del sistema. *cobas*® *Mass Spec Solution* è interamente progettata e distribuita da Roche Diagnostics, come riportato nella documentazione tecnica e nelle guide utente della piattaforma. La componente di MS integra; inoltre, l'esperienza tecnologica di Hitachi High-Tech, partner industriale di Roche, con oltre 70 anni di competenza nella progettazione di sistemi di MS destinati al settore clinico. Questa collaborazione consente di combinare la capacità ingegneristica di Hitachi con la competenza diagnostica di Roche, garantendo una soluzione robusta, automatizzata e idonea alla routine laboratoristica.

Roche Diagnostics è presente a livello globale con filiali e centri produttivi in numerosi Paesi, e fornisce un'ampia gamma di sistemi per chimica clinica, immunometria, diagnostica molecolare e automazione di laboratorio.

Dominio SAF
Sicurezza

Topic & Issue del dominio

Sicurezza (SAF)

Tabella 10 – *Topic & Issue* Sicurezza (SAF)

Topic	*Issue*	*Assessment element ID*
Sicurezza del paziente	Quanto è sicura la tecnologia rispetto al/i comparatore/i?	C0008
	Quali sono le conseguenze dei risultati falsi positivi, falsi negativi e incidentali generati dall'utilizzo della tecnologia dal punto di vista della sicurezza del paziente?	C0006
	La tecnologia e i comparatori sono associati a danni dipendenti dall'utente?	C0007
Sicurezza del lavoro	Che tipo di danni professionali possono verificarsi quando si utilizza la tecnologia?	C0020

1. Sicurezza del paziente

C0008 – Quanto è sicura la tecnologia rispetto al/i comparatore/i?

La tecnologia *cobas*® *Mass Spec Solution* (LC-MS/MS) mostra un chiaro vantaggio in termini di sicurezza analitica rispetto all'immunometria convenzionale: grazie alla maggiore specificità della MS si riduce la suscettibilità ad interferenze e cross-reattività con metaboliti di farmaci (ad es. tacrolimus), errori che possono influenzare decisioni terapeutiche critiche (1). L'adozione di *workflow* validati e l'uso di metodi LC-MS/MS rapidi e specifici limitano inoltre la fase di intervento manuale sui campioni, diminuendo le possibilità di errori operativi e variabilità analitica (2). La letteratura è concorde nel riconoscere la LC-MS/MS come standard di riferimento per il TDM nei pazienti sottoposti a trapianto (3).

La centralità di questo strumento analitico risiede nella gestione delle complicanze post-trapianto, le quali sono strettamente correlate all'uso prolungato di regimi immunosoppressivi; molte delle reazioni avverse sono, infatti, dose-dipendenti e potenzialmente reversibili (4-8). In questo contesto, un TDM accurato è essenziale per mantenere le concentrazioni ematiche entro la finestra terapeutica. Rispetto all'immunometria, la LC-MS/MS offre una superiore specificità analitica, eliminando le interferenze dovute alla cross-reattività dei metaboliti. Oltre all'accuratezza, la MS garantisce significativi vantaggi in termini di standardizzazione e armonizzazione inter-laboratorio, a condizione che vengano adottati protocolli e materiali di riferimento condivisi (3).

Infine, studi che valutano la quantificazione simultanea di immunosoppressori e dei loro metaboliti evidenziano come metodi LC-MS/MS ben validati (con standard interni) offrano precisione e controllo dell'effetto matrice, limitando ulteriormente la probabilità di risultati fuorvianti (9).

Per quanto riguarda i reagenti *Ionify*® *Immunosuppressants*, in accordo alla scheda tecnica che accompagna *cobas*® *Mass Spec Solution*, questi sono stati analizzati insieme a campioni e controlli, secondo il protocollo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) EP05-A3 (10): due serie giornaliere, ciascuna eseguita in duplicato, per 21 giorni (n = 84) (11). I risultati di precisione ottenuti per gli analiti di farmaci immunosoppressori sono stati i seguenti (**Tabelle 11-14**):

Ciclosporina

Tabella 11 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify*® *Ciclosporina* (11)

		Ripetibilità		**Precisione intermedia**	
Campione	Media (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV%	SD (ng/mL)	CV%
Campione di sangue intero umano 1	34,1	0,991	2,9	1,50	4,4
Campione di sangue intero umano 2	24,5	1,31	5,3	1,67	6,8
Campione di sangue intero umano 3	238	10,5	4,4	14,3	6,0

Campione di sangue intero umano 4	697	20,3	2,9	29,4	4,2
Campione di sangue intero umano 5	1352	41,9	3,1	74,9	5,5
Ionify ControlSet ISD 1	22,4	0,428	1,9	1,02	4,7
Ionify ControlSet ISD 2	612	10,5	1,7	28,6	4,7
Multichem MS ISDs 1	24,4	0,508	2,1	1,26	5,2
Multichem MS ISDs 2	665	25,1	3,8	44,2	6,6

Everolimus

Tabella 12 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify® Everolimus* (11)

		Ripetibilità		**Precisione intermedia**	
Campione	Media (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV%	SD (ng/mL)	CV%
Campione di sangue intero umano 1	1,42	0,0590	4,1	0,0859	6,0
Campione di sangue intero umano 2	4,29	0,160	3,7	0,213	5,0
Campione di sangue intero umano 3	11,4	0,403	3,5	0,540	4,7
Campione di sangue intero umano 4	10,5	0,226	2,2	0,472	4,5
Campione di sangue intero umano 5	18,6	0,523	2,8	0,997	5,3
Ionify ControlSet ISD 1	3,78	0,118	3,1	0,190	5,0
Ionify ControlSet ISD 2	11,1	0,336	3,0	0,539	4,9
Multichem MS ISDs 1	3,76	0,108	2,9	0,201	5,4
Multichem MS ISDs 2	11,4	0,494	4,3	0,741	6,5

Sirolimus

Tabella 13 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify® Sirolimus* (11)

		Ripetibilità		**Precisione intermedia**	
Campione	Media (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV%	SD (ng/mL)	CV%
Campione di sangue intero umano 1	2,03	0,0852	4,2	0,121	6,0
Campione di sangue intero umano 2	3,83	0,174	4,5	0,216	5,6
Campione di sangue intero umano 3	12,1	0,508	4,2	0,846	7,0
Campione di sangue intero umano 4	14,2	0,582	4,1	0,749	5,3
Campione di sangue intero umano 5	26,9	1,24	4,6	1,41	5,3

Ionify ControlSet ISD 1	4,04	0,122	3,0	0,206	5,1
Ionify ControlSet ISD 2	11,4	0,361	3,2	0,584	5,1
Multichem MS ISDs 1	3,89	0,142	3,7	0,216	5,6
Multichem MS ISDs 2	13,1	0,452	3,4	0,979	7,5

Tacrolimus

Tabella 14 – Risultati di ripetibilità e precisione per *Ionify*® *Tacrolimus* (11)

		Ripetibilità		**Precisione intermedia**	
Campione	Media (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV%	SD (ng/mL)	CV%
Campione di sangue intero umano 1	1,33	0,0403	3,0	0,0620	4,7
Campione di sangue intero umano 2	3,04	0,102	3,3	0,155	5,1
Campione di sangue intero umano 3	13,6	0,523	3,8	0,745	5,5
Campione di sangue intero umano 4	13,6	0,397	2,9	0,722	5,3
Campione di sangue intero umano 5	27,5	0,769	2,8	1,32	4,8
Ionify ControlSet ISD 1	2,53	0,0828	3,3	0,135	5,3
Ionify ControlSet ISD 2	12,5	0,355	2,8	0,626	5,0
Multichem MS ISDs 1	2,43	0,0799	3,3	0,130	5,4
Multichem MS ISDs 2	12,3	0,475	3,9	0,766	6,2

Il confronto del test *Ionify*® (y) con la procedura di misurazione di riferimento (LC-MS/MS con diluizione isotopica) (x) (12), impiegando campioni clinici e campioni di sangue intero arricchiti, ha prodotto le seguenti correlazioni:

- Sangue intero
- Dimensione del campione (n) ≥ 100
- Regressione di Deming (ponderata) (13)

Ciclosporina

$y = 0.954x + 0.434$ ng/mL

$\tau = 0.966$

$r = 0.998$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 10.8 e 1470 ng/mL.

Everolimus

y = 0.993x – 0.141 ng/mL

τ = 0.926

r = 0.988

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 1.75 e 18.6 ng/mL.

Sirolimus

y = 0.997x + 0.0497 ng/mL

τ = 0.930

r = 0.994

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 2.05 e 27.8 ng/mL.

Tacrolimus

y = 0.946x – 0.112 ng/mL

τ = 0.919

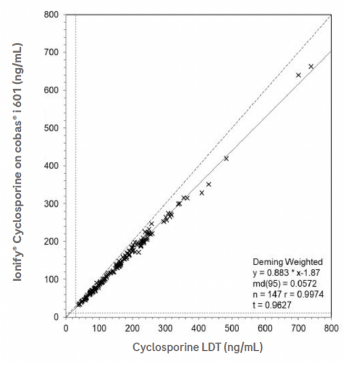
r = 0.975

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 1.25 e 28.7 ng/mL.

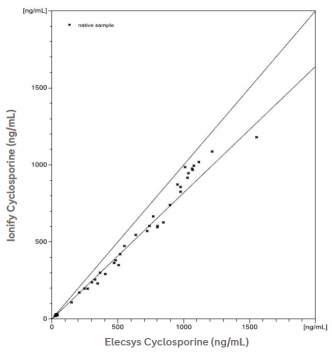
L'elevata ripetibilità e precisione dei test garantiscono risultati affidabili e consistenti, riducendo il rischio di errori analitici e contribuendo a decisioni cliniche più sicure per il paziente.

Inoltre, il confronto dei reagenti in termini di linearità, precisione e correlazione dei risultati rispetto a metodi di riferimento validati, quali la MS tradizionale e l'immunometria, ha evidenziato prestazioni complessivamente positive (14,15). Di seguito si riportano i test di confronto per ciclosporina, everolimus, sirolimus e tacrolimus, eseguiti mediante metodi di routine di laboratorio LC-MS/MS e immunometria (**Figure 4-7**).

Figura 4 – *Ionify Cyclosporine (cobas® i 601)* confrontato con ciclosporina mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale *(Lab developed tests LTD)* e con *Elecsys Cyclosporine (cobas e 801)* utilizzando campioni di sangue intero (14,15)

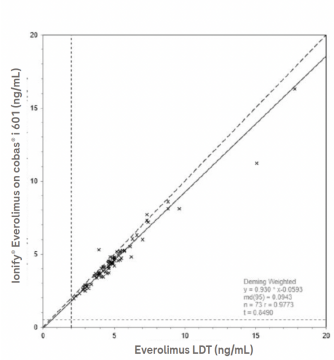


MC CSA	Result
No. of samples	147
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.9974
Slope	0.883
Intercept	-1.87

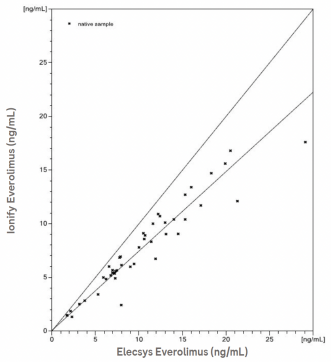


MC CSA	Result
No. of samples	43
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.991
Slope	0.820
Intercept	-0.478

Figura 5 – *Ionify Everolimus (cobas® i 601)* confrontato con everolimus mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale *(Lab developed tests LTD)* e con *Elecsys Everolimus (cobas e 801)* utilizzando campioni di sangue intero (14,15)

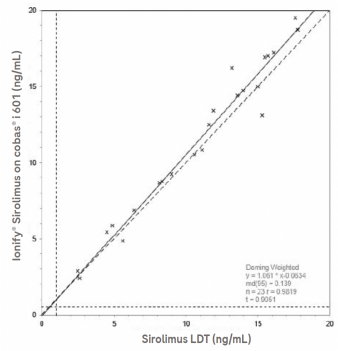


MC EVE	Result
No. of samples	73
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.9773
Slope	0.930
Intercept	-0.0593

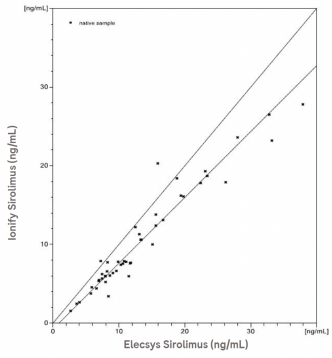


MC EVR	Result
No. of samples	46
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.951
Slope	0.740
Intercept	0.0551

Figura 6 – *Ionify Sirolimus (cobas® i 601)* confrontato con sirolimus mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale *(Lab developed tests LTD)* e con *Elecsys Sirolimus (cobas e 801)* utilizzando campioni di sangue intero (14,15)

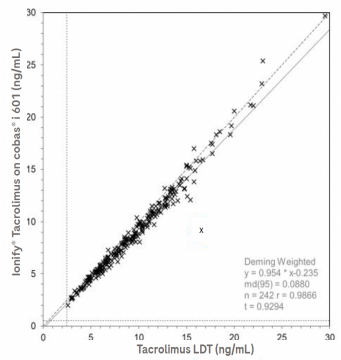


MC SIR	Result
No. of samples	23
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.9819
Slope	1.061
Intercept	-0.0634

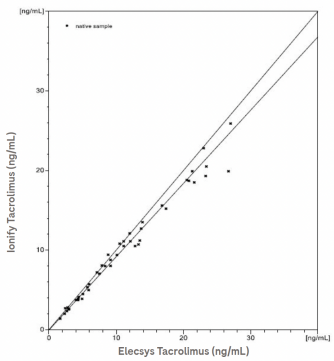


MC SIR	Result
No. of samples	48
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.963
Slope	0.837
Intercept	-0.762

Figura 7 – *Ionify Tacrolimus (cobas® i 601)* confrontato con tacrolimus mediante test sviluppati in laboratorio di routine tramite LC-MS/MS tradizionale *(Lab developed tests LTD)* e con *Elecsys Tacrolimus (cobas e 801)* utilizzando campioni di sangue intero (14,15)



MC TAC	Result
No. of samples	242
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.9866
Slope	0.945
Intercept	-0.235



MC TAC	Result
No. of samples	45
Regression	Weighted Deming
Pearson r	0.988
Slope	0.921
Intercept	-0.0418

La scheda tecnica riporta risultati analoghi anche per i restanti reagenti *Ionify®* (*Steroids*, AED, *Antibiotics*, *Vitamin D* e *Drugs of Abuse*) della tecnologia *cobas® Mass Spec Solution* (LC-MS/MS).

Tabella 15 – Principali reazioni avverse dose-dipendenti degli immunosoppressori ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus e acido micofenolico

Complicanza	**Farmaci**	**Meccanismo d'azione collegato**	**Spettrometria di massa (LC-MS/MS) vs Immunometria (IA)**
Rischio rigetto del trapianto (acuto e cronico)	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus, acido micofenolico	Mancata soppressione dei segnali di attivazione dei linfociti T o sviluppo di anticorpi specifici contro l'organo del donatore che attivano il complemento (16).	IA può sovrastimare i livelli reali a causa della cross-reattività con i metaboliti; se il medico riduce la dose basandosi su un falso positivo, espone il paziente a rigetto. MS è specifica per il farmaco parenterale attivo (*parent drug*) e può ridurre il rischio di sotto-dosaggio dovuto a *bias* analitico (17).
Aumento suscettibilità infezioni	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus, acido micofenolico	Compromissione del sistema immunitario (16, 18).	IA può sovrastimare i livelli reali a causa della cross-reattività con i metaboliti; un *bias* analitico può determinare un'esposizione non ottimale: in particolare una sottostima può indurre un incremento della dose e una sovraesposizione, condizione associata a maggior rischio infettivo (17).
Aumento suscettibilità neoplasie maligne	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus, acido micofenolico	Soppressione delle cellule T che permette la riattivazione di virus come l'Epstein-Barr (EBV), dell'epatite B (HBV) o dell'epatite C (HCV), e ridotta sorveglianza contro i tumori *de novo* (16, 19).	La precisione della MS riduce il rischio di sovradosaggio cronico del farmaco. Questo è determinante nel lungo periodo, poiché contribuisce a contenere la sovraesposizione cronica, la cui intensità e durata sono correlate all'insorgenza di neoplasie *de novo* (20, 21).
Danno renale	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus	Nefrotossicità data da vasocostrizione delle arteriole afferenti ed efferenti mediante meccanismi di aumentato rilascio di endotelina-1, diminuita produzione di ossido nitrico e aumentata espressione di TGF-beta. (ciclosporina, tacrolimus) (17);	L'accumulo di metaboliti nei test IA è potenziale fonte di *bias* analitico; la specificità della MS assicura invece una quantificazione accurata del *parent drug*, ottimizzando il monitoraggio clinico (17, 22).

		Proteinourina, con possibile alterazione della barriera di filtrazione glomerulare (everolimus, sirolimus) (6, 7)	
Danno epatico	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus, acido micofenolico	Disfunzione epatica con aumento di aminotransferasi e bilirubina (ciclosporina) (16); Anomalie dei test di funzionalità epatica (inclusi aumento dell'alanina aminotransferasi e aumento dell'aspartato aminotransferasi (everolimus, sirolimus, acido micofenolico) (6- 8)	L'accumulo di metaboliti nei test IA è potenziale fonte di bias analitico; la specificità della MS assicura invece una quantificazione accurata del *parent drug*, ottimizzando il monitoraggio clinico (17, 22).
Disordini del sistema emolinfopoietico	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus, acido micofenolico	Riduzione dell'emoglobina, dei linfociti, dei neutrofili e delle piastrine (4-8, 16).	L'accumulo di metaboliti nei test IA è potenziale fonte di bias analitico; la specificità della MS assicura invece una quantificazione accurata del *parent drug*, ottimizzando il monitoraggio clinico (17, 22).
Disordini metabolici	Ciclosporina, tacrolimus, everolimus, sirolimus, acido micofenolico	i CNI (specie tacrolimus) alterano la secrezione di insulina dalle cellule beta e aumentano i livelli di colesterolo e trigliceridi (16, 17); Gli inibitori di mTOR interferiscono con la divisione cellulare e il metabolismo dei lipidi (16).	Un monitoraggio impreciso tramite IA complica la gestione del range terapeutico minimo; la MS è spesso preferita per la sua superiore specificità analitica (17).
Neurotossicità	Ciclosporina, tacrolimus	Inibizione della calcineurin-fosfatasi nel tessuto nervoso (16).	Un monitoraggio impreciso tramite IA complica la gestione del range terapeutico minimo; la MS è spesso preferita per la sua superiore specificità analitica (14).
Disordini gastrointestinali	Tacrolimus, acido micofenolico	Inibizione della sintesi purinica che colpisce la mucosa gastrointestinale (16); assorbimento variabile in presenza di patologie intestinali e per interazioni farmacologiche (5, 8).	Per l'acido micofenolico, la MS distingue il farmaco attivo dal metabolita glucuronide inattivo (MPAG), mentre l'IA può mostrare cross-reattività parziale (21).
Disordini cardiaci	Tacrolimus, everolimus	In rari casi, sono state osservate ipertrofia ventricolare o ipertrofia del setto, riportate come cardiomiopatie (5, 6).	Un monitoraggio impreciso tramite IA complica la gestione del range terapeutico minimo; la MS

	è spesso preferita per la sua superiore specificità analitica (17).

C0006 – Quali sono le conseguenze dei risultati falsi positivi, falsi negativi e incidentali generati dall'utilizzo della tecnologia dal punto di vista della sicurezza del paziente?

L'impiego della piattaforma *cobas*® *Mass Spec Solution* (LC-MS/MS) il rischio di risultati falsamente elevati o ridotti deve essere considerato principalmente in termini di *bias*, precisione e conseguente possibile misclassificazione rispetto al *range* terapeutico.

Una sottostima sistematica (*bias* negativo) o una dispersione dei risultati (imprecisione) può portare a riportare un valore inferiore alla soglia terapeutica minima quando la concentrazione reale del farmaco è invece adeguata o superiore. Nel caso, ade esempio, degli immunosoppressori, ciò espone i pazienti al rischio di un aggiustamento posologico inappropriato (incremento della dose) da parte del clinico, con conseguente rischio di sovradosaggio iatrogeno e tossicità da immunosoppressore (23). I dati di precisione a 21 giorni (CV% di ripetibilità e precisione intermedia) mostrano variabilità contenuta su tutto il *range* di misura (**Tabelle 11-14**) (11), e i *ring trial* riportano *bias* mediani generalmente contenuti, incluse le concentrazioni prossime ai punti di decisione medica (MDP) (**Figure 8-11**) (24).

Figura 8 – Risultati del *ring trial* LGC per la ciclosporina (*Ionify*® *CSA*) (24)

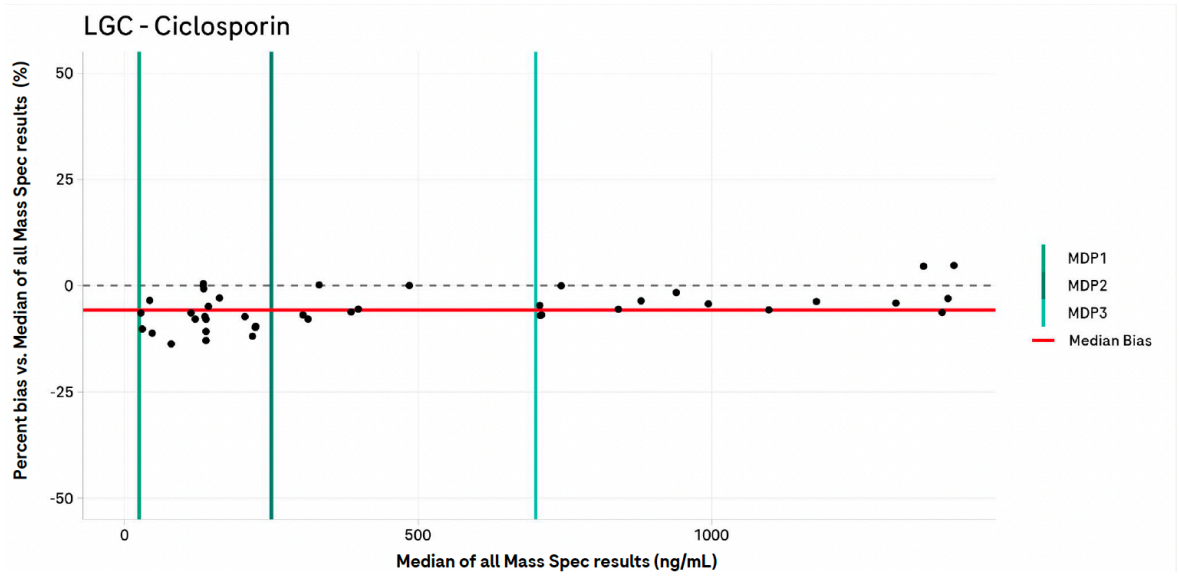


Figura 9 – Risultati del *ring trial* LGC per everolimus (*Ionify® EVE*) (24)

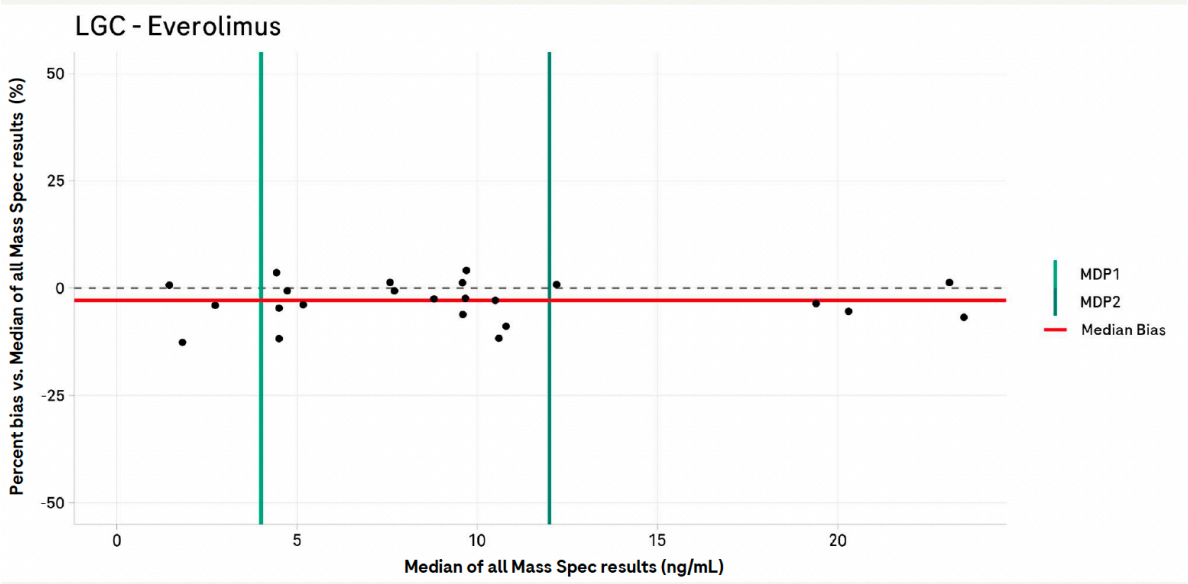


Figura 10 – Risultati del *ring trial* LGC per *sirolimus (Ionify® SIR)* (24)

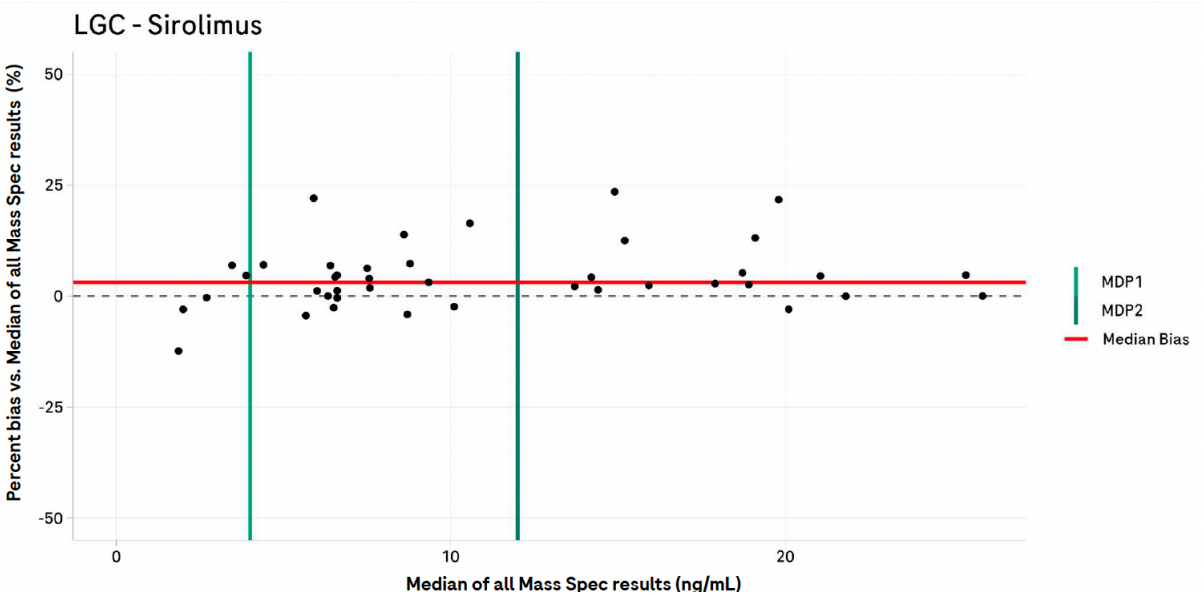
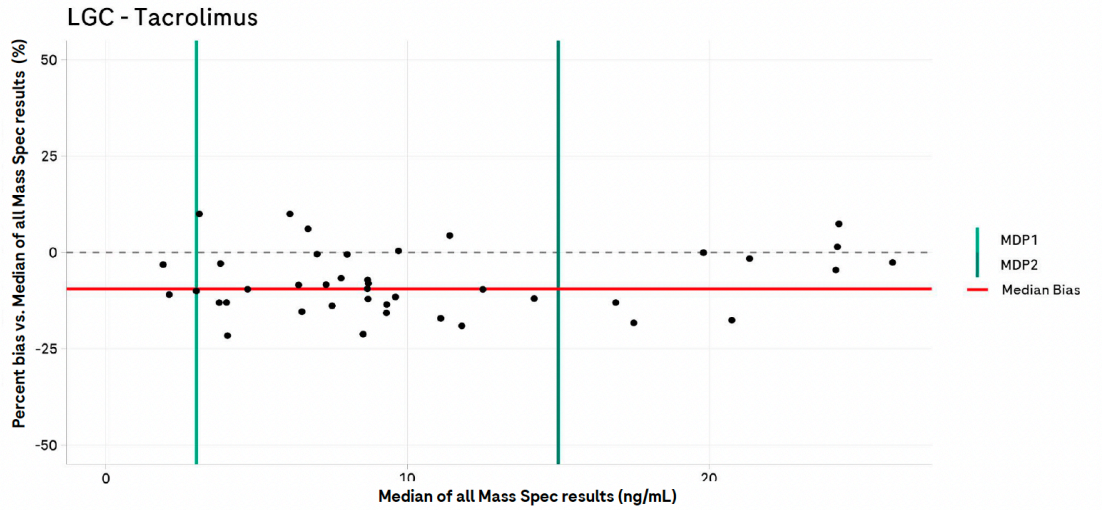


Figura 11 – Risultati del *ring trial* LGC per tacrolimus (*Ionify*® *TAC*) (24)



Per quanto riguarda le interferenze, i test risultano non significativamente influenzati, entro i criteri predefiniti, da sostanze endogene quali albumina, lipemia, bilirubina, colesterolo, acido urico ed ematocrito; sono inoltre stati valutati numerosi farmaci e metaboliti senza evidenza di interferenze clinicamente rilevanti (11). La separazione cromatografica e l'impiego di standard interni isotopicamente marcati contribuiscono inoltre a limitare l'effetto dei componenti della matrice, coerente con la procedura descritta da Taibon et al. (2020) (12).

L'automazione di molte fasi, unita all'uso di standard interni e protocolli validati, contribuisce a ridurre la variabilità operativa e il rischio di errori dipendenti dall'utente (25). Studi multicentrici hanno mostrato che solo in presenza di controlli di qualità e formazione adeguata del personale il *bias* tra laboratori può essere mantenuto molto basso (<1 %) (26). Allo stesso tempo, l'interpretazione dei dati richiede esperienza: discrepanze retrospettive tra immunometria e LC-MS/MS evidenziano come decisioni cliniche non esperte possano portare ad aggiustamenti posologici inappropriati, pur se il metodo di per sé è intrinsecamente più preciso (9,27). In questo contesto, la soluzione *cobas*® *Mass Spec*, che automatizza il *workflow* della tradizionale LC-MS/MS includendo anche l'interpretazione dei risultati, rappresenta un ulteriore vantaggio in termini di standardizzazione e supporto decisionale.

C0007 – La tecnologia e i comparatori sono associati a danni dipendenti dall'utente?

La principale criticità dell'immunometria risiede nella natura delle interazioni anticorpo–antigene e nel potenziale di interferenza da parte di specie cross-reattive. Le interferenze negli immunodosaggi possono avere origine esogena o endogena. Le interferenze esogene sono causate dall'aggiunta di fattori o condizioni esterni, *in vivo* o *in vitro*, che non sono normalmente presenti in un campione nativo correttamente raccolto e conservato. Le interferenze endogene

sono invece causate da fattori presenti nel sangue del paziente in condizioni fisiologiche o fisiopatologiche (28).

Gli errori analitici nell'immunometria possono derivare inoltre da malfunzionamenti delle apparecchiature o da difetti non rilevati nei controlli di qualità. A questi si aggiungono gli errori classificati come esogeni, legati, ad esempio, alla variabilità nel pipettaggio dei campioni, ad altre manipolazioni o a imprecisioni di calibrazione, e quelli endogeni. Qualunque sia l'origine, l'individuazione delle interferenze endogene, spesso dovute alla misurazione di sostanze diverse da quelle target, richiede sempre la vigilanza di personale clinico e di laboratorio adeguatamente formato e consapevole (29).

Per quanto riguarda la LC-MS/MS, grazie alla tecnologia su cui si basa e alla granularità della raccolta dei dati, è ampiamente considerata più specifica, più selettiva e meno soggetta a interferenze rispetto alla maggior parte degli immunodosaggi per l'analisi di piccole molecole (29); tuttavia, la gestione non appropriata delle fasi (preparazione dei campioni, programmi di calibrazione e gestione degli standard interni) può compromettere la specificità e la sensibilità delle analisi. A ciò si aggiungono alcuni limiti pratici intrinseci alla tecnologia, tra cui la complessità strumentale, la necessità di personale altamente formato e problemi di capacità produttiva (30,31).

Inoltre, l'eterogeneità dei fornitori delle tecnologie ha come conseguenza l'esistenza di numerose configurazioni di strumenti, diversi metodi pre-analitici e analitici, diverse condizioni di acquisizione dei dati, concetti di calibrazione e controllo di qualità differenti e, infine, metodi di interpretazione dei risultati non standardizzati. Ciò comporta una maggiore difficoltà nel confrontare i risultati sia tra laboratori differenti, sia tra strumenti diversi (32,33). Esistono tuttavia alcuni aspetti specifici che i professionisti di laboratorio devono affrontare durante la validazione dei metodi LC-MS/MS.

La tecnologia *cobas*® *Mass Spec Solution,* essendo una soluzione completa ad elevata automazione contribuisce ad aumentare l'efficienza del flusso di lavoro e a ridurre la possibilità di errore umano. Inoltre, la tecnologia prevede l'utilizzo di reagenti pronti all'uso, che consente una più rapida e facile gestione dei campioni.

Per la calibrazione dei test, *cobas*® *Mass Spec Solution* utilizza una curva di calibrazione master predefinita, costruita a partire da sei o più punti di calibrazione. All'operatore è richiesto di verificare la validità della curva mediante l'esecuzione di due punti di calibrazione sullo strumento. L'estrapolazione dei picchi si basa su algoritmi sviluppati durante la fase di sviluppo del metodo, progettati per standardizzare l'interpretazione dei segnali cromatografici, garantendo così maggiore affidabilità e riproducibilità dei risultati finali (33).

Infine, *cobas*® *Mass Spec Solution* risulta essere anche una tecnologia di facile utilizzo: una sessione di formazione di tre giorni per i tecnici di laboratorio è sufficiente per utilizzare correttamente il sistema, anche per operatori che non possiedono competenze preliminari in MS o cromatografia (34).

2. Sicurezza del lavoro

C0020 – Che tipo di danni professionali possono verificarsi quando si utilizza la tecnologia?

I rischi professionali connessi all'utilizzo di sistemi automatizzati come la tecnologia *cobas*® *Mass Spec Solution* risultano in generale inferiori rispetto ai flussi di lavoro manuali di MS (34-36). Ciò nonostante, gli operatori possono essere esposti a diverse tipologie di rischio, che riguardano l'ergonomia, l'esposizione chimica, il controllo delle infezioni e le procedure di manutenzione.

Attività ripetitive come il caricamento dei campioni, il pipettaggio o il mantenimento prolungato della posizione eretta possono determinare affaticamento e disturbi muscoloscheletrici (37).

L'esposizione ai solventi comunemente impiegati in LC-MS/MS, spesso classificati come infiammabili, tossici o irritanti e che richiedono un rigoroso controllo del rischio per inalazione e contatto cutaneo (38), risulta significativamente ridotta con *cobas*® *Mass Spec*. Nel sistema, infatti, i solventi sono contenuti in flaconi chiusi con tappi progettati per limitarne l'evaporazione e sono alloggiati in un vano dedicato all'interno dello strumento. La manipolazione di campioni biologici, quali sangue e urine, deve essere condotta considerando tali materiali come potenzialmente infettivi. Esiste infatti il rischio di esposizione a patogeni sia per contatto diretto sia attraverso aerosol generati durante pipettaggio e trasferimenti. Per questo motivo si raccomanda l'adozione delle misure previste dai laboratori BSL-2, che includono guanti, indumenti protettivi, occhiali/visiere e procedure standardizzate di manipolazione, decontaminazione e smaltimento (39).

Gli spettrometri di massa, essendo apparecchiature elettriche, presentano elementi ad alta tensione, sistemi a vuoto e componenti in movimento. In caso di guasti possono insorgere rischi elettrici e meccanici, mitigabili attraverso manutenzione regolare e accesso riservato esclusivamente a personale qualificato (36,40).

Infine, grandi apparecchiature analitiche possono produrre rumore di fondo e vibrazioni tali da generare *discomfort* o superare i limiti raccomandati se collocate in spazi ristretti. Inoltre, possono sviluppare quantità significative di calore, rendendo necessarie adeguate soluzioni di ventilazione e climatizzazione per garantire condizioni ambientali sicure e confortevoli (39,40).

Per quanto riguarda i solventi, quando è presente una componente organica infiammabile, le Schede di dati di sicurezza (SDS) (41) indicano di evitare la formazione di aerosol, di non respirare i vapori, di garantire un adeguato ricambio d'aria e di prevenire l'accumulo di cariche elettrostatiche. In questi casi, bisogna inoltre prestare attenzione all'accumulo di vapori in zone poco elevate, con possibile formazione di concentrazioni pericolose.

La gestione dei rifiuti prevede il divieto di scarico in fognatura o corsi d'acqua, la raccolta differenziata delle acque di lavaggio o di estinzione contaminate, il conferimento a un'impresa autorizzata per lo smaltimento, e il divieto di riutilizzo dei contenitori vuoti (41).

Per la manutenzione, nel caso di una componente infiammabile, è richiesto un ambiente secco e ben ventilato, la chiusura ermetica dei contenitori riposti in posizione verticale, e la conformità delle installazioni elettriche e dei materiali di lavoro alle norme di sicurezza vigenti (41).

Per l'esposizione accidentale, le misure di primo soccorso indicate comprendono il lavaggio abbondante di pelle e occhi, la rimozione delle lenti a contatto, l'indicazione di non somministrare nulla a persone svenute, e di consultare un medico in caso di persistenza dei disturbi (41).

Per il calore e il rischio di incendio, le SDS (41) indicano mezzi di estinzione idonei, la necessità di tenere lontane fonti di calore, superfici calde, scintille e fiamme libere, e la raccomandazione di raffreddare con acqua i contenitori chiusi esposti al fuoco.

Per le procedure di emergenza, le SDS (41) riportano il recapito per il centro antiveleni di riferimento, e l'indicazione, per gli addetti all'estinzione degli incendi, di indossare un respiratore autonomo, se necessario.

Conclusioni

Nel contesto del TDM degli immunosoppressori calcineurinici inibitori (CNI, quali ciclosporina e tacrolimus) e inibitori di mTOR (everolimus e sirolimus), nonché dell'acido micofenolico, l'adozione della MS in tandem con cromatografia liquida (LC-MS/MS), particolarmente nelle sue varianti automatizzate, si delinea come un paradigma analitico superiore rispetto ai metodi immunometrici tradizionali, offrendo una quantificazione altamente specifica del *parent drug* attivo e minimizzando i *bias* sistematici derivanti dalla cross-reattività con metaboliti inattivi o parzialmente attivi. Tale vantaggio analitico, con coefficienti di variazione (CV) tipicamente inferiori al 10% e *bias* ridotti al 20% circa rispetto alle immunometrie, si traduce clinicamente in un'ottimizzazione del mantenimento dei *range* terapeutici target, riducendo il rischio di sotto-immunosoppressione, che espone a rigetto acuto (incidenza stimata 10-15% ridotta) o cronico mediante attivazione linfocitaria e risposta anticorpale anti-donatore, e di sovra-esposizione cronica, principale determinante di nefrotossicità vasocostrittoria (via endotelina-1 e TGF-β), epatotossicità (elevazione di transaminasi), neurotossicità calcineurina-mediata, disordini emolinfopoietici (anemie, leucopenie) e metabolici (iperglicemia, dislipidemia). L'automazione LC-MS/MS, integrando la fase preparativa del campione, la separazione cromatografica e il rilevamento e quantificazione dell'analita target e unendo una elevata produttività, abbatte ulteriormente la variabilità pre- e post-analitica, standardizzando i processi laboratoristici e ipotizzando una correlazione esposizione-risposta potenzialmente più precisa. Su queste premesse analitiche è possibile ipotizzare una riduzione delle complicanze post-trapianto rispetto ai protocolli basati su immunometria, quantificata in via prudenziale nell'ordine del 10-20%. In ambito HTA, tale superiorità rafforza l'applicazione di un fattore correttivo sul dominio SAF, giustificando l'implementazione routinaria di LC-MS/MS automatizzata per migliorare *outcome* clinici ed efficienza economica nei programmi di trapianto d'organo.

Bibliografia

1. Hashi, S., Masuda, S., Kikuchi, M., Uesugi, M., Yano, I., Omura, T., Yonezawa, A., Fujimoto, Y., Ogawa, K., Kaido, T., Uemoto, S., & Matsubara, K. (2014). Assessment of four methodologies (microparticle enzyme immunoassay, chemiluminescent enzyme immunoassay, affinity column-mediated immunoassay, and flow injection assay-tandem mass spectrometry) for measuring tacrolimus blood concentration in Japanese liver transplant recipients. Transplantation proceedings, 46(3), 758–760.
2. Hieu, T. B., Dung, N. M., Toan, P. Q., Kien, T. Q., Van Duc, N., Thang, L. V., Van Tran, P., Hop, V. Q., Phuong, N. M., Ben, N. H., Van Khoi, N., Nghia, T. T., Dung, V. D., Van Thinh, N., Hang, D. T. T., Van Men, C., Long, D. D., & Su, H. X. (2023). Determination of tacrolimus in human whole blood in kidney transplant recipients using a rapid and specific LC-MS/MS method. Journal of clinical laboratory analysis, 37(15-16), e24958.
3. Aucella, F., Lauriola, V., Vecchione, G., Tiscia, G. L., & Grandone, E. (2013). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method as the golden standard for therapeutic drug monitoring in renal transplant. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 86, 123–126. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.08.001
4. RCP Sandimmun (ciclosporina), disponibile online: https://medicinali.aifa.gov.it/it/#/it/organizzazione/114/farmaci/25306/stampati/RCP
5. RCP Prograf (tacrolimus), disponibile online: disponibile online: https://medicinali.aifa.gov.it/it/#/it/organizzazione/1431/farmaci/29485/stampati/RCP
6. RCP Afinitor (everolimus), disponibile online: https://medicinali.aifa.gov.it/it/#/it/dettaglio/0000061994
7. RCP Rapamune (sirolimus), disponibile online: https://medicinali.aifa.gov.it/it/#/it/dettaglio/0000034543
8. RCP Myfortic (acido micofenolico), disponibile online: https://medicinali.aifa.gov.it/it/#/it/dettaglio/0000037473
9. Zhang, M., Tajima, S., Shigematsu, T., Noguchi, H., Kaku, K., Tsuchimoto, A., Okabe, Y., Egashira, N., & Ieiri, I. (2022). Development and Validation of A Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method to Simultaneously Measure Tacrolimus and Everolimus Concentrations in Kidney Allograft Biopsies After Kidney Transplantation. Therapeutic drug monitoring, 44(2), 275–281.
10. CLSI EP05-A3 Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures, 3rd Edition: October 1, 2014.
11. iiISD Method Sheet, document number 09627596500 - Status 25-Apr-2025
12. Taibon J, van Rooij M, Schmid R, Singh N, Albrecht E, Anne Wright J, Geletneky C, Schuster C, Mörlein S, Vogeser M, Seger C, Pongratz S, Kobold U. An isotope dilution LC-MS/MS based candidate reference method for the quantification of cyclosporine A, tacrolimus, sirolimus and everolimus in human whole blood. Clin Biochem. 2020 Aug;82:73-84. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2019.11.006. Epub 2019 Nov 23. PMID: 31770523.

13. CLSI EP09c Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd Edition: June 20, 2018.
14. Data on file – Multicenter Evaluation for cobas® pro i 601 analyzer and its Ionify® reagent line: Assay Performance Evaluation for the Ionify Immunosuppressants i pack, Study No. RD006755; Figure 14.4.7.2
15. Data on file – internal method comparison iISDs - 11-April-2025
16. Zhu, J. H., Hussaini, T., Erb, S. R., Marquez, V., & Yoshida, E. M. (2018). Medical complications of liver transplantation. AME Medical Journal, 3(1).
17. SahBandar, I. N., Zhao, Z., Racine-Brzostek, S. E., Rai, A. J., Cid, M., Cushing, M. M., ... & Yang, H. S. (2025). Comparative evaluation of five tacrolimus assays in transplant recipients: implications for optimizing therapeutic drug monitoring. Frontiers in Transplantation, 4, 1716789.
18. National Kidney Federation. What are the complications of transplantation? Disponibile online: https://www.kidney.org.uk/what-are-the-complications-of-transplantation.
19. Muntean, A., & Lucan, M. (2013). Immunosuppression in kidney transplantation. Clujul medical, 86(3), 177.
20. Montano-Loza, A. J., Rodríguez-Perálvarez, M. L., Pageaux, G. P., Sanchez-Fueyo, A., & Feng, S. (2023). Liver transplantation immunology: Immunosuppression, rejection, and immunomodulation. Journal of Hepatology, 78(6), 1199-1215.
21. Moreno, R., & Berenguer, M. (2006). Post-liver transplantation medical complications. Annals of hepatology, 5(2), 77-85.
22. Johnston, A., & Holt, D. W. (1999). Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs. British journal of clinical pharmacology, 47(4), 339.
23. Kolaitis NA, Calabrese DR, Ahearn P, Venado A, Florez R, Lei HL, Isaak K, Henricksen E, Martinez E, Chong T, Shah RJ, Leard LE, Kleinhenz ME, Golden J, De Marco T, Greenland JR, Kukreja J, Hays SR, Blanc PD, Singer JP. Tacrolimus trough monitoring guided by mass spectrometry without accounting for assay differences is associated with acute kidney injury in lung transplant recipients. Am J Health Syst Pharm. 2019 Dec 2;76(24):2019-2027.
24. Data on file, scatter plot di bias percentuale vs. mediana gruppo di riferimento HPLC-MS).
25. Tron, C., Coste, G., Lalanne, S., Bernard, A., Jan, Y. G., Ferrand-Sorre, M. J., Verdier, M. C., Bellissant, E., & Lemaitre, F. (2021). A simple and fast liquid chromatography tandem mass spectrometry method to determine cyclosporine A concentrations in endomyocardial biopsies. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 193, 113664.
26. He, X., Yang, X., Yan, X., Huang, M., Xiang, Z., & Lou, Y. (2022). Individualized Dosage of Tacrolimus for Renal Transplantation Patients Based on Pharmacometabonomics. Molecules (Basel, Switzerland), 27(11), 3517.
27. Yoo, H. J., Yi, Y., Kang, Y., Kim, S. J., Yoon, Y. I., Tran, P. H., Kang, T., Kim, M. K., Han, J., Tak, E., Ahn, C. S., Song, G. W., Park, G. C., Lee, S. G., Kim, J. J., Jung, D. H., Hwang, S., & Kim, N. (2023). Reduced Ceramides Are Associated with Acute Rejection in Liver Transplant Patients and

Skin Graft and Hepatocyte Transplant Mice, Reducing Tolerogenic Dendritic Cells. Molecules and cells, 46(11), 688–699.

28. Maximizing the value of laboratory tests. Disponibile online: https://oncohemakey.com/maximizing-the-value-of-laboratory-tests/.
29. Sturgeon CM, Viljoen A. Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk. Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine. 2011;48(5):418-432. doi:10.1258/acb.2011.011073
30. Grebe, S. K., & Singh, R. J. (2011). LC-MS/MS in the clinical laboratory–where to from here?. The Clinical biochemist reviews, 32(1), 5.
31. RSC Analytical Methods Committee. (2014). Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements. Sargent M., Ed.
32. Vogeser, et al. A proposal to standardize the description of LC- MS-based measurement methods in laboratory medicine. Clin. Mass Spectrom. 2019;13:36-38
33. Seger, et al. Establishing metrological traceability in laboratory medicine. Clin Chem Lab Med. 2023; doi: 10.1515/cclm-2022-0995
34. Vogeser M, Habler K, Reuter A, Schneider-Thauern C. Research letter: Pilot study of a prototype fully automated mass spectrometry system for routine clinical laboratory use. J Mass Spectrom Adv Clin Lab. 2024 Oct 11;34:44-45. doi: 10.1016/j.jmsacl.2024.10.004. PMID: 39584148; PMCID: PMC11585833.
35. Elpa, D. P., Prabhu, G. R. D., Wu, S. P., Tay, K. S., & Urban, P. L. (2020). Automation of mass spectrometric detection of analytes and related workflows: A review. Talanta, 208, 120304.
36. Thomas, S. N., French, D., Jannetto, P. J., Rappold, B. A., & Clarke, W. A. (2022). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for clinical diagnostics. Nature Reviews Methods Primers, 2(1), 96.
37. Holm, J. W., Mortensen, O. S., & Gyntelberg, F. (2016). Upper limb disorders among biomedical laboratory workers using pipettes. Cogent Medicine, 3(1), 1256849.
38. Turtoi, E., Jeudy, J., Henry, S., Dadi, I., Valette, G., Enjalbal, C., & Turtoi, A. (2023). Analysis of polar primary metabolites in biological samples using targeted metabolomics and LC-MS. STAR protocols, 4(3), 102400.
39. Holland, I., & Davies, J. A. (2020). Automation in the life science research laboratory. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 8, 571777.
40. National Research Council, Division on Earth, Board on Chemical Sciences, Committee on Prudent Practices in the Laboratory, & An Update. (2011). Prudent practices in the laboratory: handling and management of chemical hazards, updated version.
41. Roche Diagnostics SpA (2026). Schede di dati di sicurezza dei kit Ionify [Ionify Steroids 1 (iST1), cod. 09629645190, v. 1.4; Ionify Immunosuppressants (iISD), cod. 09627596190, v. 3.2; Ionify Vitamin D 25 and 24,25 (iVD1), cod. 09634622190, v. 1.3; Ionify Steroids 2 (iST2), cod. 09634444190, v. 1.3; Ionify Antibiotics 1 (iAB1), cod. 09628819190, v. 1.2; Ionify Antiepileptics 1 (iAED1), cod. 09492356190, v. 1.2; Ionify Antiepileptics 2 (iAED2), cod. 09495495190, v. 1.3; Ionify 3MV (i3MV), cod. 09628436190, v. 4.2]. Redatte secondo il Regolamento (CE) n.

1907/2006, come modificato dal Regolamento (UE) 2020/878. Monza: Roche Diagnostics SpA.

Dominio EFF
Efficacia clinica

Topic & Issue del dominio

Efficacia clinica (EFF)

Tabella 16 – *Topic & Issue* Efficacia clinica (EFF)

Topic	*Issue*	*Assessment element ID*
Mortalità	Qual è l'effetto benefico atteso della tecnologia su mortalità?	D0001
Morbilità	In che modo la tecnologia modifica l'efficacia degli interventi successivi?	D0026
	In che modo la tecnologia influisce sulla progressione (o recidiva) della malattia o della condizione di salute?	D0006
Test di precisione	Qual è lo standard di riferimento e con quale probabilità è in grado di classificare correttamente la condizione target?	D1003
Gestione delle modifiche	L'uso del test porta a un migliore rilevamento della condizione?	D0020
	In che modo l'uso del test cambia le decisioni di gestione dei medici?	D0021

1. Mortalità

D0001 – Qual è l'effetto benefico atteso della tecnologia su mortalità?

Attualmente non sono stati condotti studi clinici con *endpoint* di mortalità diretta riconducibili specificamente all'uso della piattaforma *cobas*® *Mass Spec Solution*; pertanto, non è possibile documentare un effetto diretto della tecnologia su questo esito. Tuttavia, basandosi sull'effetto della tecnologia su TDM, decisioni cliniche più accurate e diagnosi più tempestive, è ragionevole attendersi un effetto indiretto favorevole sulla mortalità, attraverso la riduzione delle complicanze gravi (ad es. rigetti, infezioni, esiti avversi farmaco-correlati) e la migliore gestione del paziente. Non si tratta di una terapia che riduce la mortalità direttamente, ma di un dispositivo diagnostico/monitoraggio che aumenta le probabilità di interventi efficaci che a loro volta possono migliorare la sopravvivenza (1-5).

2. Morbilità

D0026 – In che modo la tecnologia modifica l'efficacia degli interventi successivi?

L'adozione del sistema *cobas*® *Mass Spec Solution* può aumentare l'efficacia degli interventi clinici successivi grazie a una migliore qualità dei dati analitici che consentono decisioni terapeutiche più accurate. Ad esempio, studi sui pazienti trapiantati hanno dimostrato che LC-MS/MS permette una modulazione posologica più precisa degli immunosoppressori rispetto all'immunometria, migliorando le probabilità che le modifiche terapeutiche successive siano più efficaci e sicure (1). Inoltre, metodi molto rapidi validati su pazienti trapiantati hanno dimostrato che la MS può consentire un *turnaround* tale da rendere il monitoraggio più tempestivo e reattivo, supportando interventi successivi più appropriati (6). Infine, la riduzione degli errori analitici grazie a LC-MS/MS riduce la probabilità di interventi terapeutici errati, migliorando l'efficacia degli interventi successivi (4).

D0006 – In che modo la tecnologia influisce sulla progressione (o recidiva) della malattia o della condizione di salute?

L'impiego del sistema *cobas*® *Mass Spec Solution* non modifica direttamente la biologia della malattia, ma può influenzare indirettamente la progressione o la recidiva della condizione clinica nei pazienti sottoposti a trapianto attraverso tre principali meccanismi: ottimizzazione dell'esposizione farmacologica, riduzione del rischio di recidiva della malattia o di rigetto, e migliore controllo della variabilità farmacocinetica e farmacodinamica (6,7).

La misurazione sistematica delle concentrazioni di immunosoppressori (ad es. tacrolimus, ciclosporina) nel sangue intero consente infatti di personalizzare l'aggiustamento posologico, evitando sia la sottoesposizione (associata a rigetto del trapianto o recidiva della malattia di base) sia la sovraesposizione (associata a nefrotossicità, infezioni opportunistiche e neoplasie) (6).

Studi su tacrolimus hanno inoltre dimostrato che un maggiore *time in therapeutic range* (TTR) nelle fasi precoci dopo il trapianto è associato a migliori *outcome* clinici e a una minore recidiva oncologica dopo trapianto di fegato; questo concetto è verosimilmente estendibile anche ad altri contesti clinici in cui l'esposizione al farmaco è strettamente correlata al controllo della malattia (6).

Il TDM consente inoltre di correggere ex post l'impatto di fattori che influenzano le concentrazioni plasmatiche, quali funzione renale, interazioni farmacologiche, età, peso corporeo e aderenza alla terapia, contribuendo a prevenire periodi prolungati di esposizione al di fuori del *range* terapeutico, che possono favorire progressione della malattia o recidiva (7).

Grazie all'elevato grado di automazione, standardizzazione del *workflow* analitico e supporto nell'interpretazione dei dati (8), è ragionevole ritenere che la soluzione *cobas*® *Mass Spec Solution* rappresenti uno strumento praticabile per TDM routinario su sangue intero.

3. Test di precisione

D1003 – Qual è lo standard di riferimento e con quale probabilità è in grado di classificare correttamente la condizione target?

La LC-MS/MS è generalmente considerata il metodo di riferimento per TDM degli immunosoppressori nei pazienti sottoposti a trapianto, per l'elevata selettività nei confronti del farmaco parentale e la minore suscettibilità alle interferenze da metaboliti (9). Nelle validazioni analitiche, metodi LC-MS/MS per ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, everolimus e acido micofenolico hanno mostrato, alle concentrazioni clinicamente rilevanti, CV intra- e inter-serie prevalentemente inferiori al 10% (**Tabella 17**). Tale valore decresce al 6% nel caso di pannello LC-MS/MS completamente automatizzato per ciclosporina, tacrolimus, sirolimus ed everolimus ha mostrato (11).

Tabella 17 – Precisione LC-MS/MS per ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, everolimus e acido micofenolico (10)

Analita	CV intra-serie (%)	CV inter-serie (%)
Ciclosporina A	0,9-7,4	2,5-7,1
Tacrolimus	3,7-3,8	4,5-4,9
Sirolimus	5,0-5,1	4,9-5,0
Everolimus	2,9-5,1	5,7-6,9
MPA	1,3-1,6	3,0-3,2

Abbreviazioni: MPA, acido micofenolico

Gli immunodosaggi non sono necessariamente meno precisi in termini di CV; tuttavia, il limite principale degli immunodosaggi rispetto alla LC-MS/MS è spesso il *bias* sistematico, in particolare la sovrastima delle concentrazioni dovuta alla cross-reattività. Nella valutazione dell'immunodosaggio QMS per tacrolimus, pur in presenza di CV 3,9–8,1%, è stato osservato un *bias* proporzionale del 17% rispetto alla LC-MS/MS; il *bias* di pendenza era del 22% nei pazienti

sottoposti a trapianto epatico e del 31% in quelli con trapianto renale (12). In una recente valutazione in pazienti trapiantati, il confronto tra immunodosaggio ECLIA e LC-MS/MS ha mostrato un *bias* mediano del 2,07% per ciclosporina, del 41,2% per everolimus e del 34,9% per sirolimus. Lo stesso studio ha rilevato una riclassificazione della fascia terapeutica nel 27,9% dei campioni per everolimus e nel 19,2% dei campioni per sirolimus (11).

Oltre all'impiego primario nel monitoraggio dei farmaci immunosoppressori, la tecnologia dimostra versatilità e precisione anche in altri contesti clinici complessi (13). Nei pazienti critici (ad esempio nel monitoraggio di antibiotici come meropenem e vancomicina), la LC-MS/MS tende a fornire risultati sensibili, accurati e affidabili, con elevata precisione (*Relative Standard Deviation*, RSD) di 0.08-16.7 %) e accuratezza (85.2-117.2%), confermandosi il *gold standard* per il TDM nei pazienti critici (14).

Per PMOS, la LC-MS/MS viene usata soprattutto per la caratterizzazione degli steroidi per documentare l'iperandrogenismo biochimico e caratterizzare i diversi fenotipi di PMOS. In questo ambito LC-MS/MS offre misure più accurate e specifiche rispetto ai test immunometrici, principalmente grazie alla sua capacità di eseguire analisi multiple, garantire tempi di analisi rapidi e migliorare la specificità rispetto ai test immunologici. Una recente revisione sistematica (15) ha stimato che la LC-MS/MS risulta superiore in sensibilità per cFT/, FAI/, A4/ e DHEAS e in specificità per TT/, cFT/ e FAI, mentre mostra sensibilità lievemente inferiore all'immunometria per TT (0,71 vs 0,74) e specificità inferiore per A4 (0,63 vs 0,77) e DHEAS (0,57 vs 0,70). Gli intervalli di confidenza sono ampi e in larga parte sovrapposti, per cui il confronto non documenta una superiorità diagnostica generalizzata (**Tabella 18**).

Tabella 18 – Accuratezza diagnostica androgeni: LC-MS/MS vs. immunometria (15)

Androgeno	Metodo	Sensibilità (95% CI)	Specificità (95% CI)
TT	Immunometria	0.74 (0.60–0.85)	0.78 (0.67–0.86)
	LC-MS/MS	0.71 (0.51–0.85)	0.92 (0.83–0.96)
cFT	Immunometria	0.74 (0.64–0.82)	0.81 (0.75–0.85)
	LC-MS/MS	0.88 (0.80–0.93)	0.87 (0.75–0.94)
FAI	Immunometria	0.74 (0.68–0.79)	0.83 (0.73–0.90)
	LC-MS/MS	0.89 (0.80–0.94)	0.89 (0.69–0.97)
A4	Immunometria	0.64 (0.48–0.78)	0.77 (0.53–0.91)
	LC-MS/MS	0.86 (0.73–0.94)	0.63 (0.32–0.86)
DHEAS	Immunometria	0.67 (0.48–0.82)	0.70 (0.46–0.86)
	LC-MS/MS	0.82 (0.59–0.93)	0.57 (0.25–0.84)

Abbreviazioni: A4, Androstenedione; cFT, Testosterone libero calcolato; DHEAS, Deidroepiandrosterone solfato; FAI, Indice degli androgeni liberi; TT, Testosterone totale

Per *cobas*® *Mass Spec Solution*, la letteratura (8,16) conferma *performance* analoghe alla LC MS/MS tradizionale, con *bias* accettabili in confronto ai metodi di riferimento e idoneità per routine clinica.

4. Gestione delle modifiche

D0020 – L'uso del test porta a un migliore rilevamento della condizione?

L'impiego della piattaforma *cobas*® *Mass Spec solution* contribuisce a un migliore rilevamento della condizione clinica principalmente grazie alla maggiore coerenza e affidabilità del processo analitico. L'automazione completa della preparazione del campione, della calibrazione e delle fasi di misura riduce in modo significativo la variabilità legata all'operatore e alle procedure manuali tipiche della LC-MS/MS tradizionale (8,16,17). Questo si traduce in risultati più stabili nel tempo e più facilmente confrontabili tra laboratori, elemento fondamentale nei percorsi diagnostici che richiedono monitoraggi seriati o decisioni terapeutiche basate su precise soglie. Inoltre, la capacità della piattaforma di gestire in modo integrato l'intero *workflow* riduce il rischio di errori pre-analitici e post-analitici, migliorando la qualità complessiva del dato prodotto (8,16,17). Tale robustezza operativa consente di rilevare variazioni clinicamente rilevanti con maggiore affidabilità, anche in contesti complessi come il monitoraggio dei farmaci immunosoppressori nei pazienti trapiantati, valutazione del profilo steroideo nelle pazienti con sospetta disfunzione endocrina e pazienti in condizioni critiche che richiedono monitoraggio continuo. Rispetto all'immunometria, la disponibilità di misure più selettive e meno soggette a interferenze permette di identificare con maggiore precisione condizioni che potrebbero essere mascherate da cross-reattività o da limiti di sensibilità (10,18,19).

D0021 – In che modo l'uso del test cambia le decisioni di gestione dei medici?

L'impiego di *cobas*® *Mass Spec solution* può influenzare in modo significativo le decisioni di gestione dei medici, poiché consente di disporre di risultati più affidabili, tempestivi e riproducibili rispetto ai metodi tradizionali. Nel TDM dei farmaci immunosoppressori, caratterizzati da una finestra terapeutica estremamente ristretta e variabile tra i pazienti, la disponibilità di misurazioni stabili e standardizzate supporta un aggiustamento più accurato dei dosaggi. Ciò permette di bilanciare in modo più efficace il rischio di rigetto d'organo con quello di tossicità, favorendo un approccio realmente personalizzato al TDM (9,20).

Uno studio multicentrico sui flussi di lavoro, con disegno *time-and-motion*, ha confrontato le procedure dei metodi LC-MS/MS tradizionali con quelle del nuovo sistema *cobas*® *Mass Spec solution* (21). L'analisi è stata condotta su 93 *workflow* in sette laboratori clinici internazionali e ha incluso diversi gruppi di analiti, tra cui farmaci soggetti a TDM (micofenolato, linezolid, meropenem/piperacillina, voriconazolo e vari antiepilettici), oltre a testosterone e 25-idrossivitamina D. I risultati hanno evidenziato un miglioramento delle prestazioni operative del sistema automatizzato rispetto alle procedure LC-MS/MS di routine: il tempo mediano di disponibilità dei risultati è risultato circa 6,8 volte più breve (1 h 34 min vs. 10 h 37 min), mentre il tempo manuale richiesto agli operatori è risultato circa 19 volte inferiore (5 min vs. 93 min). Lo studio non prevedeva, di per sé, *endpoint* di impatto clinico-decisionale. Tuttavia, la disponibilità del risultato in circa un'ora e mezza anziché in oltre dieci ore consente, in linea di principio, di

effettuare l'eventuale aggiustamento posologico nella stessa giornata di degenza o prima della somministrazione successiva. Allo stesso modo, la riduzione dei passaggi manuali può limitare le ripetizioni analitiche e le refertazioni tardive.

Questo ultimo aspetto è particolarmente rilevante nei pazienti critici, nei quali interferenze endogene, politerapie o infezioni nosocomiali possono compromettere l'affidabilità dei metodi meno selettivi (14,17).

Anche nell'ambito della terapia ormonale, la disponibilità di misurazioni più accurate e meno soggette a interferenze consente una caratterizzazione più precisa del profilo endocrino (18,22,23). Questo può tradursi in decisioni terapeutiche più mirate, ad esempio nella modulazione della terapia sostitutiva, nella valutazione di disfunzioni endocrine complesse o nella gestione di condizioni come la sindrome ovarica poliendocrina metabolica.

Conclusioni

Le evidenze disponibili su *cobas*® *Mass Spec solution* documentano in via prevalente un profilo favorevole di validità analitica nel TDM degli immunosoppressori nei pazienti sottoposti a trapianto. Rispetto ai dosaggi immunometrici, la LC-MS/MS offre una maggiore selettività per il farmaco parentale, una minore cross-reattività con i metaboliti e una minore suscettibilità alle interferenze; nelle validazioni analitiche i CV intra- e inter-serie risultano prevalentemente inferiori al 10%, con valori intorno al 6% per il pannello completamente automatizzato, mentre per l'immunodosaggio QMS per tacrolimus è documentato un *bias* positivo rispetto al metodo di riferimento. Risultati analoghi di maggiore selettività e minore suscettibilità alle interferenze emergono anche per gli ambiti applicativi nel profilo steroideo e nel TDM degli antibiotici (D1003).

Sul piano della gestione delle modifiche, il beneficio meglio documentato riguarda la standardizzazione e l'efficienza del processo: l'automazione integrata di preparazione del campione, calibrazione e misura riduce la variabilità legata alle procedure manuali e il rischio di errori pre- e post-analitici, a supporto di risultati più stabili e confrontabili tra laboratori (D0020).

Non sono attualmente disponibili studi, sperimentali od osservazionali, con *endpoint* di mortalità o morbilità riconducibili specificamente alla piattaforma valutata. L'effetto atteso su mortalità (D0001), sull'efficacia degli interventi successivi (D0026) e sulla progressione o recidiva della condizione clinica (D0006) è ipotizzato per via indiretta, attraverso il mantenimento dell'esposizione entro il *range* terapeutico, e si fonda su evidenze relative alla LC-MS/MS come classe metodologica e sull'osservazione che una maggiore permanenza delle concentrazioni del farmaco entro l'intervallo terapeutico si associa a esiti clinici migliori, non su dati generati con la tecnologia in valutazione.

In sintesi, le evidenze raccolte in questo dominio sostengono la validità analitica della tecnologia e un potenziale guadagno di efficienza organizzativa, mentre l'utilità clinica (*decision impact*) e gli esiti di salute per il paziente restano incerti. Il superamento di questa lacuna richiede studi prospettici con *endpoint* di impatto decisionale ed esiti clinici, condotti sulla piattaforma automatizzata nei percorsi assistenziali di riferimento.

Bibliografia

1. Hieu, T. B., Dung, N. M., Toan, P. Q., Kien, T. Q., Van Duc, N., Thang, L. V., Van Tran, P., Hop, V. Q., Phuong, N. M., Ben, N. H., Van Khoi, N., Nghia, T. T., Dung, V. D., Van Thinh, N., Hang, D. T. T., Van Men, C., Long, D. D., & Su, H. X. (2023). Determination of tacrolimus in human whole blood in kidney transplant recipients using a rapid and specific LC-MS/MS method. *Journal of clinical laboratory analysis*, *37*(15-16), e24958.
2. Wang, C., Feng, G., Zhao, J., Xu, Y., Li, Y., Wang, L., Wang, M., Liu, M., Wang, Y., Mu, H., & Zhou, C. (2024). Screening of novel biomarkers for acute kidney transplant rejection using DIA-MS based proteomics. Proteomics. Clinical applications, 18(3), e2300047.
3. Kocur, A., Rubik, J., Czarnowski, P., Czajkowska, A., Marszałek, D., Sierakowski, M., Górska, M., & Pawiński, T. (2023). Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid (MPA) using volumetric absorptive microsampling (VAMS) in pediatric renal transplant recipients: ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analytical method development, cross-validation, and clinical application. Pharmacological reports : PR, 75(4), 1026–1042.
4. Hashi, S., Masuda, S., Kikuchi, M., Uesugi, M., Yano, I., Omura, T., Yonezawa, A., Fujimoto, Y., Ogawa, K., Kaido, T., Uemoto, S., & Matsubara, K. (2014). Assessment of four methodologies (microparticle enzyme immunoassay, chemiluminescent enzyme immunoassay, affinity column-mediated immunoassay, and flow injection assay-tandem mass spectrometry) for measuring tacrolimus blood concentration in Japanese liver transplant recipients. Transplantation proceedings, 46(3), 758–760.
5. Song, L., Fang, F., Liu, P., Zeng, G., Liu, H., Zhao, Y., Xie, X., Tseng, G., Randhawa, P., & Xiao, K. (2020). Quantitative Proteomics for Monitoring Renal Transplant Injury. Proteomics. Clinical applications, 14(4), e1900036.
6. Lao Q, Wu X, Zheng X, Hu J, Huang S, Li D, Du Y, Yang N, Zhu H. Effect of Tacrolimus Time in Therapeutic Range on Postoperative Recurrence in Patients Undergoing Liver Transplantation for Liver Cancer. Ther Drug Monit. 2024 Feb 1;46(1):42-48. doi: 10.1097/FTD.0000000000001119. Epub 2023 Jun 13. PMID: 37315150; PMCID: PMC10769175.
7. Povlsen S, Patel K, Roblin X, Papamichael K, Honap S. Therapeutic Drug Monitoring in Special Circumstances in Inflammatory Bowel Disease. J Clin Med. 2025 Nov 10;14(22):7956. doi: 10.3390/jcm14227956. PMID: 41302991; PMCID: PMC12653751.
8. Vogeser M, Habler K, Reuter A, Schneider-Thauern C. Research letter: Pilot study of a prototype fully automated mass spectrometry system for routine clinical laboratory use. J Mass Spectrom Adv Clin Lab.
9. Aucella, F., Lauriola, V., Vecchione, G., Tiscia, G. L., & Grandone, E. (2013). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method as the golden standard for therapeutic drug monitoring in renal transplant. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 86, 123-126.
10. Buchwald, A., Winkler, K., & Epting, T. (2012). Validation of an LC-MS/MS method to determine five immunosuppressants with deuterated internal standards including MPA. BMC clinical pharmacology, 12(1), 2.

11. Strydom, A., Jacob, D., Pillay, T., Malahlela, R., & Currin, S. (2024). The measurement of immunosuppressive drugs by mass spectrometry and immunoassay in a South African transplant setting. Practical Laboratory Medicine, 42, e00440
12. Leung EK, Yi X, Gloria C, Yeo KT. Clinical evaluation of the QMS® Tacrolimus immunoassay. Clin Chim Acta. 2014 Apr 20;431:270-5. doi: 10.1016/j.cca.2014.01.027. Epub 2014 Feb 8. PMID: 24518359.
13. Abdul-Aziz MH, Alffenaar JC, Bassetti M, Bracht H, Dimopoulos G, Marriott D, Neely MN, Paiva JA, Pea F, Sjovall F, Timsit JF, Udy AA, Wicha SG, Zeitlinger M, De Waele JJ, Roberts JA; Infection Section of European Society of Intensive Care Medicine (ESICM); Pharmacokinetic/pharmacodynamic and Critically Ill Patient Study Groups of European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID); Infectious Diseases Group of International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT); Infections in the ICU and Sepsis Working Group of International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper. Intensive Care Med. 2020 Jun;46(6):1127-1153. doi: 10.1007/s00134-020-06050-1. Epub 2020 May 7. PMID: 32383061; PMCID: PMC7223855.
14. Qi Z, Zhang S, Li J, Qian S, Song D, Ye X. LC-MS/MS analysis of five antibiotics in dried blood spots for therapeutic drug monitoring of ICU patients. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2025 Sep 1;1263:124699. doi: 10.1016/j.jchromb.2025.124699. Epub 2025 Jun 7. PMID: 40527223.
15. Bizuneh AD, Joham AE, Teede H, Mousa A, Earnest A, Hawley JM, Smith L, Azziz R, Arlt W, Tay CT. Evaluating the diagnostic accuracy of androgen measurement in metabolic poly-endocrine ovarian syndrome: a systematic review and diagnostic meta-analysis to inform evidence-based guidelines. Hum Reprod Update. 2025 Jan 1;31(1):48-63. doi: 10.1093/humupd/dmae028. PMID: 39305127; PMCID: PMC11696697.ICH
16. Thomas, S. N., French, D., Jannetto, P. J., Rappold, B. A., & Clarke, W. A. (2022). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for clinical diagnostics. Nature Reviews Methods Primers, 2(1), 96.
17. McShane, A. J., Bunch, D. R., & Wang, S. (2016). Therapeutic drug monitoring of immunosuppressants by liquid chromatography–mass spectrometry. Clinica Chimica Acta, 454, 1-5.
18. Casals, G., & Hanzu, F. A. (2020). Cortisol measurements in Cushing's syndrome: immunoassay or mass spectrometry?. Annals of laboratory medicine, 40(4), 285.
19. Junger, S., Hoene, M., Shipkova, M., Danzl, G., Schoeberl, C., Peter, A., ... & Braitmaier, H. (2023). Automated LC-MS/MS: ready for the clinical routine laboratory?. Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab, 30, 1-9
20. Yeung, P. S. W., Miller, P., Lai-Nyugen, T. B., Cheng, P., Ibrahim, A., Shi, R. Z., ... & Luo, R. Y. (2023). Mass spectrometry quantitation of immunosuppressive drugs in clinical specimens using online solid-phase extraction and accurate-mass full scan-single ion monitoring. Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab, 28, 99-104.
21. Vermeersch P, de Jonge R, Miyazawa T, Nybo M, Fruekilde P, Toole BJ, Metz P, Albrecht E, Slusarczyk K, Vogeser M, Fitzgerald RL. Comparison of six serum analyte workflows using routine liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods at multiple

laboratories with the Cobas i 601 analyzer, an automated mass spectrometry system. Clin Chem Lab Med. 2026 Jan 26. doi: 10.1515/cclm-2025-0994. Epub ahead of print. PMID: 41572906.

22. Taylor, A. E., Keevil, B., & Huhtaniemi, I. T. (2015). Mass spectrometry and immunoassay: how to measure steroid hormones today and tomorrow. European journal of endocrinology, 173(2), D1-D12.
23. Zendjabil, M., Chellouai, Z., & Abbou, O. (2016, February). Role of mass spectrometry in steroid assays. In Annales d'Endocrinologie (Vol. 77, No. 1, pp. 43-48). Elsevier Masson.

Dominio ECO
Costi e valutazione economica

Topic & Issue del dominio

Costi e valutazione economica (ECO)

Tabella 19 – *Topic & Issue* Costi e valutazione economica (ECO)

Topic	***Issue***	***Assessment element ID***
Utilizzo delle risorse	Quali sono stati i costi misurati e/o stimati della tecnologia valutata e dei suoi comparatori (valutazione dell'uso delle risorse)?	E0009
	In che modo la tecnologia modifica la necessità di altre tecnologie e l'uso delle risorse?	D0023
	Quali sono i probabili impatti sul *budget* derivanti dall'implementazione delle tecnologie messe a confronto?	G0007
Misurazione e stima degli esiti	Quali sono gli esiti correlati alla salute misurati e/o stimati della tecnologia valutata e dei suoi comparatori (identificazione, misurazione e valutazione degli esiti)?	E0005
Analisi dei costi e degli esiti	Quali sono le differenze stimate in termini di costi e risultati tra la tecnologia e i suoi comparatori?	E0006
Validità del modello economico	In che misura le stime dei costi, degli esiti o delle valutazioni economiche possono essere considerate una rappresentazione valida della tecnologia e del/dei relativo/i comparatore/i?	E0012

Introduzione

Il dominio economico (ECO) del presente report di HTA è finalizzato alla valutazione dei costi e del valore economico associati all'adozione di *cobas*® *Mass Spec Solution* per il TDM dei farmaci degli immunosoppressori nei pazienti sottoposti a trapianto renale ed epatico. L'analisi comparativa è stata condotta considerando come alternative tecnologiche di riferimento le metodiche immunometriche (CMIA, ECLIA, CLIA) e la MS tradizionale (LC-MS/MS manuale). La valutazione è stata sviluppata in conformità alla struttura metodologica dell'HTA *Core Model* EUnetHTA 3.0, adottando la prospettiva di un centro trapianti italiano ad alto volume e considerando un orizzonte temporale di cinque anni.

1. Utilizzo delle risorse

E0009 – Quali sono stati i costi misurati e/o stimati della tecnologia valutata e dei suoi comparatori (valutazione dell'uso delle risorse)?

Il modello economico ha strutturato l'analisi dei costi distinguendo due macro-componenti: (i) i costi diagnostici di laboratorio, comprensivi di test, noleggio della strumentazione, manutenzione e risorse umane, e (ii) i costi clinici associati alle complicanze post-trapianto. Con riferimento alla *cobas*® *Mass Spec Solution*, il costo totale annuale stimato per un laboratorio di riferimento con un volume di 50.000 test/anno è pari a € 975.015. Tale valore include un canone di noleggio annuo di € 130.000 (assunzione), costi di assistenza e manutenzione pari a € 95.000 e un costo per reagenti e consumabili di € 15 per test, corrispondente a € 750.000 su base annua. Il costo unitario per test, relativamente alla sola componente strumentale, è pari a € 19,50, cui si aggiunge un costo del personale tecnico stimato in € 6,40 per test, determinando un costo complessivo unitario di € 25,90. Per l'immunometria (piattaforme CMIA/ECLIA/CLIA), il modello ha stimato un costo per test di € 6,67 con un costo totale del personale pari a 6,40 (per un totale di 13,07 €). Il costo del noleggio dell'analizzatore immunometrico (*cobas*® *e 801*) è pari a € 35.000/anno, con assistenza di € 15.000/anno e un costo di reagenti di € 6,50 per test. Complessivamente, il costo per test immunometrico si attesta su valori significativamente inferiori rispetto alla piattaforma *cobas*® *Mass Spec*, riflettendo la minore complessità tecnologica e la maggiore diffusione di queste piattaforme nel mercato nazionale.

Per la MS tradizionale (LC-MS/MS manuale), il modello ha stimato un costo di noleggio di € 40.000/anno, un costo di assistenza di € 4.000/anno e un costo di reagenti di € 10 per test, per un totale annuale di € 144.010 su un volume di 10.000 test.

Il costo per test risultante è pari a € 14,40, a cui si aggiunge un costo del personale tecnico di € 16,00 per test (stimato sulla base di un tempo di esecuzione di 25 minuti per test, rispetto ai 10 minuti richiesti dalla piattaforma automatizzata *cobas*®), determinando un costo totale di € 30,40. Il differenziale di costo per test tra la piattaforma automatizzata *cobas*® e la LC-MS/MS tradizionale risulta pertanto favorevole a quest'ultima considerando esclusivamente il costo strumentale netto; tale relazione si inverte tuttavia quando si include il costo del personale, evidenziando come l'automazione del *workflow* analitico rappresenti un elemento determinante nella valutazione economica complessiva. Sebbene il *focus group* non abbia fornito una

quantificazione puntuale dei tempi operativi espressi in minuti per le diverse metodiche, gli esperti coinvolti hanno confermato la plausibilità e la validità del rapporto proporzionale di riduzione del tempo di esecuzione associato all'automazione del processo analitico. Tale validazione qualitativa supporta l'assunzione utilizzata nell'analisi economica, rafforzando la rilevanza del beneficio organizzativo derivante dall'impiego della piattaforma automatizzata. I costi delle complicanze cliniche sono stati stimati mediante un approccio di *microcosting* unitamente alla consultazione delle tariffe *Diagnosis Related Groups* (DRG) del SSN italiano. Tali costi sono stati assunti equivalenti tra le tecnologie considerate, mentre è stata modellata una diversa probabilità di insorgenza in funzione dell'accuratezza diagnostica di ciascun approccio. Infatti, nel modello descritto all'interno di questo dominio, è stata adottata l'assunzione secondo cui l'impiego della MS (LC-MS/MS e *cobas*® *Mass Spec*), grazie alla maggiore accuratezza analitica nel monitoraggio dei livelli plasmatici degli immunosoppressori, sia associato a una riduzione dell'incidenza di complicanze correlate alla terapia con immunosoppressori rispetto alle metodiche immunometriche. In particolare, tale beneficio è stato modellato in termini di riduzione del rischio di nefrotossicità, neurotossicità, infezioni opportunistiche e rigetto, in virtù di una più appropriata definizione dell'esposizione farmacologica e di una conseguente ottimizzazione della gestione terapeutica.

Per quanto concerne la valorizzazione in termini monetari, i costi unitari per evento includono: rigetto acuto nel trapianto di fegato (€ 8.361 per episodio) e di rene (€ 5.329); nefrotossicità da inibitori della calcineurina (€ 3.734; DRG 316); neurotossicità da CNI (€ 2.850; DRG 012); diabete post-trapianto (PTDM/NODAT: € 1.391; DRG 294); ipertensione de novo (€ 963); dislipidemia o sindrome metabolica (€ 3.195); infezioni opportunistiche (€ 5.744; DRG 079).

Infine, il numero di test annui per paziente trapiantato è stato definito in linea con i *pattern* di monitoraggio raccomandati dalle linee guida (alta frequenza nel primo anno, minore negli anni successivi): per il trapianto renale, 26 test nel primo anno e 5 test negli anni successivi; per il trapianto epatico, 28 test nel primo anno e 8 test negli anni successivi. Tali assunzioni sono state sottoposte a validazione nell'ambito del *focus group*, i cui partecipanti ne hanno confermato la coerenza con la pratica clinica corrente e con i percorsi di *follow-up* adottati nei centri trapiantologici italiani.

D0023 – In che modo la tecnologia modifica la necessità di altre tecnologie e l'uso delle risorse?

L'introduzione di *cobas*® *Mass Spec Solution* nei laboratori clinici di riferimento può determinare un impatto rilevante sull'utilizzo delle risorse, sia a livello diagnostico sia organizzativo. Per quanto concerne le risorse umane, l'elevato grado di automazione del *workflow* analitico, che include le fasi di preparazione del campione, analisi e refertazione, consente una significativa riduzione del tempo tecnico per test, stimata da circa 25 minuti nel caso della LC-MS/MS tradizionale a circa 10 minuti con la piattaforma automatizzata. Tale efficientamento si traduce in una riduzione del costo del personale da € 16,00 a € 6,40 per test. La riduzione, pari a circa il 60% del tempo tecnico attivo (*hands-on time*: da 25 a 10 minuti per test; il dato è riferito al tempo *hands-on* e non a *elapsed time* e *cycle time* complessivi), rappresenta un elemento strutturale del modello ed è attribuibile alla standardizzazione dei reagenti *ready-to-use*, all'eliminazione delle fasi manuali e

all'integrazione di sistemi di refertazione automatizzata. Questi fattori contribuiscono inoltre a ridurre la variabilità inter-operatore e il rischio di errori nelle fasi pre-analitiche. Il modello assume che l'adozione della LC-MS/MS in sostituzione dell'immunometria per il TDM dei farmaci dei pazienti sottoposti a trapianto di rene e di fegato produca una riduzione clinicamente significativa delle principali complicanze post-trapianto. Tale assunzione poggia sulla superiorità analitica documentata della LC-MS/MS rispetto agli immunodosaggi: questi ultimi sono soggetti a una cross-reattività nota che genera un *bias* sistematico dell'ordine del 20%, con il rischio di sovrastimare le concentrazioni reali del farmaco immunosoppressore e di indurre, di conseguenza, aggiustamenti posologici inappropriati (1, 2). Di fatto, una quantificazione più accurata delle concentrazioni minime pre-dose di tacrolimus e ciclosporina consente di mantenere l'esposizione entro la finestra terapeutica ottimale, riducendo sia i rischi legati alla sotto-esposizione (rigetto acuto, stimato in calo del 10%) sia quelli da sovra-esposizione cronica (nefrotossicità −15%, neurotossicità −12,5%, infezioni opportunistiche −7,5%). Tali percentuali rappresentano assunzioni di modello e non effetti comparativi direttamente osservati tra i metodi. Queste stime, conservative e coerenti con i dati osservazionali disponibili e le relazioni farmacocinetica/farmacodinamica (PK/PD) note (3-5), riflettono il principio secondo cui una misura più fedele della concentrazione ematica del farmaco, quale quella garantita dalla LC-MS/MS, migliora la correlazione esposizione–risposta e, in ultima analisi, l'appropriatezza dell'intero percorso terapeutico immunosoppressivo nei riceventi di trapianto renale ed epatico.

Il modello incorpora altresì un moltiplicatore di riduzione delle complicanze specifico per la MS automatizzata (*cobas*® *Mass Spec*) rispetto alla LC-MS/MS tradizionale (**Tabella 20**). Tale parametro non riflette un incremento della *performance* analitica intrinseca, essendo entrambe le tecnologie basate su LC-MS/MS, bensì i benefici organizzativi e clinici associati all'automazione del processo analitico. In particolare, la riduzione dei tempi di lavorazione e di refertazione consente una più tempestiva disponibilità dei risultati, favorendo un aggiustamento più rapido della terapia immunosoppressiva e una gestione più efficace delle concentrazioni farmacologiche. Questo aspetto può tradursi in una riduzione del rischio di eventi correlati a sotto- o sovra-esposizione ai farmaci immunosoppressori, con potenziali benefici sugli esiti clinici dei pazienti trapiantati. Le riduzioni incrementali considerate nel modello sono pari al 5% per il rigetto acuto e al 2,5% per la nefrotossicità, le infezioni opportunistiche e la neurotossicità. Tali assunzioni sono state presentate e discusse nell'ambito del *focus group* insieme alle evidenze scientifiche e ai parametri utilizzati per la costruzione del modello di *Budget Impact* (BI). Sebbene non sia stata effettuata una validazione quantitativa formale delle singole percentuali di riduzione, gli esperti coinvolti hanno ritenuto plausibile e coerente con la pratica clinica l'ipotesi di un beneficio incrementale associato all'impiego della MS automatizzata rispetto alla MS tradizionale, in aggiunta ai vantaggi già riconosciuti rispetto alle metodiche immunometriche. Tale consenso ha supportato l'inclusione nel modello di un moltiplicatore di riduzione delle complicanze volto a rappresentare i potenziali benefici derivanti dalla maggiore tempestività del processo analitico e dal conseguente più rapido adeguamento della terapia immunosoppressiva. Nonostante ciò, in assenza di studi randomizzati controllati che confrontino direttamente *cobas*® e LC-MS/MS manuale rispetto agli *outcome* clinici, tale parametro deve essere interpretato come un'assunzione modellistica conservativa, basata su evidenze osservazionali e plausibilità biologica.

Tabella 20 – Percentuale di riduzione delle complicanze LC-MS/MS vs immunometria e *cobas*®

Riduzione complicanze LC-MS/MS rispetto a immunometria

Complicanza	Riduzione stimata con LC-MS/MS	Riferimento bibliografico
Rigetto acuto	10,00%	(1)-XX.
Nefrotossicità	15,00%	(2)
Infezioni opp.	7,50%	(4)
Neurotossicità	12,50%	(2)

Moltiplicatore riduzione complicanze cobas® Mass Spec rispetto a immunometria

Complicanza	Riduzione stimata con LC-MS/MS	Riferimento bibliografico
Rigetto acuto	15,00%	*Bias* 20% → ~10% pazienti meglio gestiti; piccoli studi osservazionali mostrano trend positivi. (3, 6)
Nefrotossicità	17,50%	(7, 8) Johnston A, Holt DW. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs. Br J Clin Pharmacol. 1999 Apr;47(4):339-50. doi: 10.1046/j.1365-2125.1999.00911.x. PMID: 10233195; PMCID: PMC2014241. Morris RG. Cyclosporin therapeutic drug monitoring--an established service revisited. Clin Biochem Rev. 2003 May;24(2):33-46. PMID: 18568053; PMCID: PMC1855625.
Infezioni opp.	10,00%	Assunzione conservativa (5)
Neurotossicità	15,00%	(5)

Nonostante l'assenza di RCT diretti, la superiorità analitica di LC-MS/MS (bias 20% vs immunoassay) si traduce in una migliore correlazione esposizione–risposta, con stime conservative di riduzione del 5–15% nel rischio di rigetto acuto e 10–20% per nefrotossicità, basate su confronti osservazionali e relazioni PK/PD note.

Rispetto alla MS tradizionale, l'LC MS/MS automatizzata mantiene prestazioni analitiche sovrapponibili (bias e CV <10% rispetto ai metodi LC MS/MS di riferimento) ma, grazie all'estrazione e al trattamento campione standardizzati, riduce la variabilità inter operatore e il rischio di errore pre analitico, fornendo quindi una base plausibile per un ulteriore, seppur modesto, incremento dell'appropriatezza del TDM e della conseguente riduzione delle complicanze cliniche.

Dal punto di vista dell'utilizzo delle risorse sanitarie, il modello stima che l'adozione di *cobas*® *Mass Spec Solution*, attraverso un miglioramento dell'accuratezza del TDM, sia associata a una riduzione degli eventi clinici avversi e, conseguentemente, del fabbisogno di ricoveri e accessi ambulatoriali per la loro gestione. Nel confronto tra *cobas*® *Mass Spec* e metodiche immunometriche, su un orizzonte temporale di cinque anni e in una coorte ipotetica di 200 pazienti (100 trapianti epatici e 100 renali), si stimano complessivamente 267 complicanze evitate, di cui 28 episodi di rigetto, 85 casi di nefrotossicità, 56 di neurotossicità e 98 infezioni opportunistiche. Nel confronto con la LC-MS/MS tradizionale, le complicanze evitate sono stimate

in 55 casi complessivi, coerentemente con l'ipotesi esplorativa di un beneficio incrementale associato all'automazione rispetto a una tecnologia analiticamente equivalente. Tale incremento non deriva da evidenze comparative dirette e, per evitare un possibile *double-counting* rispetto ai benefici già attribuiti alla LC-MS/MS, va interpretato come assunzione non validata, da trattare come scenario esplorativo.

D0023 – Quali sono i probabili impatti sul budget derivanti dall'implementazione delle tecnologie messe a confronto?

1. Razionale del modello economico

Il presente modello di *Budget Impact Analysis* (BIA) (**Tabella 21**), sviluppato da ALTEMS Advisory (spin-off dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma), ha l'obiettivo di stimare l'impatto economico complessivo per un centro trapiantologico ad alto volume italiano derivante dall'introduzione di *cobas*® *Mass Spec Solution* (piattaforma *cobas*® *i 601*, Roche Diagnostics) nei laboratori clinici *hub* dedicati alla gestione dei pazienti sottoposti a trapianto d'organo. Il modello è strutturato in due moduli complementari: (i) un modulo diagnostico, volto a quantificare i costi del TDM dei farmaci nelle sue diverse componenti (strumentazione, reagenti e personale), e (ii) un modulo clinico, finalizzato a stimare l'impatto della qualità analitica del metodo TDM sull'incidenza delle complicanze post-trapianto dose-dipendenti.

Il razionale clinico-economico alla base del modello si fonda su una relazione causale ampiamente descritta in letteratura nell'ambito della farmacologia clinica e della medicina dei trapianti: la qualità analitica del metodo utilizzato per il TDM degli immunosoppressori, in particolare tacrolimus e ciclosporina (inibitori della calcineurina, CNI), condiziona la precisione delle decisioni terapeutiche. Una maggiore accuratezza nella determinazione dei livelli plasmatici consente di ridurre sia l'esposizione sub-terapeutica, associata a un aumentato rischio di rigetto, sia l'esposizione sovra-terapeutica, correlata a tossicità d'organo, infezioni opportunistiche e complicanze metaboliche. La conseguente riduzione degli eventi avversi è associata a potenziali risparmi per il SSN, in grado di compensare il maggiore costo unitario del test di laboratorio. Nel contesto attuale, le metodiche immunometriche rappresentano lo standard di riferimento nella maggior parte dei centri trapiantiantologici italiani; tuttavia, tali metodiche sono caratterizzate da un *bias* analitico sistematico dovuto a fenomeni di cross-reattività con i metaboliti del farmaco, particolarmente rilevante per il tacrolimus, con sovrastime documentate fino al 20% rispetto ai metodi basati su LC-MS/MS (1,2). Tale limitazione può tradursi in decisioni terapeutiche subottimali, inclusi fenomeni di sottodosaggio iatrogeno e mancato riconoscimento di condizioni di sovra-esposizione, con conseguente incremento del rischio di complicanze cliniche per i pazienti. La MS consente di superare tali criticità, garantendo una determinazione specifica e accurata del farmaco parentale e una maggiore specificità analitica.

L'introduzione di piattaforme automatizzate di LC-MS/MS, quali *cobas*® *Mass Spec Solution*, consente inoltre di ottenere ulteriori benefici rispetto alla MS tradizionale (manuale o semi-automatica), grazie alla standardizzazione del processo pre-analitico, alla riduzione della variabilità inter-operatore e all'automazione delle fasi di elaborazione e refertazione del risultato. Tali elementi contribuiscono a migliorare l'appropriatezza complessiva del TDM e giustificano l'inclusione nel modello di un ulteriore effetto incrementale in termini di riduzione delle

complicanze, sebbene basato su un approccio prudenziale. Le principali assunzioni del modello sono state validate attraverso un *Advisory Board* ed un *focus group* multidisciplinare composto da farmacologi clinici esperti di medicina di laboratorio ed ingegneri clinici.

Tabella 21 – Caratteristiche strutturali del modello economico

Caratteristica	Descrizione
Tipo di analisi	*Budget Impact Analysis* (BIA) – modello di coorte
Prospettiva	Centro trapiantologico ad alto volume
Orizzonte temporale	5 anni (output annuale e cumulativo)
Intervento	*cobas® Mass Spec Solution – cobas® i 601* (Roche Diagnostics) per il TDM degli immunosoppressori
Comparatore 1	Immunometria CMIA/ECLIA/CLIA – **e801 o e411**
Comparatore 2	LC-MS/MS tradizionale (preparazione manuale o semi-automatica del campione)
Moduli del modello	(1) Modulo diagnostico: costi del test, noleggio, personale; (2) Modulo clinico: rigetto, nefrotossicità, neurotossicità, PTDM, ipertensione, dislipidemia, infezioni opp., neoplasie
Costi inclusi	Test di laboratorio, noleggio/manutenzione strumentazione, personale tecnico di laboratorio, ricoveri per rigetto e complicanze, ritrapianto
Costi esclusi	Costi indiretti (perdita di produttività), *caregiving* informale, costi di implementazione organizzativa
Valuta / anno base	Euro (€), anno di riferimento 2025

2. Popolazione target e volume di attività

La coorte modellizzata è composta da pazienti sottoposti a trapianto di organo solido, specificatamente rene e fegato, che necessitano di monitoraggio terapeutico cronico degli immunosoppressori. La dimensione della coorte è stata fissata a 100 pazienti/anno per ciascun tipo di trapianto (totale: 200 pazienti all'Anno 1).

Il numero di determinazioni per il TDM per paziente è stato definito sulla base delle raccomandazioni per il monitoraggio degli immunosoppressori (9). 26 nel primo anno e 5 negli anni successivi per il trapianto renale; 28 nel primo anno e 8 negli anni successivi per il trapianto epatico. Questa differenziazione riflette la maggiore intensità del monitoraggio nel periodo critico immediatamente post-trapianto, quando il rischio di rigetto acuto è massimo e il profilo farmacocinetico è ancora in fase di stabilizzazione, rispetto al mantenimento negli anni successivi.

Il modello adotta una struttura di coorte cumulativa, in cui i pazienti trapiantati in ciascun anno si aggiungono alla coorte esistente (coorte aperta per anno, chiusa nella stima quinquennale): nell'ultimo anno dell'orizzonte temporale considerato, la coorte comprende quindi 5 coorti annuali di 200 pazienti, per un totale di 1.000 pazienti complessivamente arruolati nel quinquennio (corrispondenti, in assenza di *attrition*, a circa 3.000 pazienti-anni di osservazione);

il valore di 1.000 pazienti costituisce il denominatore adottato per il calcolo del costo per paziente, mentre la rappresentatività del centro, la permanenza in *follow-up* (al netto di mortalità e *graft loss*) e la frequenza dei test per anno sono assunte sulla base della pratica dei centri ad alto volume e validate in *focus group* (**Tabella 22**).

Tabella 22 – Parametri di popolazione, volume di attività e fonti

Parametro	Valore	Riferimento bibliografico
Trapianti di rene (anno)	100	Assunzione
Trapianti di fegato (anno)	100	Assunzione
Totale pazienti in coorte (*Year 1*)	200	–
Test TDM/paziente – Anno 1 (rene)	26	Linee guida internazionali TDM post-trapianto renale
Test TDM/paziente – Anni 2–5 (rene)	5	Linee guida internazionali TDM post-trapianto renale
Test TDM/paziente – Anno 1 (fegato)	28	Linee guida internazionali TDM post-trapianto epatico
Test TDM/paziente – Anni 2–5 (fegato)	8	Linee guida internazionali TDM post-trapianto epatico

3. *Data input*: tassi di incidenza delle complicanze

I tassi di incidenza delle complicanze post-trapianto nella coorte di controllo sono stati stimati sulla base di una revisione della letteratura scientifica *peer-reviewed*, privilegiando studi osservazionali prospettici e retrospettivi di coorte con adeguata numerosità campionaria. Per ciascuna complicanza è stata individuata la fonte primaria più robusta disponibile. Le **Tabelle 23 e 24** riportano, rispettivamente per trapianto di fegato e di rene, i valori di incidenza utilizzati nel modello con le relative fonti.

Tabella 23 – Incidenza complicanze nel trapianto di fegato (*baseline* immunometria)

Complicanza	Incidenza (%)	Riferimento bibliografico
Rigetto acuto	20,0%	(10)
Nefrotossicità CNI (severa)	15,0%	(11, 12)
Neurotossicità CNI	15,0%	(13)
PTDM – nuovo diabete post-trapianto	22,5%	(14, 15)
Ipertensione de novo	58,5%	(16)
Dislipidemia / Sindrome metabolica	45,0%	(15)
Infezioni opportunistiche	30,0%	(17)

Neoplasie de novo (stima 5 anni)	12,5%	(18)

Tabella 24 – Incidenza complicanze nel trapianto di rene (*baseline* immunometria)

Complicanza	Incidenza (%)	Riferimento bibliografico
Rigetto acuto	16,8%	(19)
Nefrotossicità TAC (confermata da biopsia)	17,5%	(20)
Neurotossicità CNI	10,0%	(21)
PTDM / NODAT	15,0%	(22)
Ipertensione de novo	65,0%	(21)
Dislipidemia	45,0%	(5)
Infezioni opportunistiche	35,0%	(17)
Neoplasie de novo (stima 5 anni)	3,5%	(21)

Le riduzioni del rischio di complicanza attribuibili all'adozione della LC-MS/MS rispetto all'immunometria, e il moltiplicatore incrementale per *cobas*® *Mass Spec* rispetto alla LC-MS/MS tradizionale, sono riepilogati nella **Tabella 25**. Il razionale clinico-metodologico di tali assunzioni è il seguente:

- **Rigetto acuto**: la cross-reattività degli immunodosaggi con i metaboliti del tacrolimus (15-O-desmetil-tacrolimus e altri) induce una sovrastima sistematica del farmaco attivo, con possibile sotto-dosaggio iatrogeno. LC-MS/MS, misurando esclusivamente il farmaco parentale, corregge questo *bias* e consente un migliore mantenimento dei livelli target, con una stima conservativa di riduzione del rischio di rigetto del 10% (vs. immunometria). La piattaforma automatizzata *cobas*® *Mass* Spec aggiunge un ulteriore 5% di riduzione rispetto alla LC-MS/MS tradizionale, grazie alla standardizzazione pre-analitica ed ai minori tempi di refertazione imputabili dall'automazione.
- **Nefrotossicità CNI**: la sovra-esposizione cronica ai CNI (tacrolimus, ciclosporina) provoca vasocostrizione dell'arteriola afferente e fibrosi interstiziale progressiva. Un TDM più accurato permette di definire la soglia tossica individuale e di adottare strategie di *CNI-sparing* in modo più sicuro. La riduzione stimata è del 15% con LC-MS/MS vs. immunometria, e del 17,5% (+2,5%) con l'automazione.
- **Infezioni opportunistiche**: l'eccesso di immunosoppressione globale (livelli di CNI costantemente alti) aumenta il rischio di infezioni da CMV, EBV, BKV, *Aspergillus*. Un TDM più preciso consente una modulazione più fine dell'immunosoppressione, riducendo i periodi di sovra-esposizione senza aumentare il rischio di rigetto. La riduzione stimata è conservativa: 7,5% con LC-MS/MS vs. immunometria, 10% (+2,5%) con *cobas*® *Mass Spec*.

- **Neurotossicità CNI**: correlata ai picchi plasmatici di CNI (Cmax), la neurotossicità (tremore, cefalea, encefalopatia) beneficia di una migliore definizione del profilo di esposizione. La riduzione stimata è del 12,5% con LC-MS/MS e del 15% (+2,5%) con l'automazione.

Tabella 25 – Riduzioni delle complicanze: assunzioni del modello

Complicanza	Riduzione LC-MS/MS vs. Immunometria	Moltiplicatore cobas ® automated vs. LC-MS/MS*	Riferimento bibliografico
Rigetto acuto	10%	15%	(1,3,6)
Nefrotossicità	15%	17,5%	(2,7,8)
Infezioni opportunistiche	7,5%	10%	(4) – assunzione conservativa: migliore bilanciamento esposizione – riduzione picchi di over-immunosoppressione
Neurotossicità	12,5%	15%	(2,5)

**Il moltiplicatore applicato per stimare il differenziale tra piattaforme cobas® automatizzate e LC-MS/MS rappresenta un'assunzione modellistica, introdotta per riflettere il potenziale incremento di accuratezza analitica e il conseguente impatto clinico nella pratica reale. Tale parametro non deriva da una singola evidenza empirica diretta, ma da una sintesi ragionata delle evidenze disponibili in letteratura e dell'esperienza clinico-laboratoristica riportata negli studi di riferimento. L'entità del moltiplicatore è stata oggetto di discussione e validazione nell'ambito di un Advisory Board multidisciplinare, composto da esperti clinici e di laboratorio, che ne ha confermato la plausibilità e la coerenza rispetto al contesto applicativo e agli outcome considerati.*

4. *Input* di costo: noleggio *cobas*® *Mass Spec*, spettrometria di massa e immunometria

I costi della strumentazione diagnostica (**Tabella 26**) sono stati valorizzati con un approccio di *full-costing* che comprende quattro componenti: (1) il canone di noleggio annuale dello strumento, (2) i costi di assistenza tecnica e manutenzione, (3) il costo dei reagenti e dei consumabili per test, (4) il costo del personale tecnico di laboratorio. Il costo del personale è stato calcolato sulla base del salario orario lordo medio di un tecnico di laboratorio in Italia, moltiplicato per il tempo medio richiesto per l'esecuzione di un singolo test: 10 minuti per *cobas*® *Mass Spec* e per le piattaforme immunometriche automatizzate (flusso completamente automatizzato), 25 minuti per la LC-MS/MS tradizionale (preparazione campione semi-manuale).

Il differenziale di costo per test tra *cobas*® *Mass Spec* (€25,90/test) e la LC-MS/MS tradizionale (€30,40/test) è di −€4,50/test a favore di *cobas*® *Mass Spec*, grazie principalmente alla riduzione sul costo del personale (−€9,60/test) che compensa il differenziale di costo strumentale (+€5,10/test). Nel confronto con l'immunometria, *cobas*® *Mass Spec* ha un costo superiore di +€12,83/test (€25,90 vs. €13,07 per cobas e801), differenziale che deve essere valutato nel contesto del maggior valore clinico della tecnologia. Si evidenzia inoltre che i volumi di test annui di riferimento non sono omogenei tra le piattaforme (50.000 per *cobas*® *Mass Spec*, 10.000 per LC-MS/MS, 300.000 per e801, 100.000 per e411): poiché i costi fissi di noleggio e manutenzione sono ripartiti su tali volumi, il costo per test non è direttamente comparabile tra piattaforme con capacità utilizzata e portfolio analitico differenti e va interpretato con cautela.

Tabella 26 – Confronto dei costi di strumentazione per piattaforma diagnostica

Voce di costo	*cobas® Mass Spec* (Roche i 601)	LC-MS/MS tradizionale	*cobas e801* (immunometria)	*cobas e411* (immunometria)
Noleggio annuale (€)	130.000	40.000	35.000	20.000
Assistenza / manutenzione (€/anno)	95.000	4.000	15.000	10.000
Costo fisso annuale totale (€)	225.000	44.000	50.000	30.000
Reagenti + consumabili (€/test)	15,00	10,00	6,50	7,50
Volume test annuale di riferimento	50.000	10.000	300.000	100.000
Costo reagenti/consumabili totali (€/anno)	750.000	100.000	1.950.000	750.000
Costo totale annuale (€)	975.015	144.010	2.000.007	780.008
Costo strumentale per test (€)	19,50	14,40	6,67	7,80
N° tecnici di laboratorio	2	2	2	2
Tempo medio per test (min)	10	25	10	10
Costo personale per test (€)	6,40	16,00	6,40	6,40
COSTO TOTALE PER TEST (incluso personale)	**€ 25,90**	**€ 30,40**	**€ 13,07**	**€ 14,20**

Il modello adotta la modalità di noleggio operativo (non è previsto l'acquisto), con canoni annuali fissi inclusivi di copertura *full-service*. Questa struttura contrattuale garantisce la prevedibilità dei costi e la copertura delle spese di manutenzione straordinaria, eliminando il rischio di costi imprevisti legati a guasti o aggiornamenti tecnologici.

5. Costo del rigetto acuto e del ritrapianto (*microcosting* SSN)

Il costo per episodio di rigetto acuto è stato calcolato attraverso un *microcosting* dettagliato che integra le tariffe DRG del SSN italiano con i costi delle specifiche procedure e farmaci necessari. La struttura del costo per rigetto comprende: (a) il trattamento farmacologico dell'episodio acuto (terapia steroidea standard nel 90% dei casi, globulina anti-timociti (ATG) per i casi *steroid*-resistenti nel 10% dei casi – classificati Banff II o superiori); (b) l'ospedalizzazione media valorizzata con il DRG di riferimento (DRG 480 - Trapianto di fegato e/o trapianto d'intestino , DRG 302 - Trapianto di rene e pancreas); (c) il *follow-up* intensificato nei 3 mesi successivi al rigetto (TDM intensivo, biopsie, ecografie); (d) il rischio di perdita dell'organo (*graft loss*) che richiede ritrapianto (stimato nel 5.6% dei rigetti per fegato e nel 4.5% per rene, in accordo con i dati di letteratura).

Il costo del ritrapianto, valorizzato secondo le tariffe SSN, è la componente di gran lunga più rilevante del costo per episodio di rigetto: €62.648 per il fegato e €33.162 per il rene. Questa asimmetria riflette la maggiore complessità chirurgica e il maggiore impegno di risorse del ritrapianto epatico rispetto a quello renale. Il costo medio ponderato per episodio di rigetto risultante è di €8.361 per il trapianto di fegato e €5.329 per il trapianto di rene.

Tabella 27 – *Microcosting* del rigetto acuto e del ritrapianto (prospettiva SSN italiano)

Componente di costo	Trapianto fegato (€)	Trapianto rene (€)	DRG / Note
Terapia antirigetto di I linea (steroidi)	10,00	10,00	90% dei casi – steroidi standard
Steroidi bolus (metilprednisolone × 3)	9,79	9,70	Bolus endovena × 3 somministrazioni
ATG per rigetto *steroid*-resistente (10% casi)	659,00	659,00	10% dei casi – Banff II+
Ospedalizzazione media (DRG)	3.760,00	3.734,00	DRG 480 (fegato) / DRG 302 (rene)
***Follow-up* 3 mesi post-rigetto (TDM intensivo + biopsie)**	17,90	17,90	Visite + esami laboratorio
Rischio *graft loss* (emodialisi ponte per rene; 5.6% fegato, 4.5% rene)	3.508,00	1.492,00	SSN – DRG trapianto / emodialisi
COSTO MEDIO PONDERATO PER EPISODIO DI RIGETTO	**€ 8.360**	**€ 5.329**	Ponderato su % *graft loss* e ATG

6. Costo delle complicanze cliniche post-trapianto

I costi delle complicanze cliniche (diverse dal rigetto) sono stati valorizzati attraverso un *microcosting* che considera sia il costo dell'episodio acuto (DRG SSN) sia, ove applicabile, il costo della gestione cronica (farmaci di mantenimento, visite specialistiche, esami di laboratorio). La **Tabella 28** riporta il costo medio per episodio acuto per ciascuna complicanza considerata nel modello, con il riferimento tariffario DRG utilizzato e le principali voci di *microcosting* incluse.

Le complicanze metaboliche e cardiovascolari (PTDM, ipertensione, dislipidemia) presentano un costo per episodio relativamente contenuto a livello DRG (DRG 294 – Diabete, età > 35 anni, DRG 134 – Ipertensione, DRG 204 – Malattie del pancreas, eccetto neoplasie maligne), ma il loro impatto sul *budget* SSN è amplificato dalla loro elevata incidenza nella popolazione trapiantata, in particolare nel trapianto di fegato (ipertensione 58,5%, dislipidemia 45%) e di rene (ipertensione 65%, dislipidemia 45%). Le infezioni opportunistiche e la dislipidemia/sindrome metabolica rappresentano, nel modello, le voci di costo delle complicanze con il maggiore contributo al totale, date la combinazione di incidenza elevata e costo DRG significativo. Va inoltre precisato che la riduzione del rischio attribuita alla tecnologia è applicata alle sole complicanze meccanicisticamente correlate all'esposizione ai CNI e quindi modificabili dall'accuratezza del TDM (rigetto acuto, nefrotossicità, neurotossicità e infezioni opportunistiche). Le complicanze metaboliche e cardiovascolari (PTDM/NODAT, ipertensione, dislipidemia/sindrome metabolica) e

le neoplasie de novo, di eziologia multifattoriale e non direttamente dipendente dalla precisione analitica del monitoraggio, sono incluse nel modello come costi e incidenze *baseline* ma, in via prudenziale, non ricevono alcuna riduzione associata alla tecnologia.

Tabella 28 – Costo per episodio delle complicanze post-trapianto: *microcosting* DRG SSN italiano

Complicanza	Costo episodio acuto medio (€)	Tariffa DRG SSN / *Microcosting*
Rigetto acuto – trapianto fegato	8.360	DRG 480 + ritrapianto (5,6% graft loss) ponderato – include ATG 10%
Rigetto acuto – trapianto rene	5.329	DRG 302 + ritrapianto (4,5% graft loss) + emodialisi ponte – ponderato
Nefrotossicità CNI severa (fegato e rene)	3.734	DRG 316 – Insufficienza renale acuta; include biopsia + eco colordoppler
Neurotossicità CNI (fegato e rene)	2.850	DRG 012 – Malattie degenerative SNC; include RMN encefalo + EEG
PTDM / NODAT (fegato e rene)	1.391	DRG 294 – Diabete mellito; include HbA1c + visita diabetologica + OGTT
Ipertensione de novo (fegato e rene)	963	DRG 134 – Ipertensione; include holter pressorio 24h + ECG
Dislipidemia / Sindrome metabolica (fegato e rene)	3.195	DRG 204; include profilo lipidico + visita nutrizionistica + cardiologica
Infezioni opportunistiche (fegato e rene)	5.744	DRG 079 – Infezioni resp. e altri org.; include CMV/EBV/BKV + visita infettivologica
Neoplasie de novo (stima 5 anni)	1.792	DRG 410; costo medio ponderato su tipologia neoplastica

7. Risultati della *Budget Impact Analysis*

I risultati del modello dimostrano con robustezza che l'adozione della *cobas*® *Mass Spec Solution* genera un risparmio netto per il SSN in entrambi i confronti analizzati. La **Tabella 29** riassume i risultati di sintesi della BIA sull'orizzonte temporale di 5 anni per la coorte di riferimento di 200 pazienti/anno.

Tabella 29 – Risultati di sintesi BIA (cumulato 5 anni, coorte 1.000 pazienti/anno)

Metrica	AS IS (Immunometria)	TO BE (*cobas*® *Mass Spec*)	Δ	AS IS (LC-MS/MS)	TO BE (*cobas*® *Mass Spec*)	Δ
	***cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria**			***cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS trad.**		
Costo totale cumulato 5 anni (€)	€ 17.605.578	€ 16.887.457	-€ 718.122	€ 17.368.412	€ 16.887.457	-€ 480.955
Costo per paziente – cumulato 5 anni (€)	€ 17.606	€ 16.887	-€ 718	€ 17.368	€ 16.887	-€ 481
Budget Impact cumulativo 5 anni (€)		**(€ 718.122)**			**(€ 480.955)**	
Complicanze evitate cumulato 5 anni (n.)		**267**			**55**	

Nel confronto *cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria: il costo totale per il centro trapiantologico ad alto volume si riduce da €17.605.578 (AS IS, immunometria) a €16.887.456 (TO BE, *cobas*® *Mass Spec*), con un risparmio cumulato di €718.122 in cinque anni. Il risparmio pro-capite è pari a €718 per paziente sul quinquennio.

Nel confronto *cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale: il risparmio cumulato è di €480.955, pari a €481 per paziente sul quinquennio. Il minor risparmio assoluto rispetto al confronto con l'immunometria riflette il più limitato margine di miglioramento clinico dell'automazione rispetto alla MS convenzionale, che già garantisce elevata specificità analitica (**Tabella 30**). Tuttavia, il beneficio economico rimane rilevante e riflette il valore aggiunto non solo dell'automazione del flusso pre-analitico, ma più in generale dell'integrazione tecnologica lungo l'intero processo analitico (inclusi standardizzazione, riduzione della variabilità operatore-dipendente e maggiore robustezza operativa), in linea con quanto descritto nel dominio TEC del presente report.

Tabella 30 – *Budget Impact* annuale e cumulativo per scenario (costi in €)

Scenario	Anno 1	Anno 2	Anno 3	Anno 4	Anno 5	Cumulato
***cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria – Costi totali (€)**						
AS IS	€ 1.380.582	€ 2.450.849	€ 3.521.116	€ 4.591.382	€ 5.661.649	€ 17.605.578
TO BE (*cobas*®)	€ 1.342.112	€ 2.359.802	€ 3.377.491	€ 4.395.181	€ 5.412.871	€ 16.887.457
Budget Impact	**(€ 38.470)**	**(€ 91.047)**	**(€ 143.624)**	**(€ 196.201)**	**(€ 248.778)**	**(€ 718.122)**
***cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale – Costi totali (€)**						
AS IS	€ 1.395.035	€ 2.434.359	€ 3.473.682	€ 4.513.006	€ 5.552.329	€ 17.368.412
TO BE (*cobas*®)	€ 1.342.112	€ 2.359.802	€ 3.377.491	€ 4.395.181	€ 5.412.871	€ 16.887.457
Budget Impact	**(€ 52.924)**	**(€ 74.557)**	**(€ 96.191)**	**(€ 117.825)**	**(€ 139.458)**	**(€ 480.955)**

Figura 12 – Costo totale cumulato (€) per anno: confronto AS IS vs TO BE nei due scenari

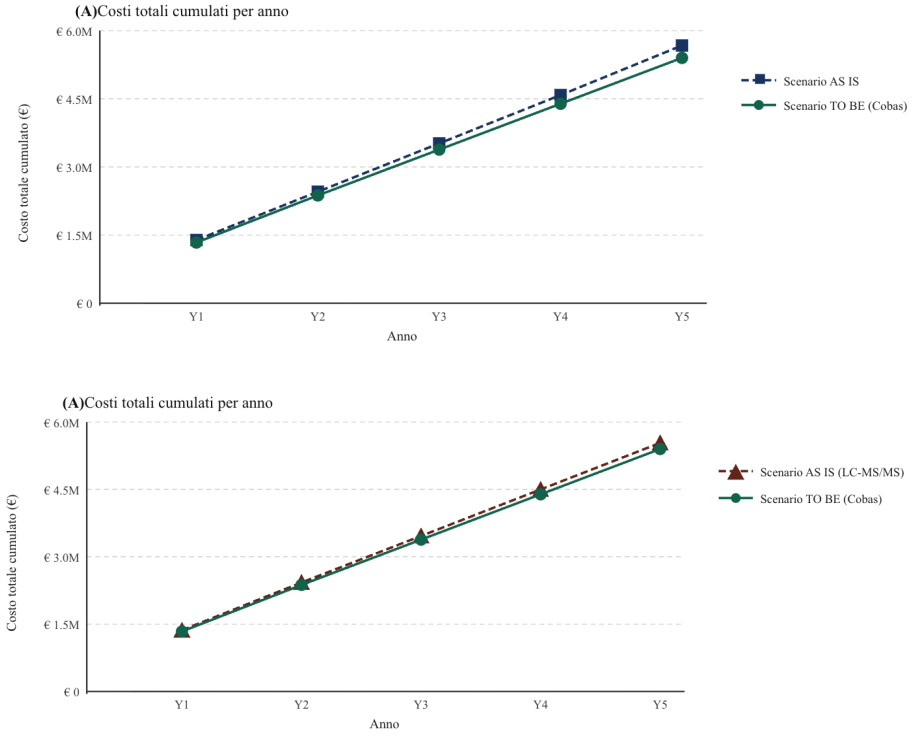


Figura 13 – *Budget Impact* annuale per il SSN (€): risparmio crescente nel tempo per entrambi i confronti scenariali

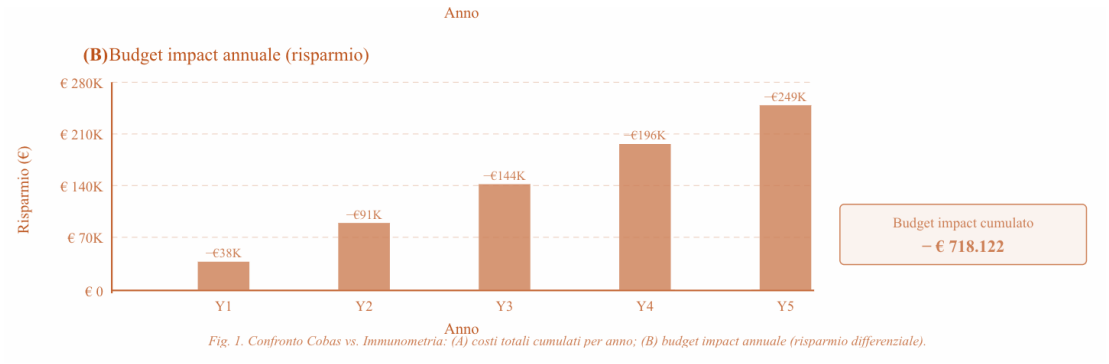


Fig. 1. Confronto Cobas vs. Immunometria: (A) costi totali cumulati per anno; (B) budget impact annuale (risparmio differenziale).

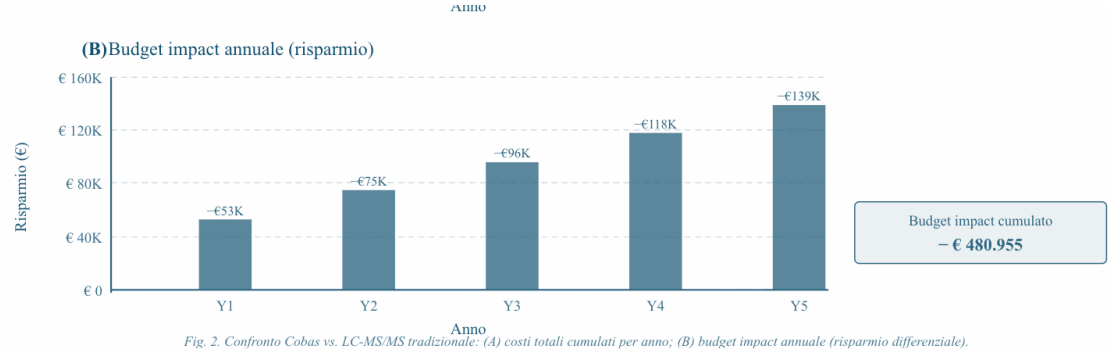


Fig. 2. Confronto Cobas vs. LC-MS/MS tradizionale: (A) costi totali cumulati per anno; (B) budget impact annuale (risparmio differenziale).

Il *trend* di risparmio crescente nel tempo (da €38.470 nell'Anno 1 a €248.778 nell'Anno 5 per *cobas*® vs. immunometria) è determinato dall'accumulo progressivo delle complicanze evitate nella coorte che si espande anno dopo anno. Questo andamento riflette la natura dinamica dei benefici clinici dell'ottimizzazione del TDM: le complicanze croniche (nefrotossicità progressiva, dislipidemia, ipertensione) si manifestano con un ritardo rispetto all'inizio del trattamento, e la loro riduzione genera risparmi che si materializzano pienamente solo nel medio-lungo termine.

7a. Analisi del costo per paziente per anno

L'analisi del costo medio per paziente per anno evidenzia una dinamica decrescente nei primi anni di osservazione, determinata dall'effetto diluitivo dell'allargamento della coorte (nuovi pazienti aggiunti ogni anno) e dalla riduzione della frequenza del TDM negli anni 2-5 (meno test per paziente rispetto al primo anno post-trapianto). La **Tabella 31** riporta il dettaglio annuale per entrambi i confronti.

Tabella 31 – Costo medio per paziente per anno: AS IS vs TO BE (€/paziente/anno)

Scenario	Anno 1	Anno 2	Anno 3	Anno 4	Anno 5
***cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria – Costo/paziente (€/anno)**					
AS IS (Immunometria)	€ 6.903	€ 6.127	€ 5.869	€ 5.739	€ 5.662
TO BE (*cobas*® *Mass Spec*)	€ 6.711	€ 5.900	€ 5.629	€ 5.494	€ 5.413
Risparmio/paziente	**(€ 192)**	**(€ 228)**	**(€ 239)**	**(€ 245)**	**(€ 249)**
***cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS trad. – Costo/paziente (€/anno**					
AS IS (LC-MS/MS trad.)	€ 6.975	€ 6.086	€ 5.789	€ 5.641	€ 5.552
TO BE (*cobas*® *Mass Spec*)	€ 6.711	€ 5.900	€ 5.629	€ 5.494	€ 5.413
Risparmio/paziente	**(€ 265)**	**(€ 186)**	**(€ 160)**	**(€ 147)**	**(€ 139)**

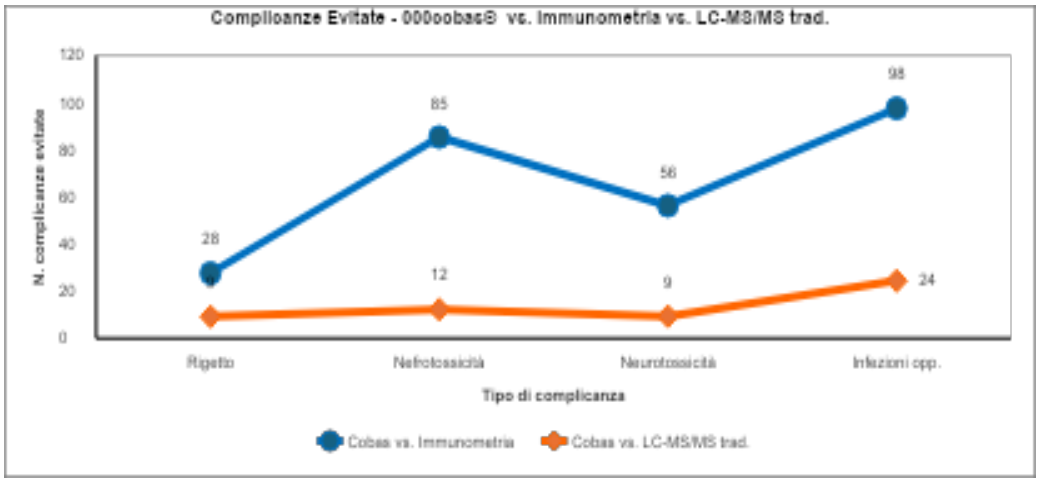
8. Complicanze cliniche evitate: dettaglio per tipologia e organo

L'adozione di *cobas*® *Mass Spec Solution* consente di evitare complessivamente 267 complicanze in 5 anni nel confronto con l'immunometria (200 pazienti/anno × 5 anni), e 55 complicanze nel confronto con la LC-MS/MS tradizionale. La **Tabella 32** dettaglia il numero di complicanze evitate per tipologia e per organo trapiantato.

Tabella 32 – Complicanze evitate per tipologia e organo trapiantato (cumulato 5 anni, n. casi)

Complicanza	Fegato vs IM	Rene vs IM	Totale vs IM	Fegato vs LC-MS	Rene vs LC-MS	Totale vs LC-MS
Rigetto acuto	15	13	28	5	4	9
Nefrotossicità	39	46	85	6	7	12
Neurotossicità	34	23	56	6	4	9
Infezioni opportunistiche	45	53	98	11	13	24
TOTALE	**133**	**134**	**267**	**28**	**28**	**55**

Figura 14 – Complicanze evitate per categoria (n. casi cumulati 5 anni): *cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria vs. LC-MS/MS tradizionale



Nel confronto vs. immunometria, le infezioni opportunistiche rappresentano la categoria con il maggior numero di complicanze evitate (n=45), seguite dalla nefrotossicità (n=39), dalla neurotossicità (n=34) e dal rigetto acuto (n=15). Il numero elevato di infezioni evitate è spiegato dalla combinazione di un'incidenza baseline elevata (30% nei trapiantati di fegato, 35% nei trapiantati di rene) con una riduzione percentuale stimata del 7,5% (vs. immunometria) e del 10% (+2,5%) con l'automazione.

Il rigetto acuto, pur avendo un basso numero assoluto di casi evitati (28 su 5 anni), rappresenta la complicanza più costosa per episodio (€8.360 per fegato, €5.329 per rene), e il suo contributo al risparmio totale è quindi sproporzionato rispetto al numero di casi: evitare 15 episodi di rigetto epatico genera un risparmio di circa €125.400, pari a oltre il 35% del risparmio totale nei costi delle complicanze nel confronto vs. immunometria.

9. Analisi di sensibilità deterministica (DSA) – Robustezza dei risultati

La robustezza dei risultati del modello è stata testata attraverso un'Analisi di Sensibilità Deterministica (DSA) univariata, che varia ciascun parametro del modello del ±20% rispetto al valore del caso base, mantenendo costanti tutti gli altri parametri. La DSA è stata condotta separatamente per i due confronti scenariali.

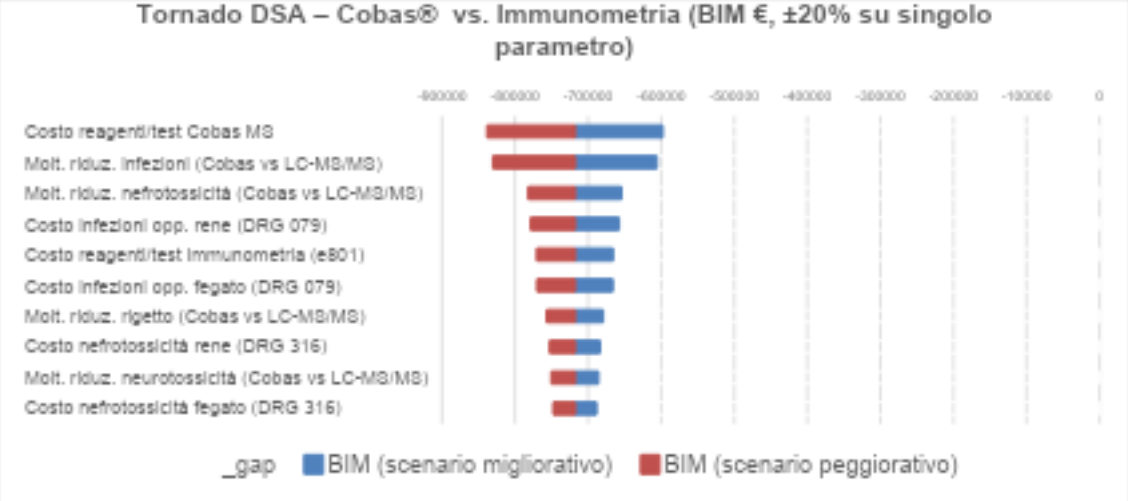
Per il confronto *cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria, il BIM del caso base è pari a −€718.122 cumulato su 5 anni. La **Tabella 33** riporta i top-10 parametri per ampiezza dello scostamento (impatto massimo della variazione ±20% sul BIM).

Tabella 33 – DSA: top-10 parametri per impatto sul *Budget Impact – cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria (±20%, caso base: −€718.122)

Tabella riepilogo BIM – Cobas vs. Immunometria

Parametro	Valore Base	Valore Min (-20%)	Valore Max (+20%)	BI (-20%)	BI (+20%)
Costo reagenti/test *cobas*® MS	15	12	18	€(838.124)	€(598.119)
Molt. riduz. infezioni (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,1	0,08	0,12	€(606.114)	€(830.130)
Molt. riduz. nefrotossicità (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,175	0,14	0,21	€(654.410)	€(781.833)
Costo infezioni opp. rene (DRG 079)	5744	4595,2	6892,8	€(657.810)	€(778.434)
Costo reagenti/test immunometria (e801)	6,5	5,2	7,8	€(666.121)	€(770.122)
Costo infezioni opp. fegato (DRG 079)	5744	4595,2	6892,8	€(666.426)	€(769.818)
Molt. riduz. rigetto (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,15	0,12	0,18	€(679.610)	€(756.633)
Costo nefrotossicità rene (DRG 316)	3734	2987,2	4480,8	€(683.815)	€(752.428)
Molt. riduz. neurotossicità (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,15	0,12	0,18	€(686.059)	€(750.184)
Costo nefrotossicità fegato (DRG 316)	3734	2987,2	4480,8	€(688.716)	€(747.527)

Figura 15 – Tornado *Chart DSA*: *cobas*® *Mass Spec* vs. Immunometria (variazione ±20% dei parametri chiave)



In tutti gli scenari testati nella DSA, il BI rimane negativo (risparmio per il SSN) in ogni configurazione, confermando la robustezza della conclusione principale rispetto alle sole variazioni parametriche del ±20% testate (robustezza parametrica), che non implica robustezza rispetto all'incertezza strutturale del modello. Il parametro con il maggiore scostamento è il costo dei reagenti per test di *cobas*® *Mass Spec* (€/test): nella peggiore delle ipotesi (+20%, €18/test), il BI si riduce di circa €120K rispetto al caso base (da −€718K a circa −€598K), rimanendo comunque un risparmio significativo. Il moltiplicatore di riduzione delle infezioni ed il moltiplicatore di riduzione della nefrotossicità occupano rispettivamente il 2° e il 3° posto: la loro posizione ai vertici

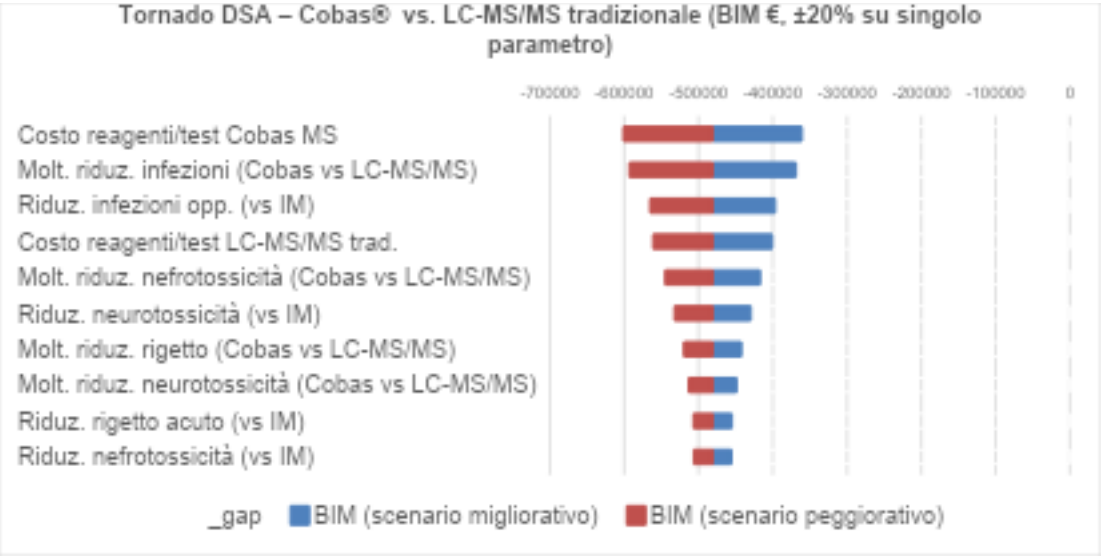
della classifica di sensibilità conferma che il *driver* economico principale del modello è la quantità di complicanze evitate (e non il differenziale di costo diagnostico), rafforzando la rilevanza clinica delle assunzioni di riduzione del rischio.

Tabella 34 – DSA: top-10 parametri per impatto sul *Budget Impact* – *cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale (variazione ±20% dei parametri chiave)

Tabella riepilogo BIM – *Cobas*® vs. LC-MS/MS tradizionale

Parametro	Valore Base	Valore Min (-20%)	Valore Max (+20%)	BI (-20%)	BI (+20%)
Costo reagenti/test *cobas*® MS	15	12	18	€(600.957)	€(360.952)
Molt. riduz. infezioni (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,1	0,08	0,12	€(368.947)	€(592.963)
Riduz. infezioni opp. (vs IM)	0,075	0,06	0,09	€(564.961)	€(396.949)
Costo reagenti/test LC-MS/MS trad.	10	8	12	€(400.947)	€(560.963)
Molt. riduz. nefrotossicità (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,175	0,14	0,21	€(417.243)	€(544.666)
Riduz. neurotossicità (vs IM)	0,125	0,1	0,15	€(532.178)	€(429.732)
Molt. riduz. rigetto (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,15	0,12	0,18	€(442.443)	€(519.466)
Molt. riduz. neurotossicità (*cobas*® vs LC-MS/MS)	0,15	0,12	0,18	€(448.892)	€(513.017)
Riduz. rigetto acuto (vs IM)	0,1	0,08	0,12	€(506.629)	€(455.281)
Riduz. nefrotossicità (vs IM)	0,15	0,12	0,18	€(506.159)	€(455.750)

Figura 16 – Tornado *Chart DSA*: *cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale (variazione ±20% dei parametri chiave; valori in €M)



Nel confronto *cobas*® *Mass Spec* vs. LC-MS/MS tradizionale, il caso base evidenzia un risparmio cumulato a 5 anni pari a −€480.955. I principali driver di impatto risultano sovrapponibili a quelli

osservati nel confronto vs. immunometria (costo dei reagenti *cobas*® *Mass Spec* e moltiplicatori di riduzione delle complicanze), a cui si aggiunge un elemento specifico di questo scenario: le riduzioni "di base" delle complicanze già associate alla LC-MS/MS rispetto all'immunometria. Tali riduzioni influenzano il BI in quanto definiscono il livello iniziale dello scenario AS-IS, riducendo il margine incrementale di miglioramento. Nonostante ciò, in tutte le analisi di sensibilità condotte, il BI rimane negativo, confermando la robustezza del risparmio in tutte le combinazioni di parametri testate.

10. Limiti metodologici e considerazioni critiche

Il modello è stato sviluppato con rigore metodologico e trasparenza, ma presenta alcune limitazioni che devono essere esplicitamente riconosciute ai fini di una corretta interpretazione dei risultati:

- **Assenza di RCT diretti:** le stime di riduzione delle complicanze associate all'utilizzo di LC-MS/MS vs. immunometria per il TDM degli immunosoppressori si basano su relazioni farmacocinetica/farmacodinamica (PK/PD) consolidate, confronti osservazionali e giudizio esperto, in assenza di studi randomizzati controllati che abbiano direttamente misurato l'impatto del metodo analitico sugli *outcome* clinici. Questa limitazione è comune ai modelli BIA in ambito diagnostico e introduce una rilevante incertezza nella stima dell'impatto clinico ed economico, che va gestita mantenendo stime conservative e trasparenti e un'interpretazione prudente dei risultati.
- **Prospettiva SSN ristretta:** il modello include esclusivamente i costi diretti sanitari (test, ricoveri, farmaci), escludendo i costi indiretti (perdita di produttività del paziente, *caregiving* informale, trasporti), che potrebbero incrementare ulteriormente il beneficio economico complessivo dell'adozione della tecnologia.
- **Coorte cumulativa (modello ibrido):** la struttura di coorte aperta per anno/chiusa nell'orizzonte quinquennale presuppone un flusso costante di nuovi trapianti; variazioni nel volume annuale dei trapianti (ad es. per carenza di organi) potrebbero modificare i risultati assoluti, pur lasciando invariati i differenziali per paziente.
- **Generalizzabilità:** le stime epidemiologiche e di costo sono state derivate dalla letteratura internazionale e adattate al contesto del SSN italiano; differenze locali in termini di casistica, organizzazione e tariffe potrebbero influenzare i risultati, rendendo opportuna una contestualizzazione centro-specifica.
- **Assenza di modellizzazione della mortalità:** il modello non include esplicitamente la mortalità come *outcome*. Sebbene tale scelta non incida in maniera rilevante sui risultati differenziali tra le tecnologie (in quanto l'effetto è atteso essere simile tra i comparatori), essa potrebbe determinare una lieve sovrastima del beneficio economico complessivo, non considerando la riduzione della popolazione a rischio nel tempo.
- **Applicazione del rischio di rigetto alla sola coorte incidente:** per semplicità modellistica, il rischio di rigetto acuto è stato applicato esclusivamente ai pazienti incidenti in ciascun anno, senza considerare il rischio residuo nelle coorti prevalenti negli anni successivi. Tale assunzione può portare a una sottostima del numero totale di complicanze, poiché non

considera il rischio residuo nei pazienti già in *follow-up*. Tuttavia, questo non influisce in modo rilevante sui risultati comparativi, in quanto la stessa ipotesi è applicata a tutti gli scenari analizzati.

- **Assunzioni sui moltiplicatori di riduzione delle complicanze:** i benefici incrementali attribuiti all'automazione della LC-MS/MS (*cobas*® *Mass Spec*) rispetto alla LC-MS/MS tradizionale sono basati su plausibilità clinica e consenso esperto, ma non su evidenze comparative dirette. Ciò introduce un elemento di incertezza strutturale nel modello.
- **Assenza di curva di apprendimento e costi di implementazione:** il modello non considera eventuali costi iniziali di implementazione (training del personale, integrazione IT, riorganizzazione dei flussi) né l'effetto della curva di apprendimento, che potrebbe influenzare i costi e le *performance* nelle fasi iniziali di adozione.
- **Uniformità delle performance tra centri:** il modello assume livelli omogenei di performance analitica e organizzativa tra i centri, non considerando possibili differenze nella qualità dei processi pre-analitici e nella gestione clinica, che potrebbero influenzare gli *outcome* reali.

Nonostante tali limitazioni, il modello fornisce stime conservative, robuste alle variazioni parametriche del ±20% testate, e metodologicamente appropriate per supportare decisioni di politica sanitaria a livello nazionale e istituzionale. La consistenza dei risultati in entrambi i confronti scenariali e in tutti gli scenari di sensibilità testati (BI sempre negativo = sempre un risparmio per il SSN) conferisce alla BIA un elevato livello di attendibilità a supporto dell'adozione della *cobas*® *Mass Spec Solution* nella rete dei laboratori clinici italiani per la trapiantologia. Le limitazioni strutturali sopra richiamate richiedono tuttavia di essere tradotte in specifiche analisi di scenario, che includano in particolare: un beneficio clinico incrementale nullo di *cobas*® *Mass Spec* rispetto alla LC-MS/MS tradizionale; riduzioni delle complicanze nulle o attenuate rispetto all'immunometria; l'inclusione dei costi di implementazione; volumi e tassi di *uptake* differenti; ed eventualmente l'analisi del punto di *break-even*. Tali scenari sono raccomandati come sviluppo successivo del modello.

2. Misurazione e stima degli esiti

E0005 – Quali sono gli esiti correlati alla salute misurati e/o stimati della tecnologia valutata e dei suoi comparatori (identificazione, misurazione e valutazione degli esiti)?

Il modello economico quantifica gli *outcome* sanitari in termini di complicanze cliniche evitate, stimate a partire dalle probabilità di incidenza delle principali complicanze post-trapianto ricavate dalla letteratura scientifica e dalla riduzione attesa grazie a una migliore accuratezza del TDM. L'assunzione fondamentale del modello, validata dall'*Advisory Board*, è che la MS, grazie alla sua superiore specificità analitica rispetto all'immunometria, consenta una quantificazione più accurata dei livelli ematici degli immunosoppressori (tacrolimus, ciclosporina, everolimus, sirolimus, acido micofenolico), riducendo il rischio di sovra- e sotto-dosaggio e, di conseguenza, la probabilità di insorgenza delle complicanze dose-dipendenti.

Le probabilità di incidenza delle complicanze nel gruppo di controllo (immunometria) sono state stimate sulla base di studi clinici pubblicati: rate di rigetto acuto del 20% (10) per trapianti di fegato e 16,8% (19) per trapianti di rene; nefrotossicità CNI severa nel 15% (11) dei pazienti per fegato e 17,5% (20) per rene; neurotossicità CNI nel 15% (fegato) (13) e 10% (rene) (21); infezioni opportunistiche nel 30% (fegato) (17) e 35% (rene) (17). Le riduzioni attese con la LC-MS/MS rispetto all'immunometria sono: 10% per il rigetto acuto, 15% per la nefrotossicità, 7,5% per le infezioni opportunistiche e 12,5% per la neurotossicità (1, 2, 4). Come già descritto, un moltiplicatore aggiuntivo di riduzione è applicato alla piattaforma automatizzata *cobas*® *Mass Spec* rispetto alla LC-MS/MS tradizionale, riflettendo il valore aggiunto dell'automazione del *workflow*.

I dati del modello mostrano che, nel confronto con l'immunometria, la *cobas*® *Mass Spec Solution* consente di evitare complessivamente 267 complicanze in 5 anni su una coorte di 1.000 pazienti, di cui 133 casi nel sottogruppo trapianto di fegato e 134 nel trapianto di rene. Nel confronto con la LC-MS/MS tradizionale, le complicanze evitate sono 55 in 5 anni, di cui 28 nel sottogruppo fegato e 28 nel rene. Questi numeri rappresentano stime conservative, fondate sull'assenza di RCT che abbiano direttamente confrontato i due approcci analitici in termini di *outcome* clinici. In assenza di tale evidenza diretta, il modello si basa su relazioni PK/PD tra accuratezza analitica e rischio clinico, su confronti osservazionali e sul giudizio esperto dell'*Advisory Board*, il che costituisce una limitazione metodologica intrinseca che richiede cautela nell'interpretazione dei risultati.

3. Analisi dei costi e degli esiti

E0006 – Quali sono le differenze stimate in termini di costi e risultati tra la tecnologia e i suoi comparatori?

Il confronto tra i profili di costo-efficacia della *cobas*® *Mass Spec Solution* e dei comparatori, pur in assenza di un modello esplicito di costo-efficacia, suggerisce un profilo economicamente favorevole rispetto all'immunometria, determinato dalla riduzione delle complicanze e dei relativi costi clinici. Sebbene il costo diagnostico per test di *cobas*® *Mass Spec* (€ 25,90) sia generalmente superiore a quello dell'immunometria (€ 13,07) e paragonabile a quello della LC-MS/MS tradizionale (€ 30,40), il bilancio complessivo per il SSN risulta positivo grazie ai risparmi generati a valle del percorso clinico. Nel confronto con la LC-MS/MS tradizionale, il beneficio si configura principalmente come un risparmio incrementale, a parità di tecnologia analitica di base. Dal punto di vista diagnostico, è importante evidenziare che il differenziale di costo per test si inverte a favore di *cobas*® *Mass Spec* rispetto alla LC-MS/MS tradizionale quando si considera il costo del personale: il vantaggio dell'automazione (10 minuti/test vs. 25 minuti/test) consente un risparmio di € 9,60 per test sul costo del personale tecnico, che nella maggior parte dei contesti compensa parzialmente il maggior costo della strumentazione. Considerando il costo totale per test inclusivo di personale (€ 25,90 *cobas*® *Mass Spec* vs. € 30,40 LC-MS/MS tradizionale), la piattaforma automatizzata risulta effettivamente più economica del comparatore LC-MS/MS già a livello diagnostico.

4. Validità del modello economico

E0012 – In che misura le stime dei costi, degli esiti o delle valutazioni economiche possono essere considerate una rappresentazione valida della tecnologia e del/dei relativo/i comparatore/i?

Il modello economico sviluppato da ALTEMS Advisory è un modello di coorte che adotta la prospettiva di un centro specifico italiano su un orizzonte temporale di 5 anni, strutturato come *BI model* con due moduli distinti: un modulo diagnostico (costi per test, strumentazione e personale) e un modulo clinico (costi delle complicanze post-trapianto). Il modello è stato sviluppato in *Microsoft Excel* e validato da un *Advisory Board* multidisciplinare composto da esperti di medicina di laboratorio, farmacisti ed ingegneri clinici. La trasparenza del modello è garantita dalla strutturazione in fogli di lavoro distinti per popolazione ed input clinici, parametri tecnici ed economici, calcoli per scenario immunometria e LC-MS/MS (MS), *microcosting* delle complicanze e risultati.

La robustezza del modello è stata valutata mediante una DSA con variazione del ±20% dei parametri principali rispetto al caso base. I parametri che esercitano maggiore influenza sul BI nel confronto *cobas*® vs. immunometria sono: il costo dei reagenti e consumabili di *cobas*® *Mass Spec*, il moltiplicatore di riduzione delle infezioni opportunistiche per *cobas*® *Mass Spec* (il moltiplicatore di riduzione del rigetto e il moltiplicatore di riduzione della nefrotossicità. In tutti gli scenari testati, il BI rimane negativo (i.e., favorevole all'adozione di *cobas*®), confermando la robustezza delle conclusioni principali.

Bibliografia

1. SahBandar, I. N., et al. (2025). Comparative evaluation of five tacrolimus assays in transplant recipients. *Frontiers in Transplantation* [in press].
2. Jain, A., Venkataramanan, R., Eghtesad, B., Marcos, A., Ragni, M., Fridell, J., Fontes, P., & Fung, J. (2016). Therapeutic drug monitoring of immunosuppressants by liquid chromatography–mass spectrometry: A review. *Clinica Chimica Acta, 454*, 52–64. https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.12.030
3. Borrows, R., Chusney, G., Loucaidou, M., James, A., Stichbury, J., Van Tromp, J., Cairns, T., Griffith, M., Hakim, N., McLean, A., Palmer, A., Papalois, V., & Taube, D. (2006). Clinical outcomes of renal transplantation using liquid chromatographic monitoring of tacrolimus. *Therapeutic Drug Monitoring, 28*(2), 269–273. https://doi.org/10.1097/01.ftd.0000177662.11974.f3
4. Di Rago, M., Lam, Q., Leung, K. L., Bhatt, K., Wong, A., & Dobbins, D. (2013). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method as the golden standard for therapeutic drug monitoring in renal transplant. *Clinical Biochemistry, 46*(18), 1736–1740. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.07.010
5. Farouk, S. S., & Rein, J. L. (2020). The many faces of calcineurin inhibitor toxicity – What the FK? *Advances in Chronic Kidney Disease, 27*(1), 56–66. https://doi.org/10.1053/j.ackd.2019.08.006
6. 6. Alabi, A., Ge, M., Momper, J. D., Tsunoda, S. M., Kelner, M. J., Fitzgerald, R. L., & Suhandynata, R. T. (2025). Measurement of whole blood tacrolimus concentrations by LC-MS/MS and immunoassay methods: Influence of immediate-release vs extended-release tacrolimus formulations. *Journal of Applied Laboratory Medicine, 10*(3), 546–558. https://doi.org/10.1093/jalm/jfae156
7. Johnston, A., & Holt, D. W. (1999). Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology, 47*(4), 339–350. https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1999.00911.x
8. Morris, R. G. (2003). Cyclosporin therapeutic drug monitoring – An established service revisited. *Clinical Biochemist Reviews, 24*(2), 33–46.
9. Santoro, A., Amore, A., Maggiore, U., Sandrini, S., Capuano, A., Cattaneo, D., Clementi, E., Danesi, R., Citterio, F., Shipkova, M., & Hesselink, D. A. (2015). *Raccomandazioni sul TDM degli immunosoppressori nel trapianto di rene negli adulti.* Società Italiana di Nefrologia,

Società Italiana di Farmacologia, Società Italiana Trapianti d'Organo, con il patrocinio di IATDMCT.

10. El Masri, J., El Ayoubi, L. M., Zreika, B., Adhami, F., El Masri, D., El Hage, S., & Abou-Jaoudé, M. (2022). Current state of clinical trials regarding liver transplant rejection. *Transplant Immunology, 70*, 101522. https://doi.org/10.1016/j.trim.2021.101522
11. Tang, L. C. Y., Chetwood, J. D., Lai, M. S. M., Yip, T. C. F., Cao, R., Powter, E., Salimi, S., Wu, R., Coulshed, A., Bowen, D. G., Strasser, S. I., Valliani, T., Crawford, M., Pulitano, C., McKenzie, C., Kench, J., McCaughan, G. W., & Liu, K. (2024). Incidence, epidemiology, and outcomes of acute allograft rejection following liver transplantation in Australia. *Liver Transplantation, 30*(10), 1039–1049. https://doi.org/10.1097/LVT.0000000000000375
12. Puri, P., & Bansal, N. (2023). Renal dysfunction after liver transplant: Is CNI nephrotoxicity overrated? *Journal of Clinical and Experimental Hepatology, 13*(4), 556–558. https://doi.org/10.1016/j.jceh.2023.05.005
13. Ziolkowski, J., Paczek, L., Senatorski, G., Niewczas, M., Oldakowska-Jedynak, U., Wyzgal, J., Sanko-Resmer, J., Pilecki, T., Zieniewicz, K., Nyckowski, P., Patkowski, W., & Krawczyk, M. (2003). Renal function after liver transplantation: Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Transplantation Proceedings, 35*(6), 2307–2309. https://doi.org/10.1016/s0041-1345(03)00786-3
14. Rahim, Z., Malik, K., Sarwar, S., & Salim, A. (2025). Post liver transplant metabolic syndrome: Frequency, predictors and outcome. *Pakistan Journal of Medical Sciences, 41*(2), 531–535. https://doi.org/10.12669/pjms.41.2.10774
15. Chan, S. Y., Lee, J., Karki, P., Laryea, M., Huang, J., Lim, N., & Twohig, P. (2025). Metabolic syndrome after liver transplantation: A silent threat to long-term success. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics, 16*(4), 111073. https://doi.org/10.4292/wjgpt.v16.i4.111073
16. Jardine, A. G. (2005). Assessing the relative risk of cardiovascular disease among renal transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine. *Transplant International, 18*(4), 379–384. https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.2005.00080.x
17. Agrawal, A., Ison, M. G., & Danziger-Isakov, L. (2022). Long-term infectious complications of kidney transplantation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 17*(2), 286–295. https://doi.org/10.2215/CJN.15971020
18. Mukthinuthalapati, P. K., Gotur, R., & Ghabril, M. (2016). Incidence, risk factors and outcomes of de novo malignancies post liver transplantation. *World Journal of Hepatology, 8*(12), 533–544. https://doi.org/10.4254/wjh.v8.i12.533

19. Corradetti, V., Gessaroli, E., Bari, F., Bini, C., Grandinetti, V., Napoletano, A., Cuna, V., Pizzuti, V., Demetri, M., Ravaioli, M., Provenzano, M., La Manna, G., & Comai, G. (2025). Risk factors of acute rejection: Impact on graft outcomes in a cohort of kidney transplant recipients. *Journal of Clinical Medicine, 14*(10), 3373. https://doi.org/10.3390/jcm14103373
20. Bentata, Y. (2020). Tacrolimus: 20 years of use in adult kidney transplantation. What we should know about its nephrotoxicity. *Artificial Organs, 44*(2), 140–152. https://doi.org/10.1111/aor.13551
21. Van Craenenbroeck, A. H., Chinnappa, S., Dounousi, E., Fernandez-Fernandez, B., Iatridi, F., Mark, P. B., Piko, N., Stegbauer, J., Torino, C., Vogt, L., & Valdivielso, J. M. (2025). New kidneys, old risks: Cardiovascular challenges after transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, gfaf239. https://doi.org/10.1093/ndt/gfaf239
22. Shivaswamy, V., Boerner, B., & Larsen, J. (2016). Post-transplant diabetes mellitus: Causes, treatment, and impact on outcomes. *Endocrine Reviews, 37*(1), 37–61. https://doi.org/10.1210/er.2015-1084
23. Centro Nazionale Trapianti (CNT) – Ministero della Salute. (2024). *I risultati dell'attività di trapianto in Italia.* https://www.trapianti.salute.gov.it/it/cnt-pagina/i-risultati/
24. Ministero della Salute. (1988, 31 dicembre). Decreto Ministeriale 31/12/1988 – Coefficienti di ammortamento fiscale: Gruppo XXI Servizi Sanitari. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.*
25. Ministero della Salute. (2023). Tariffe delle prestazioni di assistenza ospedaliera per acuti (DRG – Diagnosis Related Groups): sistema di classificazione e remunerazione. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.*
26. Ministero della Salute. (2023). Nomenclatore tariffario delle prestazioni di assistenza specialistica ambulatoriale. Allegato al DPCM 12 gennaio 2017 – Livelli Essenziali di Assistenza (LEA). *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.*

Dominio ORG
Aspetti organizzativi

Introduzione

La stesura del presente dominio è stata sviluppata con il supporto di un gruppo multidisciplinare di professionisti coinvolti in un *focus group* dedicato, motivo per il quale, per il dominio organizzativo, non è stato applicato il *framework* del *Core Model* di EUnetHTA, ma è stata adottata un'impostazione metodologica basata sulle evidenze emerse dal confronto con gli esperti, finalizzata alla raccolta di evidenze qualitative e organizzative relative all'introduzione della piattaforma *cobas*® *Mass Spec Solution* nei laboratori clinici.

Il *focus group* ha consentito di approfondire il processo laboratoristico attualmente in uso, identificando le principali criticità operative, i modelli organizzativi esistenti, le risorse umane coinvolte e le potenziali aree di miglioramento associate all'adozione della nuova tecnologia. L'analisi ha inoltre permesso di raccogliere elementi utili alla definizione del modello organizzativo futuro (TO BE), con particolare attenzione ai flussi di lavoro, all'integrazione tecnologica, all'impatto sulle competenze professionali e agli aspetti di sostenibilità organizzativa.

Lo studio si colloca nell'ambito di una valutazione di HTA della piattaforma *cobas*® *Mass Spec Solution*, con l'obiettivo di analizzarne i potenziali benefici clinici, economici e organizzativi all'interno dei contesti di medicina di laboratorio.

In particolare, il lavoro si è focalizzato sull'analisi dell'impatto della tecnologia sui processi laboratoristici, sulla gestione operativa e sui modelli di adozione, approfondendo gli elementi che potrebbero favorire una maggiore standardizzazione dei *workflow*, una riduzione delle attività manuali e un miglioramento dell'efficienza organizzativa e della tempestività diagnostica.

Descrizione del processo AS IS

Workflow laboratoristico corrente

L'attuale *workflow* della MS clinica è caratterizzato da un'elevata complessità operativa e da una forte dipendenza dalle competenze specialistiche del personale di laboratorio. Il processo comprende diverse fasi consecutive, dalla ricezione e tracciabilità del campione fino alla validazione finale del dato analitico. In particolare, la preparazione del campione rappresenta uno dei principali elementi critici del processo, poiché richiede attività manuali complesse, elevata esperienza tecnica e tempi operativi significativi.

L'organizzazione del lavoro si basa prevalentemente sull'elaborazione dei campioni in sessioni analitiche programmate, durante le quali più campioni vengono processati contemporaneamente. A tal fine, le attività di calibrazione, controlli qualità, preparazione del campione ed elaborazione post-analitica richiedono una gestione dedicata e personale altamente qualificato. Dall'analisi emerge come questo modello limiti la flessibilità operativa e renda difficile l'integrazione della MS nei flussi routinari ad alta produttività e nella gestione delle urgenze.

Tecnologie utilizzate

I laboratori utilizzano oggi principalmente metodiche immunometriche automatizzate e sistemi di MS tradizionale. Le metodiche immunometriche rappresentano attualmente la soluzione più diffusa per il monitoraggio routinario grazie all'elevato grado di automazione e alla piena integrazione nei *workflow* automatizzati di laboratorio, mentre i laboratori ricorrono alla MS tradizionale per alcune applicazioni caratterizzate da requisiti più stringenti in termini di specificità e accuratezza analitica, che richiedono generalmente attività manuali più estese nelle fasi di preparazione del campione e una supervisione specialistica continua.

Dal punto di vista infrastrutturale, i laboratori dispongono generalmente di sistemi informatici per la gestione dei dati, catene automatizzate per il trasporto del campione e, in alcuni casi, *liquid handler* dedicati alla preparazione pre-analitica. Tuttavia, l'integrazione tra le diverse piattaforme tecnologiche non sempre è completa o standardizzata, con conseguenti differenze organizzative e operative tra i diversi contesti laboratoristici.

Criticità organizzative attuali

Le principali criticità organizzative associate all'attuale utilizzo della MS riguardano l'elevato impiego di tempo uomo, la necessità di personale altamente specializzato e la presenza di numerose attività manuali distribuite lungo l'intero percorso analitico. In particolare, la fase pre-analitica rappresenta uno degli elementi maggiormente impattanti sul piano organizzativo, poiché richiede attività di preparazione del campione complesse, standardizzate e fortemente dipendenti dall'esperienza dell'operatore. La limitata standardizzazione di tali procedure e la presenza di passaggi manuali possono determinare una significativa variabilità operatore-dipendente, con potenziali ripercussioni sulla riproducibilità dei risultati, sull'efficienza del processo e sulla qualità complessiva del servizio.

La preparazione del campione costituisce infatti uno dei principali colli di bottiglia del processo. Tale fase assorbe una quota significativa delle risorse professionali disponibili e può influire sulla produttività complessiva del laboratorio, limitando la capacità di gestire elevati volumi di attività e aumentando il rischio di rallentamenti operativi. Inoltre, la necessità di svolgere procedure manuali ripetitive rende più difficile ottimizzare l'impiego del personale e garantire la continuità del servizio in contesti caratterizzati da elevata pressione assistenziale.

Un ulteriore elemento critico è rappresentato dalla forte dipendenza da figure professionali con competenze altamente specialistiche. La gestione della strumentazione, l'esecuzione delle procedure analitiche, l'interpretazione dei risultati e la risoluzione delle problematiche tecniche richiedono infatti conoscenze tecniche avanzate che non sempre risultano facilmente reperibili o sostituibili. Questa caratteristica può generare vulnerabilità organizzative, soprattutto nei contesti caratterizzati da elevato *turnover* del personale o da limitata disponibilità di professionisti esperti.

Le criticità emergono in modo ancora più evidente nella gestione dei picchi di attività e delle richieste urgenti. L'organizzazione tradizionale della MS è infatti spesso basata sull'elaborazione dei campioni in batch analitici dedicati a specifici analiti o pannelli diagnostici. Questo modello operativo, associato alla complessità delle procedure pre-analitiche e analitiche, può ridurre la

flessibilità operativa del laboratorio e rendere più difficile garantire tempi di risposta rapidi per richieste urgenti o variazioni improvvise dei volumi di attività. Di conseguenza, l'estensione dell'attività a fasce orarie continuative o a servizi h24 richiede generalmente la presenza costante di personale qualificato, con inevitabili ricadute sull'organizzazione dei turni e sui costi operativi.

Infine, la presenza di numerosi passaggi manuali introduce un grado di variabilità operatore-dipendente che può influire sulla standardizzazione dei processi e sulla riproducibilità dei risultati. Le differenze nelle modalità operative adottate dai singoli laboratori, così come la diversa esperienza degli operatori coinvolti, possono determinare livelli eterogenei di *performance* analitica e di qualità percepita del servizio. Tale aspetto rappresenta una criticità particolarmente rilevante nei contesti in cui il dato analitico assume un ruolo determinante nel supporto alle decisioni cliniche e terapeutiche.

Descrizione del processo con la nuova tecnologia (TO BE)

L'introduzione della tecnologia comporta una revisione del modello organizzativo e operativo attualmente adottato nei laboratori clinici. La presente sezione descrive il processo futuro (TO BE), evidenziando le principali modifiche attese in termini di flussi di lavoro, integrazione della tecnologia, organizzazione delle attività e gestione delle risorse. L'obiettivo è rappresentare come l'automazione e la standardizzazione dei processi possano contribuire a migliorare l'efficienza operativa, la produttività e la capacità di risposta del laboratorio.

Modello operativo con l'introduzione della tecnologia

L'introduzione di *cobas*® *Mass Spec Solution* rappresenta un'evoluzione verso un modello organizzativo maggiormente automatizzato e standardizzato. La tecnologia viene percepita come un sistema capace di avvicinare la MS ai *workflow* tipici dell'immunometria, grazie alla riduzione delle attività manuali e alla maggiore integrazione con la *routine* laboratoristica.

Il nuovo modello operativo favorisce una gestione più fluida dei processi, con una significativa riduzione della dipendenza dalle competenze ultra-specialistiche e una maggiore continuità operativa. In questo scenario, il modello organizzativo ritenuto più coerente è quello *hub & spoke*, con centralizzazione delle attività ad alto volume presso laboratori *hub* in grado di sostenere elevati livelli produttivi.

Integrazione della tecnologia nel laboratorio

L'integrazione della nuova piattaforma richiederà una revisione complessiva dei *workflow* laboratoristici e dei flussi logistici del campione. Sarà necessario adeguare i sistemi informatici, favorire l'interoperabilità con le catene automatizzate esistenti e garantire la piena integrazione della tecnologia all'interno dell'infrastruttura laboratoristica.

Un aspetto particolarmente rilevante riguarda il livello di automazione *end-to-end* del processo. I partecipanti al *focus group* hanno evidenziato come la possibilità di automatizzare in modo integrato le differenti fasi analitiche rappresenti uno dei principali elementi di valore della tecnologia, favorendo la standardizzazione dei processi e la riduzione delle attività manuali.

Eventuali interventi manuali residui risultano limitati a specifiche tipologie di campione, quali il sangue intero, e non rappresentano una caratteristica del *workflow* routinario della piattaforma.

Un ulteriore elemento di rilievo riguarda l'integrazione della tecnologia con le infrastrutture di automazione già presenti in laboratorio. La piattaforma è infatti progettata per operare all'interno di *workflow* automatizzati e per integrarsi con le catene di laboratorio dedicate, contribuendo a garantire continuità operativa, tracciabilità del campione ed efficienza dei processi.

Modifiche ai flussi di lavoro, responsabilità e tempi

L'automazione introdotta dalla nuova tecnologia comporterà una trasformazione significativa dei flussi di lavoro. Le attività manuali legate alla preparazione del campione, all'elaborazione post-analitica e al *troubleshooting* saranno ridotte, con conseguente aumento della standardizzazione e della continuità operativa.

Anche le responsabilità professionali subiranno un'evoluzione. I tecnici di laboratorio manterranno un ruolo centrale, ma con una maggiore focalizzazione sulla supervisione dei processi automatizzati, sul controllo qualità e sulla gestione delle eccezioni, piuttosto che sulle attività operative manuali. I dirigenti di laboratorio continueranno a svolgere funzioni di validazione e governance clinico-organizzativa. Tale evoluzione potrebbe inoltre favorire una progressiva riallocazione delle competenze verso attività a maggiore valore aggiunto, approfondite nelle sezioni successive.

Dal punto di vista temporale, il principale beneficio atteso riguarda la riduzione del tempo uomo necessario per l'esecuzione del test. La maggiore automazione consentirà una più rapida disponibilità del risultato analitico e una migliore gestione delle urgenze e delle attività continuative h24. Inoltre, la piattaforma permetterà di concentrare su un unico sistema volumi significativamente più elevati di analiti rispetto ai modelli tradizionali di MS, favorendo l'incremento della capacità produttiva complessiva del laboratorio e una più efficiente allocazione delle risorse tecnologiche e professionali.

Area Risorse Umane

L'adozione di una nuova tecnologia può determinare cambiamenti significativi nell'organizzazione del lavoro e nelle competenze richieste agli operatori coinvolti. In questa sezione vengono analizzati gli impatti attesi sulle risorse umane, con particolare riferimento all'evoluzione dei ruoli professionali, alle esigenze formative, alla redistribuzione del carico di lavoro e alle opportunità di riallocazione del tempo liberato verso attività a maggiore valore aggiunto.

Cambiamenti nelle competenze

L'impatto sulle competenze professionali dipenderà dal livello di maturità tecnologica dei singoli laboratori. Nei contesti basati prevalentemente su metodiche immunometriche sarà necessario sviluppare nuove competenze e avviare percorsi di riqualificazione del personale. Tuttavia, l'elevato livello di automazione e standardizzazione della piattaforma potrebbe facilitare il

passaggio verso la MS, riducendo parte della complessità operativa tradizionalmente associata a questa tecnologia e favorendone l'adozione anche in laboratori con limitata esperienza pregressa. Nei laboratori già dotati di MS tradizionale, invece, il cambiamento riguarderà soprattutto il passaggio verso *workflow* maggiormente automatizzati.

Nonostante il maggiore livello di automazione, resterà fondamentale la presenza di personale con competenze specifiche di supervisione, *troubleshooting*, validazione e controllo qualità. Tuttavia, la standardizzazione dei processi e la riduzione delle attività manuali potrebbero diminuire la dipendenza da risorse altamente specializzate per le attività operative routinarie, consentendo una più efficiente allocazione delle competenze professionali. La formazione strutturata del personale viene pertanto considerata uno dei principali fattori abilitanti per il successo della tecnologia.

Impatto sul carico di lavoro

La riduzione delle attività manuali comporterà un alleggerimento del carico operativo quotidiano, soprattutto nelle fasi analitiche e post-analitiche. L'automazione consentirà una gestione più efficiente dei turni e ridurrà la necessità di personale altamente specializzato presente in maniera continuativa. La possibilità di standardizzare maggiormente i processi permetterà, inoltre, di affrontare con maggiore flessibilità i picchi di attività e di migliorare la gestione operativa complessiva del laboratorio.

Tempo liberato e riallocazione

Il tempo operativo liberato grazie all'automazione potrà essere riallocato verso attività a maggiore valore aggiunto, come l'implementazione di nuovi pannelli diagnostici, il miglioramento dei processi qualità, il supporto clinico e le attività di ricerca e sviluppo. In particolare, i professionisti hanno evidenziato la possibilità di dedicare maggiori risorse allo sviluppo, alla validazione e all'ottimizzazione di metodiche analitiche *in house* per analiti specialistici o esoterici, ampliando l'offerta diagnostica del laboratorio e valorizzando le competenze professionali disponibili. I professionisti evidenziano come questo elemento rappresenti uno dei principali benefici organizzativi della tecnologia.

Processo e produttività

Capacità produttiva

La tecnologia viene considerata particolarmente adatta ai laboratori centralizzati ad alto volume, nei quali l'automazione e la standardizzazione possono generare i maggiori benefici in termini di produttività. L'introduzione della piattaforma consentirebbe di assorbire i test a maggiore numerosità, liberando al contempo capacità produttiva sugli spettrometri tradizionali per attività più specialistiche. L'elevato livello di automazione potrebbe inoltre favorire la centralizzazione delle attività di MS all'interno di modelli organizzativi *Hub & Spoke*, consentendo la concentrazione dei volumi presso laboratori di riferimento e una più efficiente distribuzione delle risorse professionali e tecnologiche. Tale modello, storicamente limitato dalla complessità

operativa e dalla forte dipendenza da competenze altamente specialistiche della MS tradizionale, potrebbe contribuire a migliorare la sostenibilità organizzativa del servizio, promuovere una maggiore standardizzazione dei processi e facilitare l'accesso a metodiche ad elevata qualità analitica su scala territoriale.

La maggiore continuità operativa, la riduzione dei tempi morti e la possibilità di gestire elevati volumi di attività su un'unica piattaforma potrebbero contribuire a incrementare significativamente la capacità analitica complessiva del laboratorio e l'efficienza della rete laboratoristica nel suo complesso.

Struttura e logistica

Spazi

L'introduzione della nuova tecnologia richiederà una riorganizzazione degli spazi laboratoristici, sebbene questo aspetto non venga considerato una barriera critica nei laboratori di grandi dimensioni. Sarà necessario valutare attentamente il posizionamento della strumentazione, i percorsi logistici del campione e gli eventuali requisiti strutturali legati alle caratteristiche tecniche delle apparecchiature.

Layout laboratori

Il *layout* laboratoristico dovrà essere ripensato per favorire l'integrazione con le catene automatizzate e ridurre i passaggi manuali. L'obiettivo sarà creare *workflow* più lineari, efficienti e compatibili con un modello operativo centralizzato ad alta produttività.

Infrastruttura tecnologica

L'implementazione richiederà un adeguamento dell'infrastruttura digitale, con particolare attenzione all'integrazione con LIS, *middleware* e sistemi di automazione esistenti. La piena interoperabilità tra le diverse piattaforme tecnologiche sarà essenziale per garantire continuità operativa, tracciabilità del campione e gestione efficiente dei dati analitici.

Impatto sulla qualità del servizio

Tempestività del referto

La tecnologia potrebbe migliorare significativamente la tempestività del referto e la disponibilità del dato clinico, soprattutto nei contesti in cui la rapidità del risultato influenza direttamente il percorso terapeutico. Questo aspetto risulta particolarmente rilevante nel monitoraggio terapeutico degli immunosoppressori, nei pazienti critici e nella gestione delle urgenze.

Accuratezza percepita

L'automazione e la standardizzazione dei processi vengono considerate elementi fondamentali per aumentare l'affidabilità percepita del risultato, la riproducibilità inter-laboratorio e la fiducia del clinico nei confronti del dato analitico. Una maggiore accuratezza potrebbe inoltre contribuire a ridurre errori analitici, ripetizioni dei test e complicanze cliniche.

Analisi delle criticità

L'introduzione di innovazioni tecnologiche in contesti organizzativi complessi può essere accompagnata da elementi di criticità che ne influenzano l'effettiva implementazione e il raggiungimento dei benefici attesi. Questa sezione analizza le principali barriere, i rischi operativi e i vincoli organizzativi emersi durante il *focus group*, al fine di identificare gli aspetti che richiedono particolare attenzione nelle fasi di pianificazione e adozione della tecnologia.

Barriere implementative

Nonostante il potenziale organizzativo, l'introduzione della tecnologia potrebbe incontrare alcune barriere che ne influenzano l'adozione e la piena valorizzazione all'interno dei laboratori clinici.

Una delle principali criticità riguarda l'investimento iniziale richiesto per l'acquisizione della piattaforma e per gli eventuali adeguamenti infrastrutturali necessari alla sua integrazione nei processi esistenti. Sebbene gli esperti abbiano evidenziato la possibilità di ottenere benefici in termini di efficienza operativa e ottimizzazione delle risorse nel medio-lungo periodo, la sostenibilità economica dell'investimento appare strettamente correlata al livello di utilizzo della tecnologia. La piattaforma è stata infatti progettata per supportare elevati volumi di attività attraverso *workflow* altamente automatizzati e modalità operative assimilabili al *random access*, consentendo una gestione più flessibile dei campioni rispetto ai modelli tradizionali basati su sessioni analitiche in *batch*. Di conseguenza, i maggiori benefici organizzativi ed economici sono attesi nei contesti caratterizzati da volumi significativi di test, nei quali è possibile sfruttare pienamente la capacità produttiva della piattaforma, favorire la centralizzazione delle attività e distribuire l'investimento su un ampio numero di determinazioni e applicazioni diagnostiche.

Un ulteriore elemento di attenzione riguarda la necessità di adattare i modelli organizzativi e i flussi operativi esistenti. L'introduzione di una tecnologia ad elevato livello di automazione richiede infatti una revisione delle procedure, dei percorsi del campione e delle modalità di interazione tra le diverse figure professionali coinvolte. In questo contesto, anche la formazione del personale assume un ruolo centrale, poiché l'efficacia dell'implementazione dipenderà dalla capacità degli operatori di acquisire nuove competenze e di adattarsi a modalità di lavoro differenti rispetto a quelle tradizionalmente adottate.

Un ulteriore elemento rilevante riguarda l'integrazione della piattaforma con i sistemi informativi e con le infrastrutture di automazione già presenti nei laboratori. La disponibilità di collegamenti con i sistemi informativi, *middleware*, sistemi di tracciabilità del campione e catene automatizzate rappresenta un importante fattore abilitante per massimizzare i benefici derivanti

dall'automazione, favorendo la continuità operativa, la standardizzazione dei processi e l'efficienza complessiva del *workflow* laboratoristico.

Rischi operativi

Tra i principali rischi operativi identificati dagli esperti emerge la possibilità che il livello di automazione non risulti pienamente esteso ad alcune specifiche tipologie di campione. In particolare, per matrici biologiche quali il sangue intero potrebbero permanere alcune attività manuali nella fase di preparazione del campione. Tuttavia, i partecipanti al focus group hanno evidenziato come siano disponibili soluzioni in grado di automatizzare anche parte di questi processi e come tali attività rappresentino situazioni specifiche piuttosto che il *workflow* routinario della piattaforma. Inoltre, anche nei contesti in cui permangano limitati interventi manuali, l'elevato livello di automazione delle fasi analitiche consente comunque di ottenere importanti benefici rispetto alla MS tradizionale, in termini di standardizzazione dei processi, riduzione del tempo uomo, incremento della produttività e ottimizzazione dei flussi di lavoro.

Un ulteriore elemento di rischio riguarda l'integrazione della tecnologia all'interno di *workflow* consolidati. L'introduzione di nuove modalità operative potrebbe infatti richiedere una fase di adattamento organizzativo durante la quale potrebbero emergere inefficienze temporanee o criticità legate alla gestione del cambiamento.

Anche gli aspetti logistici rappresentano un potenziale ambito di attenzione. Nei modelli organizzativi maggiormente orientati alla centralizzazione delle attività, la gestione del trasporto, della tracciabilità e della conservazione dei campioni assume un ruolo particolarmente rilevante. Eventuali criticità in queste fasi potrebbero influire sulla tempestività del processo diagnostico e sulla continuità del servizio.

Infine, come per ogni processo ad elevata integrazione tecnologica, la continuità operativa dipende dalla corretta interazione tra strumentazione, sistemi informatici e infrastrutture di laboratorio. Pertanto, eventuali problematiche tecniche o difficoltà di integrazione potrebbero avere ripercussioni sull'efficienza complessiva del *workflow*.

Vincoli organizzativi

Dalle evidenze raccolte emerge come la sostenibilità del modello organizzativo proposto sia strettamente correlata alla presenza di adeguati volumi di attività. I partecipanti al *focus group* hanno infatti sottolineato che i maggiori benefici della tecnologia sono attesi nei laboratori centralizzati o nei centri *hub*, caratterizzati da elevati carichi di lavoro e da una maggiore capacità di assorbire gli investimenti necessari all'implementazione.

La centralizzazione delle attività rappresenta pertanto un importante presupposto organizzativo, ma al tempo stesso introduce la necessità di ripensare alcuni aspetti della *governance* dei processi, della logistica dei campioni e del coordinamento tra laboratori *hub* e strutture periferiche. Tali cambiamenti potrebbero richiedere una revisione delle modalità organizzative esistenti e una ridefinizione delle responsabilità operative tra i diversi attori coinvolti.

Un ulteriore elemento di attenzione riguarda il quadro economico e regolatorio di riferimento. I partecipanti hanno evidenziato come gli attuali sistemi tariffari e i meccanismi di rimborso siano prevalentemente orientati a remunerare la prestazione diagnostica erogata, senza distinguere in modo specifico le diverse modalità organizzative e tecnologiche attraverso cui essa viene prodotta. In tale contesto, la disponibilità di evidenze capaci di documentare il valore aggiunto dell'automazione assume un ruolo particolarmente rilevante. A questo proposito, i risultati emersi nei domini SAF-EFF ed ECO del presente *assessment* supportano l'esistenza di benefici che vanno oltre la sola performance analitica della tecnologia. In particolare, il dominio SAF-EFF ha evidenziato come l'automazione del workflow possa contribuire a ridurre la variabilità inter-operatore, minimizzare il rischio di errori nelle fasi pre-analitiche e post-analitiche e garantire una maggiore standardizzazione del processo diagnostico. Parallelamente, il dominio ECO ha mostrato come l'automazione consenta un utilizzo più efficiente delle risorse di laboratorio, con una riduzione significativa del tempo tecnico richiesto per test e dei costi associati al personale, oltre a favorire una più rapida disponibilità dei risultati e un potenziale miglioramento della gestione terapeutica dei pazienti trapiantati. I partecipanti hanno pertanto sottolineato che la piena valorizzazione di queste tecnologie dovrebbe considerare non soltanto gli aspetti strettamente legati al costo della prestazione diagnostica, ma anche i benefici organizzativi, di efficienza e di appropriatezza clinica che l'automazione è in grado di generare lungo l'intero percorso assistenziale.

Nel complesso, i vincoli organizzativi identificati non sembrano rappresentare ostacoli insormontabili, ma richiedono una pianificazione accurata del percorso di implementazione e una valutazione preventiva delle condizioni operative necessarie per garantire il pieno sfruttamento del potenziale della tecnologia.

Fattori abilitanti

Affinché l'introduzione della tecnologia possa generare un impatto positivo e sostenibile, è necessario che siano presenti specifiche condizioni organizzative, tecnologiche e professionali.

A tal fine, il successo della tecnologia dipenderà dalla capacità di garantire un elevato livello di automazione del *workflow* e una piena integrazione con le catene automatizzate di laboratorio. I partecipanti al *focus group* hanno inoltre sottolineato l'importanza di una formazione strutturata del personale, della standardizzazione dei processi e di una forte integrazione clinico-laboratoristica.

Un ulteriore elemento determinante sarà la capacità della tecnologia di tradurre i benefici organizzativi dell'automazione in un miglioramento concreto delle attività di laboratorio e dei percorsi assistenziali. In particolare, la riduzione delle attività manuali e del tempo operativo potrà consentire la riallocazione delle risorse professionali verso attività a maggiore valore aggiunto, quali lo sviluppo di metodiche analitiche specialistiche, il miglioramento continuo della qualità e il supporto clinico. Parallelamente, una maggiore efficienza del *workflow* e una più rapida disponibilità dei risultati potranno favorire decisioni cliniche più tempestive, in particolare nella gestione delle urgenze e delle attività continuative. La tecnologia potrà inoltre rappresentare un'opportunità per assorbire elevati volumi di attività routinaria all'interno di *workflow* altamente automatizzati, incrementando la produttività complessiva del laboratorio e favorendo modelli

organizzativi centralizzati di tipo *Hub & Spoke*. Ciò consentirebbe di liberare capacità produttiva sugli spettrometri tradizionali già presenti nei laboratori, che potrebbero essere dedicati ad applicazioni più specialistiche, allo sviluppo di metodiche *in house* e alla gestione di analiti esoterici, contribuendo a un utilizzo più efficiente delle risorse professionali e tecnologiche disponibili.

Appendice 1

Tabella 31 – Stringa di ricerca PICO 1

("Mass Spectrometry"[Mesh] OR "Mass Spectroscopy" OR "Mass Spectrum Analys*") AND ((("Kidney Transplantation"[Mesh] OR "Kidney Transplantation*" OR "Renal Transplantation*" OR "Kidney Grafting" OR "Renal Grafting") OR ("Liver Transplantation"[Mesh] OR "Liver Transplantation*" OR "Hepatic Transplantation*" OR "Liver Grafting" OR "Hepatic Grafting")) OR ("Heart Transplantation"[Mesh] OR "Heart Transplantation*" OR "Cardiac Transplantation*" OR "Heart Grafting" OR "Cardiac Grafting")) OR ("Lung Transplantation"[Mesh] OR "Lung Transplantation*" OR "Lung Grafting"))

Tabella 32 – Stringa di ricerca PICO 2

(("Mass Spectrometry"[Mesh]) OR ("Mass Spectroscopy")) OR ("Mass Spectrum Analys*")) AND ((("Critical Care"[Mesh]) OR ("Intensive Care")) OR ("ICU"))

Tabella 33 – Stringa di ricerca PICO 3

((("Mass Spectrometry"[Mesh]) OR ("Mass Spectroscopy")) OR ("Mass Spectrum Analys*")) AND ("Polycystic Ovary Syndrome"[Mesh])) AND ((("Androgens"[Mesh]) OR ("Insulin Resistance"[Mesh])) OR ("Metabolic Syndrome"[Mesh]))