

La stima dell'incertezza delle misure nel laboratorio clinico

Duilio Brugnoli¹, Roberto Guerranti², Pasquale Iandolo³, Sonia Mattioli⁴, Cosimo Ottomano⁵, Ferruccio Ceriotti⁶

¹ASL di Vallecambonica-Sebino, Laboratorio di Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero di Edolo, Edolo (BS)

²Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, UOC Patologia Clinica, Policlinico Santa Maria alle Scotte, Siena

³ASL4 Chiavarese, Laboratorio Analisi Ospedale Civile di Lavagna, Lavagna (GE)

⁴ASL di Vallecambonica-Sebino, Laboratorio di Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero di Esine, Esine (BS)

⁵Azienda Ospedaliera Universitaria di Parma, UO Diagnostica Ematochimica, Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Parma

⁶IRCCS Ospedale San Raffaele, Servizio di Medicina di Laboratorio, Milano

ABSTRACT

Measurement uncertainty calculation in clinical laboratories. The result of a measurement is only an estimate of the value of the measurand and it is complete only when accompanied by a statement of the measurement uncertainty. The ISO 15189 standard requires that "the laboratory shall determine measurement uncertainty for each measurement procedure". The approach to calculate the measurement uncertainty proposed by the "Guide to the expression of uncertainty in measurement" (GUM) requires the quantification of every source of variability to sum them up for the final calculation ("bottom-up" approach). To overcome inherent difficulties in the systematic application of this approach in a clinical laboratory, a "top-down" approach is proposed, through the calculation of measurement uncertainty from already existing data of IQC. The proposed approach is checked by applying it to the IQC data for serum glucose and creatinine measurements collected from 19 clinical laboratories. Different approaches to cope with the issue of the estimate of systematic error (bias) are proposed, based either on value-assigned trueness control/reference materials, on the mean value of the employed material defined by the laboratory at the start of the IQC program or on the peer group mean of an interlaboratory program material. The availability of a standardized way to estimate the measurement uncertainty provides a tool to evaluate the analytical quality of results and it allows comparison of the quality of results made available by different laboratories.

INTRODUZIONE

Uno degli scopi principali dell'attività di ogni professionista impegnato nella Medicina di Laboratorio è fornire al clinico risultati accurati (1). Per adempiere a questo compito, il laboratorista deve essere in grado di fornire una stima della qualità dei dati prodotti e di monitorare questa nel tempo per garantire che si mantenga a un livello tale da consentire la formulazione di decisioni cliniche corrette.

Per la definizione della qualità analitica dei risultati di laboratorio si sono affermati nel corso degli anni due modelli in apparente antitesi fra loro: quello dell'errore totale, promulgato da Westgard (2), e quello dell'incertezza della misura (u), proposto da Dybkaer per l'utilizzo nel laboratorio clinico (3, 4), la cui stima è posta ora tra i requisiti per l'accreditamento in accordo con lo

standard ISO 15189 (5). La maggior differenza fra le due teorie riguarda la possibilità di conoscere il valore "vero" di una grandezza misurata, possibile secondo i fattori del modello dell'errore totale, impossibile secondo i sostenitori del modello dell' u . Da ciò deriva la diversa prospettiva fra le due visioni, che può essere così sintetizzata: mentre l'errore totale definisce una regione attorno al valore "vero" (noto) in cui, secondo una certa probabilità, sono distribuiti i valori misurati con il sistema analitico, l' u definisce una regione attorno al valore misurato in cui, con una certa probabilità, è contenuto il valore "vero" (ignoto) (6).

A parte questa differenza, in entrambi i casi la stima dei suddetti parametri presuppone la conoscenza delle prestazioni del sistema analitico, sia in termini di imprecisione (DS o CV) che di scostamento sistematico ("bias"): nel caso dell'errore totale, le due componenti

Corrispondenza a: Ferruccio Ceriotti, Servizio di Medicina di Laboratorio, IRCCS Ospedale San Raffaele, Via Olgettina 60, 20123 Milano. Tel. 02 26432282, Fax 02-26432640; E-mail ceriotti.ferruccio@hsr.it

Ricevuto: 04.09.2014

Revisionato: 16.12.2014

Accettato: 23.12.2014

vengono sommate in modo lineare, mentre nel caso dell' u , dopo aver corretto l'errore sistematico, la quota di incertezza legata all'errore casuale (u_{imp}) e quella legata alla correzione dello scostamento sistematico (u_{bias}) vengono sommate secondo la legge di propagazione degli errori.

Essendo u un parametro quantitativo associabile a una misura, la sua conoscenza rende la misura stessa confrontabile in modo oggettivo con altre misure; in questo modo diventa possibile confrontare tra loro i risultati ottenuti in sedi o tempi diversi, nonché verificare il rispetto o meno di limiti e tolleranze (7). La recente revisione della norma ISO 15189 per l'accredimento dei laboratori clinici richiede infatti la stima di u come parametro per definire la qualità dei risultati analitici di ogni procedura di misura e non più solamente nei casi in cui essa è "rilevante e possibile" (5).

La "Guida per l'espressione dell'incertezza di misura" (GUM) propone una stima dell' u totale basata su un approccio cosiddetto "bottom-up", in cui ogni potenziale fonte di u nel processo di misura deve essere identificata e quantificata (3). Sfortunatamente, questo approccio, mentre è sicuramente appropriato per un laboratorio di riferimento, è difficilmente applicabile dalla maggior parte dei laboratori clinici (8). Per questo motivo, sono stati sviluppati metodi empirici basati su un approccio cosiddetto "top-down", che, prevedendo l'utilizzo dei dati globali di prestazione del sistema analitico in esame (imprecisione e scostamento sistematico), sembrano più alla portata dei laboratori clinici (9-12). Con questi metodi, la stima dell' u si può potenzialmente ottenere utilizzando diverse fonti di dati da cui è possibile derivare informazioni relative all'imprecisione e all'eventuale presenza di scostamento sistematico: dati provenienti dall'analisi di materiali di controllo certificati (CRM), dati provenienti dal CQI, dal controllo di qualità allargato (CQA) e/o dalla VEQ (13). Tuttavia, a tutt'oggi non esiste un accordo univoco su come procedere in termini pratici nella stima dell' u basata su un approccio "top-down". In particolare, le diverse soluzioni proposte divergono per quanto riguarda la componente riconducibile all'errore sistematico, sia in termini di stima, sia relativamente al suo trattamento.

Per quanto riguarda la stima dello scostamento sistematico, le problematiche derivano dalla scelta del riferimento da utilizzare per la sua quantificazione. A questo proposito, pur essendo condiviso da tutti il concetto che il modo più corretto per calcolare lo scostamento sistematico sia quello di utilizzare materiali commutabili, certificati con valore assegnato mediante metodo di riferimento, è altrettanto assodato che la maggior parte ai laboratori clinici non ha la possibilità di averli a disposizione, né questi materiali sono disponibili per tutte le analisi. Ciò che risulta invece facilmente disponibile ai laboratori clinici sono materiali a cui sia stato assegnato un valore riferibile al più alto livello del sistema di riferimento disponibile per l'analisi in questione (siano essi forniti dalle ditte produttrici dei sistemi analitici che di terza parte) o materiali a cui sia

stato assegnato un valore di "consenso" da usare come riferimento (ad es., quelli provenienti da programmi di VEQ e/o di CQA), anche se risulta evidente, per questo secondo gruppo di materiali, la mancanza di effettiva riferibilità metrologica dei valori assegnati.

Per quanto riguarda la modalità del trattamento dello scostamento sistematico, la soluzione ottimale sarebbe quella indicata dalla GUM (3), cioè di correggerlo, incorporando poi solo l' u addizionale legata a questa correzione, ma spesso questo non è praticamente fattibile e quindi si propone di ammettere la sua inclusione nei calcoli per la stima dell' u (9-11).

Alla luce di tutte queste premesse, il Gruppo di Studio SIBioC - Medicina di Laboratorio Qualità Analitica ha deciso di approcciare la problematica della stima dell' u proponendo una modalità pratica di calcolo basata sul modello "top-down" e di valutarne l'effetto utilizzando dati sperimentali di controllo della qualità analitica provenienti da sistemi analitici di diversi laboratori. Il metodo da noi implementato è stato mutuato da quanto descritto nel NORDTEST report (10). Come riferimento di esattezza abbiamo però scartato *a priori* quello che avrebbe dovuto essere il modello di scelta, cioè l'utilizzo dei risultati della VEQ, poiché abbiamo ritenuto che la bassa numerosità degli esercizi effettuati potesse rendere poco significativa la stima dell'errore sistematico; quindi abbiamo deciso di "contaminare" il modello originale inserendo tre diverse tipologie di riferimenti per valutarne praticabilità e fattibilità. Il primo approccio, quello teoricamente più vicino all'ottimale, è stato quello di utilizzare come riferimento di esattezza il valore assegnato al CRM, fornito dal produttore del sistema analitico; il secondo, quello di utilizzare la media storica di ciascun laboratorio (riferimento relativo); il terzo, quello di utilizzare come riferimento di esattezza la media del gruppo omogeneo del CQA. Nel documento citato (10), la variabilità dello scostamento sistematico viene calcolata a partire dagli scostamenti sistematici rilevati nel corso dei diversi esercizi di VEQ; analogamente noi, utilizzando i dati provenienti dal CQI, abbiamo valutato la variabilità dello scostamento sistematico confrontando le medie mensili del periodo considerato per il calcolo con il valore assegnato dal produttore al CRM oppure con la media "storica" del CQI del laboratorio (ottenuta da almeno 6 mesi di programma) o ancora con la media del gruppo omogeneo del CQA per il mese in questione.

Come detto, in linea teorica l'utilizzo del materiale con valore assegnato dal produttore del sistema analitico rappresenta la scelta più corretta (14, 15), ma sfortunatamente i materiali forniti dai produttori sono privi di un elemento importante, ovvero l' u attorno al valore assegnato dal produttore, che ne limita l'utilizzazione, almeno dal punto di vista teorico. Infatti, per quanto ci è dato conoscere, nonostante l'esplicito requisito della Direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi diagnostici *in vitro* (16), nessuno dei principali produttori di sistemi analitici presenti in Italia fornisce questo dato. D'altra parte, l'intervallo di accettabilità attorno alla

media indicato per questo tipo di materiali è in genere molto ampio, basato su criteri non definiti, e non può quindi essere utilizzato come stima di u (17). La media "storica" del laboratorio, pur essendo un riferimento relativo, presenta alcune caratteristiche interessanti: si tratta di un dato che ogni laboratorio già possiede e che quindi può essere reperito e utilizzato agevolmente da tutti; inoltre, derivando da un lungo periodo di tempo, tiene conto di tutte le possibili variabili, incluse quelle dovute a calibrazioni, che potrebbero avere introdotto scostamenti non rilevabili qualora il laboratorio non avesse implementato una procedura per la quantificazione dello scostamento sistematico. Infine, utilizzando questa procedura, gli eventuali scostamenti evidenziati dal raffronto tra la media storica e le varie medie mensili possono essere assimilati a una dispersione, quindi espressi sotto forma di varianza ed essere inclusi nel calcolo dell' u .

MATERIALI E METODI

Dati utilizzati

I misurandi plasmatici considerati, e i relativi metodi analitici, erano glucosio (esochinasi e glucosio ossidasi) e creatinina (enzimatico e picrato alcalino). I dati utilizzati provenivano dal "database" dell'azienda Bio-Rad Laboratories, che ha fornito i dati del CQA di 19 laboratori per un totale di 10 diversi sistemi analitici (Tabella 1). Sono stati utilizzati solo i dati relativi a materiali con concentrazioni simili, anche se provenienti da lotti o tipologie di controlli diversi [9 laboratori per il glucosio (due livelli), 13 per creatinina livello 1 e 18 per creatinina livello 2]. I dati erano relativi a un intervallo di tempo compreso tra 6 e 12 mesi del 2012.

Sono stati anche raccolti da uno dei laboratori partecipanti i dati relativi a 6 mesi di controlli con il CRM fornito dal produttore del sistema analitico (Beckman Coulter, Control serum 1, cod. ODC0003, lotto 0033).

I dati di ciascun laboratorio sono stati organizzati su base mensile; per ogni livello di concentrazione di analita sono stati tabulati i seguenti dati: prestazioni del laboratorio (media, CV, numero di dati), valore assegnato al materiale, valore nominale, CV, numero laboratori del corrispondente gruppo omogeneo di CQA.

Metodi di calcolo

Per la stima di u , in accordo al NORDTEST report (10), sono state calcolate le due componenti della variabilità, sistematica e casuale, che concorrono all' u .

Componente casuale. Rappresenta la quota di u dovuta all'imprecisione (u_{imp}), calcolata come CV_{pooled} ovvero come media pesata dei CV del laboratorio calcolata su un periodo di almeno 6 mesi, a vari livelli di concentrazione, secondo la formula:

$$u_{imp} = CV_{pooled} = \sqrt{\frac{(n_A - 1) \times CV_A^2 + (n_B - 1) \times CV_B^2 + \dots + (n_i - 1) \times CV_i^2}{(n_A + n_B + \dots + n_i) - n_{periodi}}}$$

Componente sistematica. Rappresenta la quota di u dovuta allo scostamento sistematico (u_{bias}) ed è composta da due parametri:

a) u del valore assegnato come riferimento, che corrisponde all'ES del valore ed è indicata come u_{Cref} . Nel caso dell'utilizzo dei materiali a titolo noto forniti dal produttore, non essendo disponibile questo dato, esso è stato posto uguale a 0. Nel caso dell'utilizzo della media storica come riferimento, u_{Cref} viene calcolata come rapporto tra CV_{pooled} e la radice quadrata del numero medio delle determinazioni mensili considerate:

$$u_{Cref} = \frac{CV_{pooled \text{ Laboratorio}}}{\sqrt{n^\circ \text{ medio determinazioni mensili laboratorio}}}$$

Quando come riferimento è utilizzata la media di gruppo omogeneo del CQA, u_{Cref} è calcolata come rapporto tra la DS del gruppo omogeneo e la radice quadrata del numero medio di laboratori inclusi nel gruppo stesso:

$$u_{Cref} = \frac{DS_{interlab} \text{ media}}{\sqrt{n^\circ \text{ medio}_{lab}}}$$

b) scostamento sistematico ("bias"), indicato come RMS_{bias} , calcolato come "root mean square" (RMS) ovvero radice quadrata della media dei quadrati degli scostamenti sistematici mensili del laboratorio rispetto al valore scelto come riferimento, espresso dalla formula:

$$RMS_{bias} = \sqrt{\frac{\sum (bias_i)^2}{n}}$$

$$\text{Pertanto: } u_{bias} = \sqrt{(RMS_{bias})^2 + (u_{Cref})^2}$$

Dalla radice quadrata della somma delle varianze relative alle componenti casuale e sistematica di u sopra descritte, si ottiene il valore dell'incertezza tipo composta (u_c):

$$u_c = \sqrt{(u_{imp})^2 + (u_{bias})^2}$$

Viene quindi calcolata l'incertezza estesa (U), moltiplicando u_c per il fattore di copertura (k) [2 per un livello di confidenza ($1-\alpha$) pari al 95,5%]. Essa rappresenta l'intervallo entro il quale si trova il valore "vero" del misurando.

Per standardizzare la procedura di tabulazione e l'analisi dei dati e rendere agevole l'esecuzione di tutti i passaggi, è stato realizzato un apposito foglio di calcolo (Microsoft Excel) che, in seguito all'inserimento delle informazioni relative alle caratteristiche del materiale di controllo e alle prestazioni analitiche del laboratorio in esame, è in grado di restituire la stima di U .

Tabella 1*Caratteristiche dei metodi, dei sistemi analitici e dei materiali di controllo utilizzati nello studio*

Laboratorio	Sistema analitico	Materiale utilizzato (lotto)	Glucosio		Creatinina	
			Principio del metodo	Concentrazioni	Principio del metodo	Concentrazioni
LAB1	Abbott Architect c16000	Multiquel (45620)			Enzimatico	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB2	Abbott Architect c8200	Unassayed Chemistry (16620)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB3	Abbott Architect c8000	Multiquel (45640)			Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB4	Abbott Architect c8000	Multiquel (45630)			Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB5	Roche Cobas 8000	Multiquel (45620)			Enzimatico	L1: 0,7 mg/dL
LAB6	Roche Cobas 6000	Multiquel (45620)			Picrato alcalino	L2: 6,0 mg/dL
LAB7	Roche Cobas 6000	Multiquel (45620)			Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB8	Roche Cobas 6000	Unassayed Chemistry (16620)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB9	Roche Cobas 6000	Multiquel (45620)			Picrato alcalino	L2: 6,0 mg/dL
LAB10	Roche Cobas 6000	Multiquel (45620)			Picrato alcalino	L2: 6,0 mg/dL
LAB11	Roche Cobas 6000	Multiquel (45620)			Picrato alcalino	L2: 6,0 mg/dL
LAB12	Roche Modular	Unassayed Chemistry (16620)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato alcalino	L2: 6,0 mg/dL
LAB13	Roche Modular	Multiquel (45620)			Enzimatico	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB14	Beckman Coulter AU2700	Unassayed Chemistry (16620)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB16	Beckman Coulter AU2700	Assayed Chemistry (14400)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato alcalino	L2: 6,0 mg/dL
LAB17	Beckman Coulter AU2700	Unassayed Chemistry (16640)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Enzimatico	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB18	Ortho Vitros 350	Unassayed Chemistry (16620)	Glucosio ossidasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Enzimatico	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB19	Siemens Dimension Vista	Unassayed Chemistry (16620)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL
LAB20	Siemens Advia 2400	Unassayed Chemistry (16620)	Esochinasi	L1: 80 mg/dL L2: 285 mg/dL	Picrato Alcalino	L1: 0,7 mg/dL L2: 6,0 mg/dL

RISULTATI

I valori di U ottenuti in un singolo laboratorio utilizzando i diversi riferimenti, quali valore assegnato al CRM (Beckman Control serum 1), media storica del laboratorio per il materiale di CQI (Bio-Rad Liquicheck) e media del gruppo omogeneo del CQA (Beckman Coulter AU2700, Bio-Rad Liquicheck) sono mostrati nella Figura 1. Mentre per il glucosio l'utilizzo dello scostamento sistematico dal valore assegnato al CRM comportava un incremento di U, soprattutto per il livello a concentrazione fisiologica, nel caso della creatinina si otteneva l'effetto opposto. Una prima spiegazione è data dal fatto che la concentrazione della creatinina nei materiali è diversa per il livello L1 (1,26 mg/dL per il CRM e 0,70 mg/dL per CQI e CQA) e questo può influenzare U. Una seconda possibile ragione potrebbe risiedere nella diversa provenienza e matrice del materiale.

Le Figure 2 e 3 mostrano i valori di U calcolata con due diverse modalità di valutazione dell'effetto dello scostamento sistematico: la media storica del CQI e la media del gruppo omogeneo nel CQA. Per quanto riguarda la glicemia (Figura 2), appare evidente che le due modalità di calcolo dell'U, almeno in alcuni casi (ad es., LAB2, LAB16 e LAB20), comportano risultati sostanzialmente differenti. La concentrazione del glucosio (80 mg/dL nel livello 1 e 285 mg/dL nel livello 2) non sembrava invece comportare significative differenze nella stima di U. L'ambito dei valori di U ottenuti con la prima modalità (media storica del CQI come riferimento per il calcolo dello scostamento sistematico) variava da 2,50% a 4,35% per il livello 1 e da 2,05% a 4,39% per il livello 2. Usando nel calcolo lo scostamento sistematico dalla media del gruppo omogeneo del CQA i valori di U si incrementavano e l'ambito di U diventava 2,84%-5,01% per il livello 1 e 3,13%-4,74% per il livello 2.

Per quanto riguarda la creatininemia a concentrazioni fisiologiche (~0,70 mg/dL) (Figura 3A), i valori di U derivati con la media storica del CQI nei diversi laboratori variavano da 4,15% a 12%. Per i materiali a concentrazione elevata (~6,00 mg/dL) i valori di U risultano nettamente inferiori (da 2,59% a 7,64%), anche se con grandi variazioni tra i diversi laboratori. Anche nel caso della creatinina, l'utilizzo della media del gruppo omogeneo del CQA comportava un incremento della stima di U, in alcuni casi molto marcato (ad es., LAB5 per il livello 1 e LAB16 per il livello 2), con valori di U che variavano da 5,4% a 16% per il livello 1 e da 2,84% a 9,07% per il livello 2.

DISCUSSIONE

Le modalità operative per il calcolo di u costituiscono il limite principale all'applicazione su larga scala di questo approccio di valutazione della qualità analitica. In questo lavoro, anche se un'ipotesi operativa è stata proposta, i risultati che abbiamo ottenuto non consentono purtroppo di fornire indicazioni definitive, poichè manca un riferimento completamente affidabile per quanto riguarda la stima dello scostamento

sistematico (e quindi per la sua eventuale correzione). A questo proposito, come indicato da Braga e Panteghini (15), il presupposto fondamentale dovrebbe essere quello che il produttore dei sistemi analitici abbia la responsabilità di fornire un sistema privo di scostamento sistematico (attraverso una corretta applicazione della catena della riferibilità metrologica) e il laboratorio abbia il compito di mantenere il sistema in condizioni tali da evitare che insorgano errori sistematici. Tuttavia, ciò che manca a tutt'oggi è lo strumento chiave per poter effettuare questa operazione, cioè i materiali forniti dal produttore con valore certificato e relativa u. In particolare, utilizzare questi materiali come riferimento di esattezza costringe a non poter includere nel calcolo tutte le componenti di variabilità che contribuiscono a incrementare l'u, poichè il valore assegnato non è accompagnato dal relativo dato di u. Questo aspetto può essere considerato secondario, in quanto verosimilmente questa componente dovrebbe essere modesta.

Dai dati ottenuti derivano importanti considerazioni. In primo luogo la distribuzione dei valori di U appare molto ampia, soprattutto per la creatininemia, dove alcuni laboratori hanno valori 3 volte superiori rispetto ad altri. Dato che i risultati sono calcolati in modo omogeneo e su una base di dati molto simile (anche se i materiali di controllo non sono gli stessi per tutti i laboratori), le informazioni che ne derivano relativamente alla qualità delle prestazioni dei laboratori sono particolarmente interessanti e indicano come ci sia ancora molto spazio di miglioramento per arrivare a prestazioni più omogenee.

La relazione di U con il livello di concentrazione dipende probabilmente dall'analita. Questo è molto

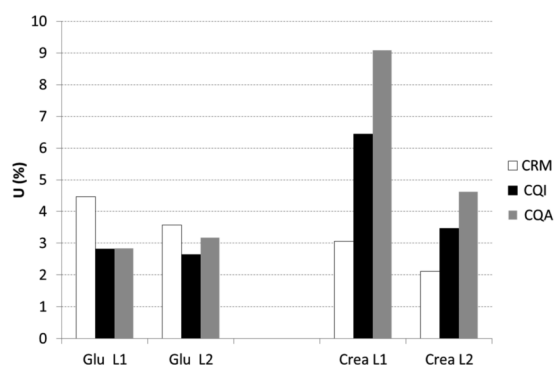


Figura 1

Stime di incertezza estesa (U) in percentuale per la misura di glucosio (Glu) e creatinina (Crea) ottenute in un singolo laboratorio in base al tipo di riferimento utilizzato per la valutazione dello scostamento sistematico.

CRM indica che lo scostamento sistematico è stato calcolato rispetto al valore assegnato dal produttore al materiale di controllo del sistema analitico; CQI indica che lo scostamento è stato calcolato prendendo come riferimento la media storica del materiale usato per il CQI; CQA indica che lo scostamento sistematico è stato calcolato rispetto alla media del gruppo omogeneo del CQA. L1 e L2 indicano i livelli di concentrazione dei materiali (vedi Tabella 1, LAB17).

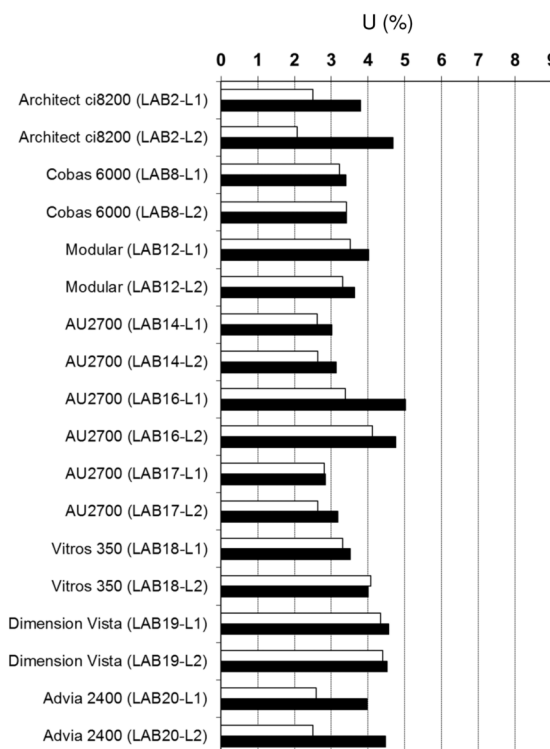


Figura 2
 Stima dell'incertezza estesa (U) della misura del glucosio plasmatico per i laboratori valutati suddivisi per sistema analitico. L1 e L2 indicano i livelli di concentrazione dei materiali di controllo utilizzati. Le colonne vuote indicano U calcolata utilizzando la media storica del CQI come riferimento, le colonne piene indicano U calcolata utilizzando come riferimento la media del gruppo omogeneo del CQA.

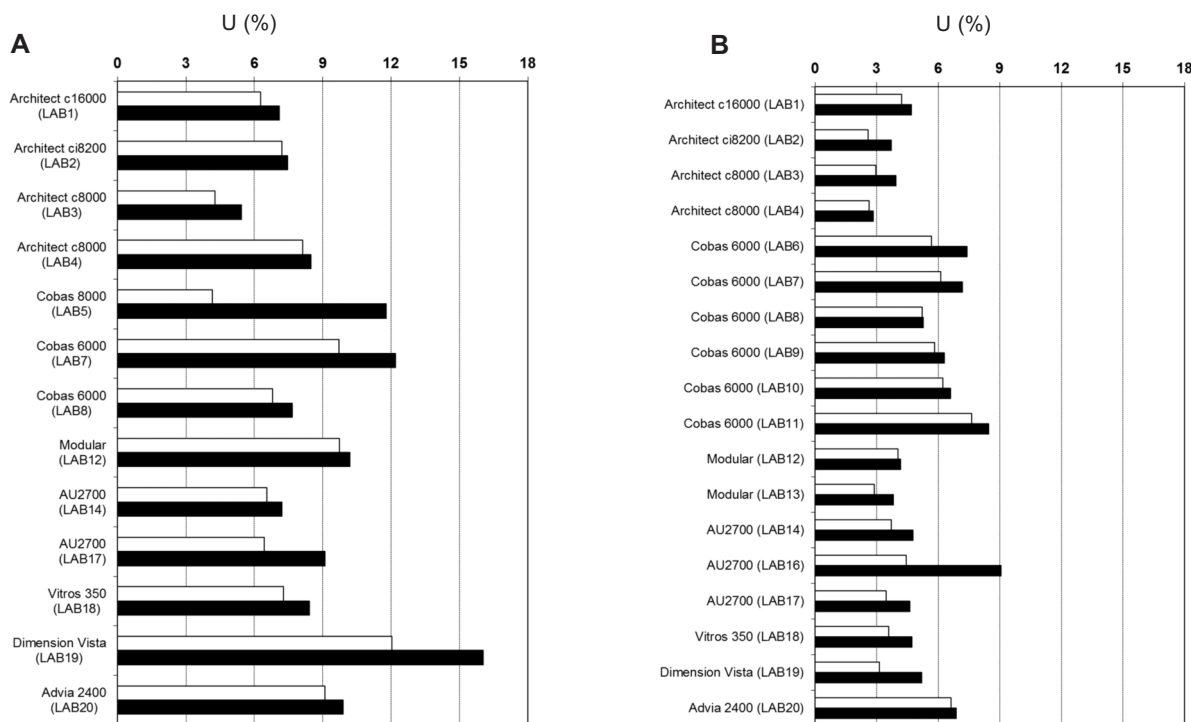


Figura 3
 Stima dell'incertezza estesa (U) della misura della creatinina plasmatica per i laboratori valutati suddivisi per sistema analitico. A) U stimata col materiale L1 (0,70 mg/dL); B) U stimata col materiale L2 (6,00 mg/dL). Le colonne vuote indicano U calcolata utilizzando la media storica del CQI come riferimento, le colonne piene indicano U calcolata utilizzando come riferimento la media del gruppo omogeneo del CQA.

evidente per la creatinina, data anche la grande differenza in concentrazione tra i livelli dei materiali di controllo (~10 volte tra L1 e L2).

Come detto, il problema principale per il calcolo dell'u è dato dalla stima dello scostamento sistematico, poiché non è praticamente mai disponibile una stima affidabile del valore "vero" (materiale commutabile con valore assegnato con metodo di riferimento) e quindi si deve necessariamente ricorrere a compromessi. I CRM forniti dalla ditta produttrice del sistema analitico, come detto sopra, dovrebbero rappresentare la miglior opzione possibile del valore atteso per quel dato sistema analitico (15). Se la ditta produttrice fornisce il dato di u attorno al valore assegnato, il modello di calcolo qui sviluppato potrebbe essere facilmente applicato. Un possibile surrogato di questa informazione potrebbe essere il valore di U attribuito al calibratore del sistema analitico. Ci sono però una serie di problemi, sia di tipo concettuale che pratico, che ci hanno indotto a non adottare questa opzione. In primo luogo il modello che proponiamo per il calcolo dell'incertezza è di tipo "top-down" e quindi l'eventuale scostamento sistematico introdotto dal calibratore dovrebbe essere rilevabile dalla misura del materiale a titolo noto o dagli spostamenti della media mensile rispetto a quella storica, mentre l'introduzione dell'u legata al calibratore sarebbe un elemento da inserire in un modello "bottom-up" di valutazione dell'u. In secondo luogo non è sempre chiaro se il valore di u fornito dal calibratore rappresenti l'u_c (che tiene quindi conto di tutte le fasi di sviluppo della catena della tracciabilità) o meno (15). In terzo luogo, e questo rappresenta il problema più rilevante nel nostro sistema di calcolo, la concentrazione del calibratore è in genere unica e differente da quella dei materiali di controllo utilizzati per il calcolo della componente casuale dell'u e quindi questo dato sarebbe approssimativo rispetto agli altri.

L'utilizzo di un sistema chiuso (sistema analitico, reattivi, calibratori e controlli dello stesso produttore) espone al rischio di non accorgersi di una deriva complessiva del sistema, evidenziando pertanto la necessità di affiancare materiali di CQI di parte terza (1). Un compromesso a nostro avviso praticabile, in assenza di CRM, è l'utilizzo del dato della media storica, partendo dal presupposto che, prima dell'attivazione di una data analisi, il sistema analitico sia stato allineato al meglio rispetto a quanto indicato dal produttore. Naturalmente si tratta di un riferimento relativo, che si basa sull'assunto che il produttore abbia fatto tutto il necessario per garantire la riferibilità dei risultati al sistema di misura di riferimento, in accordo con la Direttiva Europea 98/79 sui dispositivi medico-diagnostici *in vitro* (16).

Come valore di riferimento abbiamo voluto anche provare a utilizzare la media del gruppo omogeneo del CQA. Questo valore, che in teoria dovrebbe essere robusto (in quando spesso deriva da varie centinaia di dati), è tuttavia criticabile: l'effettiva omogeneità del gruppo è infatti questionabile, data la probabile coesistenza di vari lotti di calibratore e di reattivi; i partecipanti poi potrebbero non dichiarare in modo corretto il metodo/sistema analitico utilizzato, potrebbero

inviare dati non corretti e, infine, potrebbero non essere rilevati errori dovuti all'utilizzo di reattivi difettosi, a causa del fatto che non verrebbero evidenziati degli scostamenti, poiché tutto il gruppo, commettendo lo stesso errore, risulterebbe comunque allineato.

Come riferimento potrebbero essere in teoria utilizzati i risultati della VEQ, ma, data la scarsa qualità media dei materiali forniti e la bassa numerosità dei dati, questo approccio non appare consigliabile, per lo meno nella situazione attuale.

Merita, infine, una riflessione la necessità di confrontare i valori di U ottenuti con i traguardi di qualità analitica. Con il modello da noi proposto, lo scostamento sistematico viene incluso nel calcolo, in quanto la sua valutazione è fatta a posteriori e non viene corretto. In questo caso il termine di confronto è quindi rappresentato dal massimo errore totale accettabile. Se invece per il calcolo dell'u non si tiene conto dello scostamento sistematico, o perché corretto *a priori* o perché considerato ininfluenza in quanto non viola limiti predefiniti, il termine di paragone con il quale raffrontarsi potrebbe essere il traguardo di imprecisione. In base ai dati riportati nel "database" di Ricos et al. (18) (glicemia: 2,80% e 6,96%, creatininemia 2,98% e 8,87%, come traguardi di imprecisione e, rispettivamente, di errore totale) si può notare come per il glucosio solo una minoranza dei laboratori valutati abbiano valori di U inferiori al traguardo di imprecisione desiderabile, ma tutti siano nettamente entro il traguardo definito dall'errore totale accettabile. Nel caso della creatinina, invece, il valore di U è entro il traguardo di imprecisione solo per alcuni laboratori e solo per la concentrazione elevata, mentre per la concentrazione fisiologica, quella più rilevante dal punto di vista clinico, solo 8 laboratori su 13 hanno U inferiore all'errore totale accettabile. Ciò indicherebbe che una buona frazione dei laboratori esaminati in questo studio non è in grado di garantire che i risultati ottenuti rispettino le specifiche di qualità per l'applicazione clinica delle misure.

Il metodo proposto per la stima dell'u, facilmente implementabile con un foglio elettronico impiegando dati già a disposizione del laboratorio, costituisce un approccio semplice e standardizzato per l'utilizzo nella pratica quotidiana. I valori di U ottenuti possono essere utilizzati per la definizione della differenza critica fra misurazioni seriate nello stesso paziente (19). Un ulteriore uso è come strumento per verificare che i traguardi di qualità analitica, definiti sulla base della variabilità biologica o su criteri clinici, siano rispettati. L'U calcolata indica l'ambito entro cui, con la probabilità del 95%, si viene a trovare il valore dell'analita; se questo ambito è superiore alle specifiche (come abbiamo visto succedere in un certo numero di casi nel piccolo campione di laboratori presi in esame) potrebbe essere compromessa la significatività clinica dei risultati ottenuti con il sistema analitico in uso.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Ceriotti F. L'importanza della qualità analitica. *Biochim Clin* 2013;37:452-3.
2. Westgard JO. Managing quality vs measuring uncertainty in the medical laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:31-40.
3. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf.
4. Dybkaer R. Setting quality specifications for the future with newer approaches to defining uncertainty in laboratory medicine. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:579-84.
5. ISO 15189:2013. Medical laboratories - Requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva, Switzerland: ISO, 2012.
6. Rozet E, Marini RD, Ziemons E, et al. Total error and uncertainty: Friends or foes? *Trends in Analytical Chemistry* 2011;30:797-806.
7. Ferrari D. Qualità nella misurazione. Introduzione alla metrologia e guida applicativa. Milano: Franco Angeli Editore, 2005.
8. Guerra E, Ceriotti F. Calcolo dell'incertezza nella determinazione dell'attività catalitica della γ -glutamyltransferasi: confronto fra tre approcci. *Biochim Clin* 2010;34:259-64.
9. Eurolab Technical Report No. 1/2007 – Measurement uncertainty revisited: alternative approaches to uncertainty evaluation. http://www.eurolab.org/documents/Technical_Report_Measurement_Uncertainty_2007.pdf
10. Magnusson B, Naykki T, Hovind H, et al. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. NORDTEST Report TR 537 – 2003-05.
11. Moses G, Crawford L. Traceability and measurement uncertainty for medical laboratories - Quality management program - Laboratory services. Ontario Laboratory Accreditation 2011, Version 1.0
12. White GH. Basics of estimating measurement uncertainty. *Clin Biochem Rev* 2008;29(suppl):S53-60.
13. CLSI. Statistical quality control for quantitative measurements procedures: principles and definitions; Approved guideline – 3rd ed. CLSI document C24-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
14. Infusino I, Panteghini M. Stima dell'incertezza di una misurazione: la riferibilità metrologica ci salverà? *Biochim Clin* 2010;34:245-6.
15. Braga F, Panteghini M. Verifica della riferibilità metrologica dei dispositivi medico-diagnostici in vitro: responsabilità e strategie. *Biochim Clin* 2013;37:470-8.
16. Direttiva 98/79/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 27 Ottobre 1998 relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee* 07.12.1998, L331:1-37.
17. Ottomano C. Current pitfalls of control materials: the way forward. *Biochim Clin* 2013;37:S83.
18. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Expression of measurement uncertainty in laboratory medicine. Approved guideline. CLSI Document EP29-A, Wayne, PA: CLSI, 2012.