Calcolo dell'incertezza nella determinazione dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi: confronto fra tre approcci*

Elena Guerra, Ferruccio Ceriotti
Diagnostica e Ricerca San Raffaele, Istituto Scientifico Universitario San Raffaele, Milano

ABSTRACT

Calculation of the uncertainty related to the measurement of γ-glutamyltransferase: comparison of three different approaches. The calculation of the uncertainty of measurement is a mandatory requirement for a reference laboratory, but it would also be requested for any clinical laboratory seeking for accreditation according to ISO 15189:2007 standard. This study compares three different approaches for the calculation of the uncertainty related to the measurement of the catalytic activity of γ-glutamyltransferase, performed with the IFCC reference procedure. The first approach was based on the "Guide to the expression of uncertainty in measurement" (GUM), whereas the other two approaches derived from the "Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories". Using GUM, all the sources of uncertainty were identified and their contribution to the final measurement uncertainty was calculated using literature data or *ad hoc* experiments. Wavelength setting resulted the major uncertainty contributor, while the effect of pH was relevant only when using quality control materials. The calculated expanded uncertainty was 4.34%. In the second approach, we estimated the uncertainty by using the imprecision data from the long term IQC and the data obtained from an EQAS. Using the proposed calculation, the expanded uncertainty resulted 7.06%. The third approach relied on the data obtained with repeated measurements of the certified reference material ERM-AD452/IFCC. Using these data, the expanded uncertainty resulted 3.92%. In conclusion, approaches one and three gave similar figures, with estimated uncertainties of ~4.0%, while the data derived with the second approach were biased by the results of EQAS that likely utilized non commutable materials, thus amplifying a bias source (pH) that is negligible when real patient samples are used.

INTRODUZIONE

Il concetto di incertezza della misura è stato introdotto nella letteratura scientifica in anni relativamente recenti (1). La sua definizione, presente nella precedente edizione dell'"International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology" (VIM), era la seguente: "Il parametro, associato al risultato di una misura, che caratterizza la dispersione dei valori che possono ragionevolmente essere attribuiti al misurando" (2). Questa definizione è stata di recente modificata, anche se non in maniera sostanziale, nell'ultima edizione del VIM stesso in: "Non-negative parameter characterizing the dispersion of the quantity values being attributed to a measurand, based on the information used" (3). In generale, dato che ogni misura rappresenta una stima del valore vero attribuibile al misurando, essa può essere considerata completa solo quando è accompagnata dal dato relativo all'incertezza associata alla misura stessa. Quindi il calcolo dell'incertezza di misura è un requisito fondamentale per un laboratorio di riferimento, ma la sua indicazione ("quando importante e possibile") è richiesta anche ai laboratori clinici che vogliano accreditarsi secondo lo standard ISO 15189:2007 (paragrafo 5.6.2) (4).

Se ci sono pochi dubbi sull'importanza di conoscere l'incertezza di una misura, qualche dubbio è stato espresso sull'opportunità dell'applicazione di questo concetto alle misurazioni eseguite nei laboratori clinici, soprattutto legato alla difficoltà pratica di definire questo parametro e alle modalità di trattamento dell'errore sistematico (5, 6). Un apposito documento ["Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement" (GUM)] descrive le modalità con cui calcolare l'incertezza della misura (7). Il modello di calcolo dell'incertezza proposto dal GUM è definito "bottom-up", perché, partendo dal basso, richiede l'identificazione di tutte le cause che contribuiscono in modo significativo all'incertezza associata a una determinata misura, la loro quantificazione sotto forma di DS, il calcolo di coefficienti di sensibilità per definirne l'impatto sul risultato finale e infine la loro somma per ottenere l'incertezza combinata standard (u_c). Come appare anche da questa sintetica descrizione, il modello è particolarmente complesso ed è difficile immaginare che possa essere utilizzato come tale per un ampio numero di metodi nei laboratori clinici. Sono stati anche proposti approcci alternativi che seguono la strada opposta ("top-down"), partendo da una serie di informazioni già disponibili, relative a imprecisione e inesattezza,

Questo lavoro è stato in parte presentato al 41° Congresso Nazionale SIBioC, 27-30 ottobre 2009, Napoli (Biochim Clin 2009;33:507).

per combinarle a definire l'incertezza (8, 9).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di confrontare diverse possibilità per il calcolo dell'incertezza, la prima basata sul classico approccio del GUM e le altre due basate su quanto indicato nel "Nordtest report" (8), applicate alla misura della concentrazione di attività catalitica della γ-glutamiltransferasi (GGT) nel siero effettuata con il metodo di riferimento IFCC (10).

MATERIALI E METODI

Valutazione dell'incertezza secondo GUM (7)

Le fonti principali di variabilità che influenzano la misura finale dell'attività catalitica della GGT eseguita mediante procedura di riferimento sono riportate nella Figura 1 (11). Parte delle informazioni necessarie, relative ad assorbanza, massa dei reagenti, apparati volumetrici e caratteristiche dei reattivi sono state ottenute dai produttori o dai dati derivati dalle periodiche operazioni di taratura (incertezza di tipo B[1]). Per valutare l'effetto sull'incertezza del risultato finale introdotta da variazioni di pH, lunghezza d'onda e temperatura (coefficienti di sensibilità) sono stati effettuati appositi esperimenti, analizzando due differenti materiali [un pool di sieri umani con un'attività catalitica di ~140 U/L e un materiale liofilo utilizzato in una VEQ per laboratori di riferimento (RELA-IFCC EQAS for Reference Laboratories in Laboratory Medicine sample B 2008, attività catalitica ~190 U/L)] e modificando di volta in volta le condizioni sperimentali rispetto a quelle indicate per la procedura di riferimento della GGT (10). Le misurazioni sono state effettuate su spettrofotometro Uvikon 940 (Kontron).

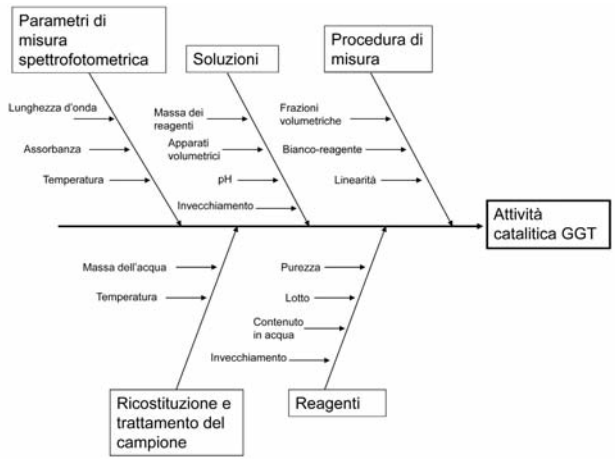


Figura 1
Principali fonti di incertezza della misura dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi (GGT) mediante procedura di riferimento.

Valutazione dell'incertezza dai dati del controllo di qualità

Seguendo le indicazioni di Magnusson et al. (8) è stata calcolata l'incertezza utilizzando i dati di CQI e VEQ. In particolare, per ricavare l'imprecisione sono stati utilizzati i dati ottenuti con le misurazioni di un pool di siero umano avente attività catalitica media di 44,3 U/L, conservato in aliquote a -80 °C. Il pool è stato analizzato in duplicato durante ogni seduta analitica per un periodo di tempo di 9 anni (totale sedute, 43). Il dato relativo allo scostamento sistematico ("bias") è stato calcolato mediante la misurazione di due materiali di controllo liofilizzati (RELA A e B) analizzati in 5 anni durante la sopracitata VEQ per laboratori di riferimento. Ogni materiale era misurato in triplicato in ogni seduta analitica per tre giorni consecutivi. Come valore di riferimento rispetto a cui calcolare il "bias" è stata utilizzata la media calcolata su tutti i risultati forniti dai laboratori partecipanti alla VEQ.

Valutazione dell'incertezza dall'analisi di un materiale di riferimento

In questo caso, l'incertezza è stata calcolata utilizzando i dati di imprecisione e scostamento ottenuti attraverso l'analisi ripetuta nell'arco di 8 anni del materiale di riferimento certificato ERM-AD452/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements), sempre seguendo le indicazioni di Magnusson et al. (8).

RISULTATI

La Tabella 1 riporta i coefficienti di sensibilità (ricavati sperimentalmente o desunti dalla letteratura) e i valori di incertezza standard relativa utilizzati per il calcolo dell'incertezza espansa secondo GUM. A parte il dato riguardante la ripetibilità, già espresso in termini di DS relativa, tutti gli altri dati sono stati trasformati in termini di DS [colonna u(x)] supponendo una distribuzione dei valori di tipo rettangolare e quindi dividendo il valore di incertezza per radice quadrata di 3 (7). I coefficienti di sensibilità sono fattori moltiplicativi (ottenuti sperimentalmente per lunghezza d'onda, pH, temperatura e concentrazione reagenti), che indicano il peso dell'influenza di quella particolare variabile sul risultato finale. Eccezion fatta per quello relativo alla concentrazione dei reattivi (G. Schumann, comunicazione personale), per ottenere questi coefficienti sono stati eseguiti tre specifici esperimenti variando la lunghezza d'onda da 408 a 412 nm (Figura 2), la temperatura da 36 °C a 38 °C (Figura 3) e il pH da 7,6 a 8,4 (Figura 4). L'effetto della variazione di lunghezza d'onda e temperatura è analogo per pool di sieri e materiale di controllo liofilo, mentre molto diverso è l'effetto riscontrato nel caso del pH. Ciò fa sospettare problemi di commutabilità del materiale liofilo. Per il calcolo dei coefficienti di sensibilità riportati nella Tabella 1

[1]Il VIM (3) definisce come incertezza di tipo B tutte le fonti di incertezza che non sono state ottenute mediante analisi statistica di specifiche prove sperimentali, ma derivano da dati già esistenti (ad es. certificati dei materiali di riferimento, certificati di calibrazione della strumentazione, classe di accuratezza della vetreria, ecc.)

Tabella 1
Risultati utilizzati per il calcolo dell'incertezza espansa secondo GUM nella misurazione dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi con procedura di riferimento IFCC

Parametro	Incertezza[a]	u(x)[b]	Coefficiente di sensibilità	Incertezza standard relativa	Varianza
Lunghezza d'onda	1 nm	0,58 nm	3,30	1,914%	3,66%
Assorbanza	0,20%	0,12%	1	0,12%	0,01%
pH	0,05 U	0,029 U	0,022	0,06%	0,00%
Temperatura	0,1 °C	0,06 °C	0,03	0,17%	0,03%
Volumi	0,50%	0,29%	1	0,29%	0,08%
Concentrazione reagenti	1,50%	0,87%	0,17	0,15%	0,02%
Lotto reagenti	1,50%	0,87%	1	0,87%	0,76%
Ripetibilità	0,36%	0,36%	1	0,36%	0,13%
				Totale	4,70%

[a]Questa colonna riporta il dato, in valore assoluto, di massima incertezza accettabile indicato nella procedura di riferimento (lunghezza d'onda, pH, temperatura) (10), dai produttori (assorbanza, volumi) o ottenuto sperimentalmente (concentrazione e lotto reagenti, ripetibilità).
[b]DS relativa.

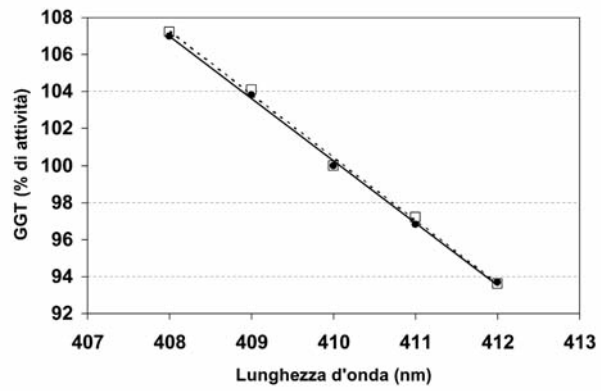


Figura 2
Misura dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi (GGT) mediante metodo di riferimento: effetto della variazione della lunghezza d'onda su due diversi tipi di campione misurati: quadrato, materiale di controllo liofilo; cerchio, pool di sieri congelato. Ciascun punto rappresenta la media di 3 replicati.

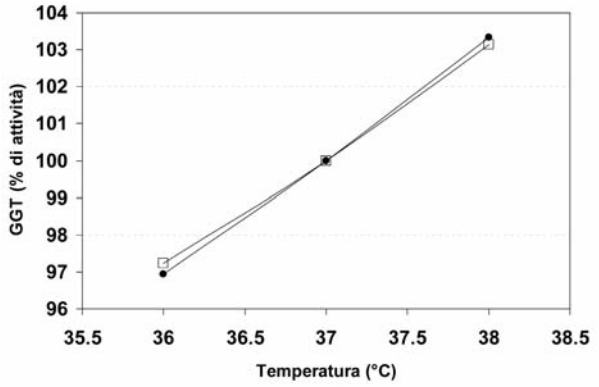


Figura 3
Misura dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi (GGT) mediante metodo di riferimento: effetto della variazione della temperatura su due diversi tipi di campione misurati: quadrato, materiale di controllo liofilo; cerchio, pool di sieri congelato. Ciascun punto rappresenta la media di 3 replicati.

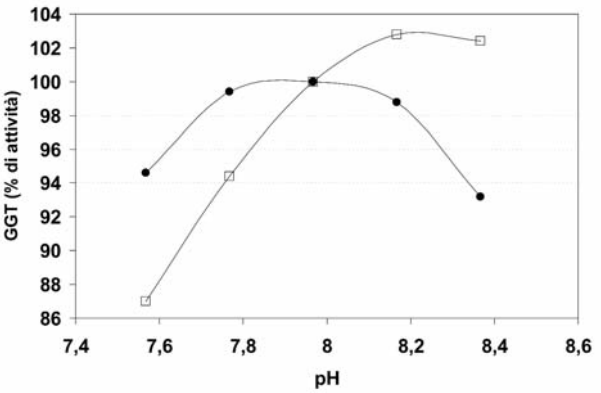


Figura 4
Misura dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi (GGT) mediante metodo di riferimento: effetto della variazione di pH su due diversi tipi di campione misurati: quadrato, materiale di controllo liofilo; cerchio, pool di sieri congelato. Ciascun punto rappresenta la media di 3 replicati.

sono stati utilizzati solo i dati ottenuti sul pool di sieri. Tali coefficienti sono stati ottenuti mediante interpolazione lineare e indicano la variazione percentuale del risultato finale causata da variazioni di 1 nm nella selezione della lunghezza d'onda, di 0,1 °C di temperatura e di 0,1 U di pH. La radice quadrata della somma dei quadrati delle incertezze standard relative (varianze), ottenute dopo la moltiplicazione di u(x) per i coefficienti di sensibilità, costituisce l'u_c (2,17%). Moltiplicando u_c per il fattore di copertura k = 2 si ottiene il valore dell'incertezza espansa (4,34%).

La Tabella 2 evidenzia i passaggi necessari all'ottenimento del valore di incertezza espansa utilizzando i dati del CQI ed i risultati della VEQ. Il dato deriva dalla combinazione dell'incertezza legata alla riproducibilità intralaboratorio [u(Rw)], ottenuta come CV su una media di 43 misurazioni replicate di un pool di sieri, e dell'incertezza legata agli scostamenti percentuali calcolati nella valuta-

zione inter-laboratorio su due materiali VEQ nel corso di 5 anni. Il dato relativo al "bias" di metodo e di laboratorio è ottenuto calcolando la radice quadrata del valore medio dei quadrati dei singoli "bias" calcolati come differenza percentuale tra valore ottenuto e valore medio dei risultati di tutti i partecipanti alla VEQ. La Figura 5 mostra i risultati ottenuti nella VEQ rispetto al valore medio di riferimento. La componente relativa all'incertezza del valore assegnato ai materiali di controllo [u(Cref)] è calcolata dall'ES medio inter-laboratorio. Con questo metodo, l'incertezza espansa risultava pari a 7,06%.

La Tabella 3 illustra i passaggi per il calcolo dell'incertezza con il terzo approccio, che utilizzava i dati ottenuti con la misurazione ripetuta del materiale di riferimento ERM-AD452/IFCC. La componente dovuta all'imprecisione [u(Rw)] era ottenuta calcolando la media delle DS di tutte le serie analitiche effettuate, espressa rispetto alla media generale. L'incertezza legata al "bias" è rappresentata da tre componenti: il "bias" vero e proprio, calcolato come scarto percentuale dal valore target del materiale (114,1 U/L), la variabilità del "bias", calcolata come DS di tutti gli scostamenti ottenuti fratto la radice quadrata del numero di misure e infine l'u(Cref) ottenuta dall'incertezza del valore certificato (2,4 U/L) dal produttore del materiale. La Figura 6 mostra gli scostamenti percentuali ottenuti rispetto al valore certificato del materiale di riferimento.

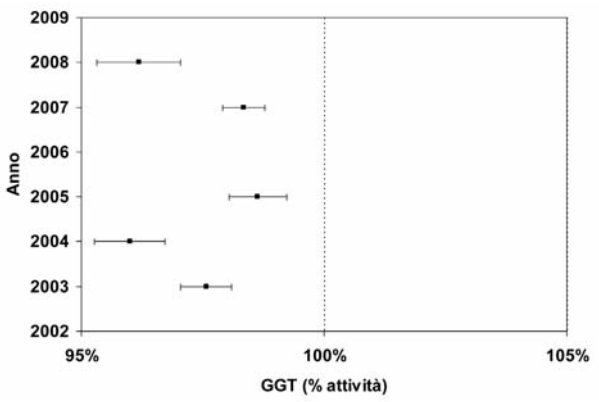


Figura 5
Scostamenti in percentuale ottenuti durante la partecipazione al RELA-IFCC EQAS for Reference Laboratories in Laboratory Medicine.
Ciascun punto rappresenta la media (±DS) di 18 risultati (9 per ciascuno dei due materiali di controllo misurati ogni anno). I risultati dei due materiali sono stati cumulati perché hanno sempre mostrato un "bias" molto simile. Il 100% di attività enzimatica indica il valore corrispondente alla media dei valori ottenuti da tutti i laboratori partecipanti.

DISCUSSIONE

La conoscenza dell'incertezza di una misura eseguita in laboratorio rappresenta una grande opportunità per migliorare la qualità del servizio offerto, aggiungendo ulteriore valore al risultato prodotto. Tuttavia, la complessità del modello matematico da utilizzare per il suo calcolo, la difficoltà nel reperire le informazioni necessarie e l'abitudine all'impiego dell'errore totale come sinonimo di qualità analitica del dato rende faticosi l'acquisizione e l'impiego del concetto di incertezza nella pratica clinica (12).

Tabella 2
Calcolo dell'incertezza espansa nella misurazione dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi con procedura di riferimento IFCC utilizzando i dati di CQI e VEQ

Azione	Risultato
Quantificare l'incertezza legata alla riproducibilità intra-laboratorio (CV% del CQI) [u(Rw)]	u(Rw) = 1,87%
Quantificare l'incertezza legata al "bias" di metodo e di laboratorio (dati VEQ):	
"Bias" medio [Root Mean Square bias (RMS_{bias})] $\sqrt{\frac{\sum(bias_i)^2}{n}}$	RMS_{bias} = {[(-2,37%)^2 + (-2,48%)^2 + (-3,93%)^2 + (-3,94%)^2 + (-1,34%)^2 + (-1,39%)^2 + (-1,55%)^2 + (-1,76%)^2 + (-3,85%)^2 + (3,79%)^2]/10}^{0,5} = 2,85%
Incertezza del valore assegnato ai materiali di controllo = DS inter-laboratorio media/√n medio dei laboratori partecipanti [u(Cref)]	u(Cref) = 3,20%/12,2^{0,5} = 0,92%
Conversione dei componenti legati al "bias" in incertezza standard relativa [u(bias)]	u(bias) = (2,85^2 + 0,92^2)^{0,5} = 2,99%
u(bias) = $\sqrt{RMS_{bias}^2 + u(Cref)^2}$	
Calcolo dell'incertezza combinata standard	u_c = (2,99^2 + 1,87^2)^{0,5} = 3,53%
u_c = $\sqrt{u(bias)^2 + u(Rw)^2}$	
Calcolo dell'incertezza espansa (Un)	Un = 3,53% x 2 = 7,06%
Un = k x u_c, con k = 2	

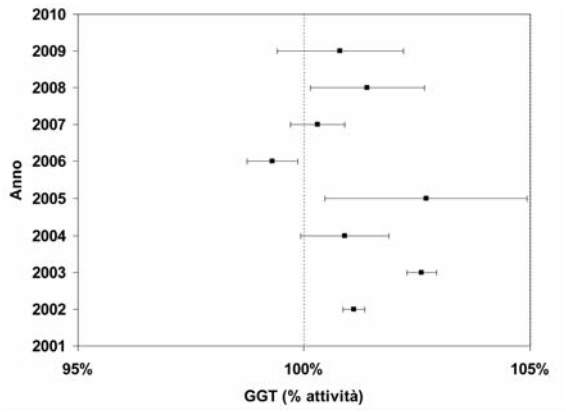


Figura 6
Risultati ottenuti nella misurazione del materiale di riferimento ERM-AD452/IFCC (valore assegnato, 114,1 U/L).
Ciascun punto rappresenta la media (±DS) dei risultati ottenuti in ciascun anno solare (da 3 a 6 valori per anno, ciascuno ottenuto in tre serie analitiche eseguite in giorni consecutivi).

L'errore totale analitico è definito come la somma di errore casuale (sinonimo di imprecisione) e di errore sistematico (sinonimo di "bias") e la formula matematica di calcolo è una combinazione lineare di "bias" e di un multiplo della DS. Una delle basi della teoria dell'incertezza è, tuttavia, che le procedure impiegate nei laboratori clinici debbano essere prive di significativo "bias" ("unbiased") (13). E questo è quello che ne può rendere problematica l'applicazione (6). Se nel modello dell'errore totale il "bias" è semplicemente stimato e sommato, nel modello di calcolo dell'incertezza il "bias", se noto, è corretto, prendendo in considerazione l'incertezza della stima del "bias" e della correzione applicata. I due approcci sono chiaramente differenziabili quando il valore di riferimento ("vero") è definito in modo chiaro e la componente sistematica dell'errore è facile da calcolare; tuttavia, questa condizione non è frequente e, spesso, la correzione del "bias" può comportare un errore analogo al "bias" stesso. Per far fronte a questo tipo di problemi, White e Farrance hanno suggerito una valutazione di incertezza non strettamente GUM-dipendente (14). Questi Autori hanno proposto di utilizzare come fonte di incertezza legata all'imprecisione il valore di DS o CV, calcolato sui dati di un CQI per un periodo di tempo minimo di 6 mesi fino ad almeno un anno e, come unica fonte di incertezza legata ad un possibile scostamento sistematico, l'incertezza del valore assegnato al calibratore del sistema analitico utilizzato.

Il problema fondamentale nella valutazione dell'incertezza è quindi quello della definizione del "bias" e delle modalità utilizzate per la sua eliminazione. Nell'impiego di un metodo di riferimento per la misura dell'attività catalitica di un enzima non è previsto l'uso di un calibratore (15). Nel momento in cui si riscontri la presenza di un "bias" (durante la partecipazione ad un programma di VEQ o analizzando un materiale di riferimento), l'unica possibilità è analizzare tutte le fonti di variabilità per individuare quella all'origine dello stesso. Per questo motivo, l'approccio GUM alla definizione dell'incertezza è di fatto un passaggio obbligato nel corso della messa a punto della procedura di riferimento (11). Nel nostro lavoro, il fatto che i risultati ottenuti con l'approccio "top-down",

Tabella 3
Calcolo dell'incertezza espansa nella misurazione dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi con procedura di riferimento IFCC utilizzando i dati ottenuti dalla misurazione del materiale di riferimento ERM-AD452/IFCC (valore assegnato, 114,1 U/L ± 2,4 U/L)

Azione	Risultato
Quantificare l'incertezza legata alla riproducibilità intra-laboratorio $u(Rw) = \frac{\sum DS}{\frac{n}{=}} \cdot 100$	u(Rw) = 1,13%
Quantificare "bias", DS dei "bias" e incertezza del valore certificato [u(Cref)]	"bias" = 1,13% (valore medio ottenuto vs. certificato, 115,4 U/L vs. 114,1 U/L) $s_{bias} = DS_{bias}$ (1,1%, 2,6%, 0,9%, 2,7%, -0,7%, 0,3%, 1,4%, 0,8%) = 1,14% u(Cref) = (2,4 U/L/2)/114,1 U/L = 1,05%
Conversione dei componenti legati al "bias" in incertezza standard relativa [u(bias)] $u(bias) = \sqrt{(bias)^2 + \left(\frac{s_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u(Cref)^2}$	$u(bias) = (1{,}13^2 + (1{,}14/8^{0{,}5})^2 + 1{,}05^2)^{0{,}5} = 1{,}60\%$
Calcolo dell'incertezza combinata standard $u_c = \sqrt{u(bias)^2 + u(Rw)^2}$	$u_c = (1{,}60^2 + 1{,}13^2)^{0{,}5} = 1{,}96\%$
Calcolo dell'incertezza espansa (Un) Un = k x u_c con k = 2	Un = 1,96% x 2 = 3,92%

basato sulla misurazione ripetuta del materiale di riferimento, siano simili a quelli ottenuti con l'approccio GUM (3,92% vs. 4,34%) dimostra che effettivamente tutte le principali componenti di variabilità erano state prese in esame. Il risultato non congruente (incertezza espansa del 7,0%) ottenuto con il secondo approccio ha probabilmente più spiegazioni. In primo luogo, le Figure 5 e 6, che mostrano scostamenti di segno opposto, evidenziano una dipendenza degli stessi dal materiale utilizzato. A nostro giudizio, i dati riportati nella Figura 6 sono più credibili per due motivi principali: il valore di riferimento utilizzato è stato assegnato al materiale ERM-AD452/IFCC con una procedura più controllata (16) e i materiali di controllo utilizzati nella VEQ sono molto sospetti di non commutabilità. La Figura 4 mostra che una piccola variazione del pH del mezzo di reazione, che non ha praticamente alcun effetto su un pool di sieri congelato, comporta invece un effetto significativo sul materiale liofilizzato (uno di quelli utilizzati nel programma VEQ), per il quale una variazione di ±0,1 U di pH comporta una variazione del risultato finale da -3% a +2%.

Una critica all'approccio per il calcolo dell'incertezza proposto da Magnusson et al. (8), qui applicato negli approcci due e tre, è che questo sovrastimi l'effetto del "bias". Infatti, il "bias", per definizione, è positivo o negativo, ma, quando esso venga sommato come quadrato, questo segno si perde, l'effetto essendo ulteriormente amplificato dall'uso del fattore di copertura (k = 2). Questo fenomeno è particolarmente evidente nel secondo approccio da noi utilizzato, dove il "bias" risultava particolarmente rilevante.

In conclusione, è evidente che l'approccio che segue strettamente le regole dettate dal GUM per la stima dell'incertezza di una misurazione risulta eccessivamente impegnativo per potere essere applicato su vasta scala nei laboratori clinici. Anche non considerando il rischio di non conteggiare correttamente tutte le variabili o di sommarle più volte, la complessità dei calcoli connessi è elevata e spesso necessita fare esperimenti *ad hoc* per l'accurata definizione dei coefficienti di sensibilità. Approcci semplificati, come quello proposto da White e Farrance (14), possono portare a stime sufficientemente corrette del valore di incertezza, soprattutto in assenza di scostamenti significativi. Lo sviluppo e l'implementazione di sistemi di riferimento e l'applicazione del concetto di riferibilità metrologica, permettendo il contenimento della fonte di errore sistematico, potranno migliorare ulteriormente la possibilità della stima corretta dell'incertezza e l'applicabilità clinica del suo concetto (13).

BIBLIOGRAFIA

1. Giacomo P. Recommendation INC-1 (1980). Expression of experimental uncertainties. Metrologia 1981;17:73-4.
2. International vocabulary of basic and general terms in metrology (VIM). 2nd ed. Geneva: ISO, 1993.
3. JCGM 200:2008. International vocabulary of metrology - Basic and general concepts and associated terms (VIM). 3rd ed. 2008.
4. ISO 15189:2007. Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence. Geneva: ISO, 2007.
5. Krouwer JS. Point. Critique of the Guide to Expression of Uncertainty in Measurement method of estimating and reporting uncertainty in diagnostic assays. Clin Chem 2003;49:1818-21.
6. Westgard J.O. Managing quality vs. measuring uncertainty in the medical laboratory. Clin Chem Lab Med 2010;48:31-40.
7. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. 1st ed. 2008.
8. Magnusson B, Näykki T, Hovind H, et al. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. Nordtest report TR 537, 05/2003.
9. Eurolab Technical Report No. 1/2007. Measurement uncertainty revisited: alternative approaches to uncertainty evaluation.
10. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for measurement of catalytic activity concentrations of enzyme at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of γ-glutamyltransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:734-8.
11. Infusino I, Ceriotti F, Panteghini M. Standardizzazione in enzimologia clinica: una sfida per la teoria della riferibilità metrologica. Biochim Clin 2010;34:96-102.
12. Burnett D, Ceriotti F, Cooper G, et al. Collective opinion paper on findings of the 2009 convocation of experts on quality control. Clin Chem Lab Med 2010;48:41-52.
13. Panteghini M. Application of traceability concepts to analytical quality control may reconcile total error with uncertainty of measurement. Clin Chem Lab Med 2010;48:7-10.
14. White GH, Farrance I on behalf of the AACB Uncertainty of Measurement Working Group. Uncertainty of measurement in quantitative medical testing - a laboratory implementation guide. Clin Biochem Rev 2004;25:S1-24.
15. Panteghini M, Ceriotti F. Establishing a reference system in clinical enzymology. Biochim Clin 2000;24:499-508.
16. Siekmann L, Bonora R, Burtis CA, et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C. Part 7. Certification of four reference materials for the determination of enzymatic activity of γ-glutamyltransferase, lactate dehydrogenase, alanine aminotransferase and creatine kinase according to IFCC reference procedures at 37 °C. Clin Chem Lab Med 2002;40:739-45.