Standardizzazione in enzimologia clinica: una sfida per la teoria della riferibilità metrologica

Ilenia Infusino[1], Ferruccio Ceriotti[2], Mauro Panteghini[1]
[1]Centro Interdipartimentale per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Università degli Studi, Milano
[2]Diagnostica e Ricerca San Raffaele S.p.A., IRCCS San Raffaele, Milano

ABSTRACT

Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability. The goal of standardization for measurements of catalytic concentrations of enzymes is to achieve comparable results in human samples, independent of the reagent kits, instruments, and laboratory where the assay is carried out. To pursue this objective, the IFCC has established reference measurement systems for the most important clinical enzymes. These systems are based on the following requirements: a) reference methods, well described in procedures that are extensively evaluated; b) suitable reference materials; and c) reference laboratories operating in a highly controlled manner. Using these reference systems appropriately, the diagnostic industry can assign traceable values to commercial calibrators. Clinical laboratories, which use routine procedures with validated calibrators to measure human specimens, can finally obtain values which are traceable to higher-order reference procedures. These reference systems constitute the structure of the traceability chain to which the routine methods can be linked via an appropriate calibration process, provided that they have a comparable specificity (i.e., they are measuring the same catalytic quantity).

INTRODUZIONE

Le determinazioni enzimatiche in Medicina di Laboratorio rappresentano importanti parametri biochimici per la diagnosi e il monitoraggio delle malattie del fegato, del pancreas, del muscolo scheletrico, delle ossa, ecc. (Tabella 1) (1-5). Ciò enfatizza l'importanza da parte del laboratorio clinico di produrre risultati standardizzati. Tuttavia, spesso si può ancora riscontrare una rilevante variabilità tra i risultati ottenuti in laboratori differenti (6). Nel caso di mancata confrontabilità dei risultati, i laboratori dovrebbero in linea di principio adottare intervalli di riferimento che siano metodo-dipendenti per una corretta interpretazione dei risultati. Tuttavia, è stato dimostrato, anche recentemente (7), che i laboratori spesso utilizzano intervalli di riferimento tra loro differenti senza alcun valido motivo. Ciò è difficile da spiegare; i possibili motivi potrebbero essere l'adozione, senza alcuna valutazione critica, di dati riportati in letteratura o proposti dai produttori, ma ciò potrebbe anche essere legato ad una scarsa attenzione al problema, in modo che, ad esempio, cambiamenti nelle metodologie di analisi non siano correttamente accompagnati da corrispondenti cambiamenti negli intervalli di riferimento. Un tipico esempio di questa situazione è stato riportato in un'indagine sugli intervalli di riferimento utilizzati in Italia nel 2005 per l'interpretazione dell'alanina transaminasi (ALT) (8). In più di 60 laboratori, che dichiaravano tutti di utilizzare lo stesso metodo (anche se eseguito su diverse piattaforme analitiche), il limite superiore di riferimento (URL) per i maschi andava da 40 a 72 U/L, mentre il limite inferiore era compreso tra 0 a 30 U/L. Oltre alla mancanza di confrontabilità dei risultati dovuta alla non standardizzazione delle misure, l'impiego non motivato di limiti di riferimento differenti può diventare pericoloso e confondente sia per i medici sia per i pazienti, perché lo stesso risultato analitico può essere considerato "normale" in un laboratorio e "anormale" in un altro, in accordo al diverso intervallo di riferimento impiegato. Il raggiungimento della confrontabilità dei risultati ottenuti nei laboratori diagnostici nella misura delle attività enzimatiche, che consenta l'impiego di intervalli di riferimento univoci, rappresenta, pertanto, una delle più importanti sfide nel campo della standardizzazione delle misure in Medicina di Laboratorio. Lo scopo di questo articolo è fornire un aggiornamento sulle attuali conoscenze nel campo della standardizzazione delle misure enzimatiche, con particolare riferimento ai recenti progressi ottenuti a livello internazionale.

APPROCCI SUGGERITI PER OTTENERE LA STANDARDIZZAZIONE DELLA MISURA DEGLI ENZIMI

Storicamente, il modo raccomandato per migliorare la confrontabilità dei risultati delle misure di un enzima è stato quello di promuovere l'impiego degli stessi metodi analitici ottimizzati nei laboratori che eseguono tali misure (9). Tuttavia, questo approccio di "globalizzazione del metodo" ha in pratica mostrato limiti insormontabili ed è oggi chiaro che l'obiettivo di utilizzare a livello globale un unico metodo per misurare la concentrazione catalitica di un enzima nella pratica quotidiana non può

Tabella 1
Principali enzimi di importanza clinica

Enzima	Principale origine dell'enzima presente nel sangue	Principali applicazioni cliniche
ALT	Fegato	Danno epatico parenchimale
ALP	Fegato, osso, mucosa intestinale, placenta	Danno epatobiliare, malattie ossee
AMY	Ghiandole salivari, pancreas	Malattie pancreatiche
AST	Cuore, fegato, muscolo scheletrico, eritrociti	Danno epatico parenchimale
CK	Muscolo scheletrico, cuore	Malattie muscolari, infarto miocardico
GGT	Fegato, pancreas, rene	Danno epatobiliare
LDH	Cuore, eritrociti, linfonodi, muscolo scheletrico, fegato	Anemie (emolitica e megaloblastica), leucemie e linfomi, neoplasie
LPS	Pancreas	Malattie pancreatiche

ALT, alanina transaminasi; ALP, fosfatasi alcalina; AMY, amilasi; AST, aspartato transaminasi; CK, creatinchinasi; GGT, γ-glutammil-transferasi; LDH, lattato deidrogenasi; LPS, lipasi pancreatica.

essere raggiunto (10, 11). Pertanto, gli attuali sforzi per standardizzare le misure degli enzimi in Medicina di Laboratorio dovrebbero mirare ad ottenere la confrontabilità dei risultati indipendentemente dal kit e dall'analizzatore utilizzati. Per raggiungere questo obiettivo, è stato più di recente proposto l'approccio basato sull'implementazione del "sistema di riferimento", fondato sui concetti di riferibilità metrologica e di gerarchia delle procedure di misura (12-14).

Nell'applicazione della teoria del sistema di riferimento, gli enzimi rappresentano una classe speciale di analiti (10, 15). Essi sono definiti in termini della cosiddetta "attività catalitica", che rappresenta la quantità di un determinato substrato convertita in prodotto in un determinato sistema di misura. I risultati delle misure di attività catalitica dipendono interamente dalle condizioni sperimentali in cui tali misure sono effettuate. Pertanto, in enzimologia la procedura di riferimento, che definisce le condizioni ottimali alle quali una determinata attività enzimatica è misurata, occupa il livello più alto nella catena della riferibilità (16). In aggiunta alla procedura di riferimento, il sistema necessita anche di materiali di riferimento per il trasferimento dell'esattezza dalla procedura di riferimento ai metodi commerciali di laboratorio. I laboratori clinici, che utilizzano metodi commerciali con calibratori validati con un sistema di riferimento per misurare i campioni dei pazienti, possono alla fine ottenere risultati riferibili alla procedura di riferimento, indipendentemente dal particolare metodo o strumento utilizzati, consentendo infine la confrontabilità dei risultati ottenuti su uno stesso campione biologico (Figura 1).

L'applicabilità del concetto di sistema di riferimento in enzimologia è tuttavia possibile solo se i materiali di riferimento utilizzati per trasferire l'esattezza ai metodi commerciali sono commutabili. Con il termine "commutabilità" in enzimologia si definisce "la capacità di un enzima contenuto in un materiale [di riferimento o di controllo] di mostrare un comportamento in termini di attività misurata con metodi differenti simile a quello dello stesso enzima presente nel siero umano" (17). Se mancano specifici materiali di riferimento commutabili adatti alla calibrazione dei metodi commerciali, l'unica

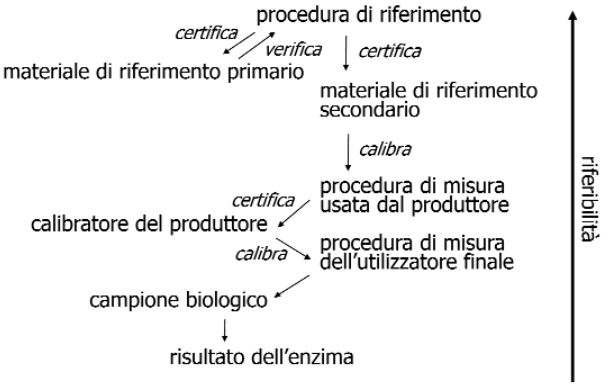


Figura 1
Schema di un sistema di riferimento per la misura degli enzimi.

alternativa possibile per stabilire la riferibilità di un metodo commerciale al sistema di riferimento è il confronto fra metodi (metodo commerciale vs. procedura di riferimento) eseguito su sieri umani nativi. La definitiva calibrazione del sistema commerciale dovrà essere in accordo ai risultati di correlazione ottenuti usando i valori assegnati ai campioni umani mediante la procedura di riferimento (Figura 2) (18).

L'implementazione della standardizzazione in enzimologia attraverso un sistema di riferimento richiede anche che i metodi commerciali mostrino specificità analitiche verso lo specifico enzima che siano simili a quella della corrispondente procedura di riferimento. In caso contrario, non sarà possibile allineare completamente le procedure in quanto, per definizione, in enzimologia, cambiando significativamente le condizioni di misura (per es. un certo tipo di substrato), si modifica l'analita oggetto della misura in termini di attività catalitica (19).

STRUMENTI PER LA STANDARDIZZAZIONE DELLA MISURA DEGLI ENZIMI

Procedure di riferimento

Per promuovere la creazione di sistemi di riferimento in enzimologia clinica l'IFCC ha creato un apposito

gruppo di lavoro ("Committee on Reference Systems for Enzymes"). Il primo obiettivo del gruppo è stato quello di selezionare adeguate procedure di riferimento per sostenere l'esattezza del sistema di riferimento e la riferibilità dei risultati della misura. Sono ora disponibili i metodi di riferimento IFCC per la misura di creatinchinasi (CK), lattato deidrogenasi (LDH), ALT, aspartato transaminasi (AST), γ-glutammiltransferasi (GGT) e α-amilasi (AMY) (20-25). Inoltre, una procedura di riferimento per la fosfatasi alcalina (ALP) è di imminente pubblicazione (26). Il comitato IFCC sta infine lavorando allo sviluppo di un metodo di riferimento per la lipasi pancreatica (27).

Per ogni procedura di riferimento, le specifiche condizioni di misura devono essere descritte in maniera dettagliata e, al fine di conseguire bassi livelli di incertezza della misura, deve essere eseguito un attento controllo di tutti gli aspetti metrologici relativi a gravimetria, volumetria, pH, temperatura di reazione e fotometria. L'incertezza che deriva da tutte le più importanti fasi della procedura può quindi essere conosciuta, consentendo di tenere sotto controllo tutti i principali componenti del "budget" di incertezza (Figura 3) (28).

Laboratori di riferimento accreditati

Fin dall'inizio le procedure di riferimento sono state validate e testate per la loro trasferibilità in una rete di laboratori di riferimento (29). Alcuni di questi laboratori sono ora elencati nel "database" del "Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine" (JCTLM) e sono in grado di fornire un servizio di misura secondo i requisiti analitici specificati nelle procedure di riferimento, producendo in tal modo risultati entro limiti di incertezza ristretti e definiti per l'uso da parte dell'industria del diagnostico (al fine di garantire che i risultati prodotti dalla stessa siano riferibili), di organizzatori di VEQ (per l'assegnazione del valore "vero" ai materiali di controllo) e di eventuali organismi di controllo (per verificare che i risultati prodotti dai sistemi diagnostici siano realmente riferibili) (30).

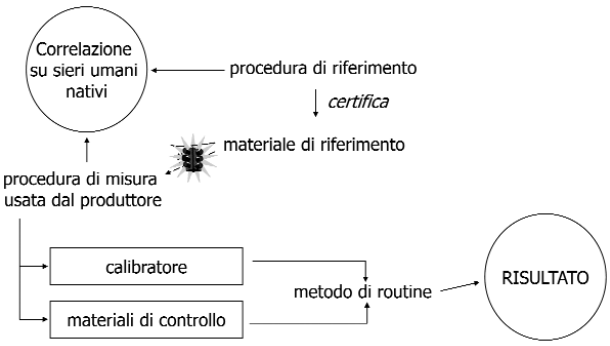


Figura 2
Approccio sperimentale raccomandato per implementare la riferibilità metrologica di un sistema commerciale per la misura di un enzima nel caso il materiale di riferimento disponibile non sia commutabile (non commutabilità simboleggiata dal semaforo).

Materiali di riferimento

Dopo la prima fase rappresentata dallo sviluppo delle procedure di riferimento, il miglioramento della confrontabilità dei risultati in enzimologia può, come detto, essere raggiunto utilizzando appropriati materiali di riferimento per il trasferimento dell'esattezza al livello gerarchico più basso. Negli ultimi anni, IFCC e "Institute for Reference Materials and Measurements" (IRMM) hanno collaborato per certificare materiali di riferimento per GGT, LDH, ALT, CK, AMY e AST (Tabella 2). Come detto, la commutabilità dei materiali destinati ad essere utilizzati per la calibrazione dei sistemi commerciali è un aspetto chiave e costituisce il principale attributo necessario per il trasferimento dell'esattezza ai metodi commerciali di misura degli enzimi. Per i materiali di riferimento elencati nella Tabella 2, la commutabilità è stata dimostrata solo per un numero limitato di metodi e sono quindi ancora necessarie ulteriori indagini prima che essi possano essere utilizzati in tutta sicurezza per la calibrazione dei sistemi commerciali. Inoltre, questi materiali di riferimento sono monoenzimatici, disponibili in quantità limitata, relativamente costosi e quindi non possono essere utilizzati quotidianamente come calibratori. Sarebbero quindi molto utili materiali multienzimatici con comportamento simile ai campioni umani (31, 32).

Intervalli di riferimento "comuni"

Un altro aspetto associato alla standardizzazione riguarda la necessità di sviluppare intervalli di riferimento scientificamente validi e globalmente utili per l'interpretazione delle concentrazioni catalitiche degli enzimi del siero. La mancanza di appropriati intervalli di riferimento può, infatti, ostacolare l'implementazione della standardizzazione in enzimologia poiché: a) l'implementazione della standardizzazione può modificare i risultati della misura di un enzima, b) senza intervalli di riferimento adeguati, questa situazione può compromettere l'interpretazione dei risultati e, paradossalmente, peggiorare l'"outcome" del paziente, c) l'assenza di intervalli di riferimento affidabili per i metodi commerciali standardizzati può ostacolare la loro adozione, e d) il singolo laboratorio o il singolo produttore di solito non dispongono di mezzi sufficienti per definire i limiti di riferimento in modo adeguato.

Il sistema di riferimento rappresenta un approccio basato sull'esattezza, in cui i diversi metodi commerciali che forniscono risultati riferibili ad esso sono in grado di produrre risultati confrontabili tra i laboratori clinici che utilizzano tali metodi. Gli intervalli di riferimento ottenuti con procedure analitiche che producono risultati riferibili al corrispondente sistema di riferimento possono essere effettivamente trasferiti tra i laboratori (diventando "comuni"), a condizione che questi ultimi utilizzino metodi commerciali con risultati riconducibili allo stesso sistema di riferimento e che le popolazioni esaminate abbiano le stesse caratteristiche o, in alternativa, che sia noto che lo specifico enzima non è influenzato da diversa etnia o ambiente di vita (Figura 4) (33). Come risultato finale, la

Tabella 2
Caratteristiche dei materiali di riferimento per gli enzimi certificati dall'IFCC in collaborazione con l'Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)

Enzima	Codice	Origine	Forma molecolare	Concentrazione certificata	Incertezza
GGT	ERM-AD452	Rene di maiale	Subunità "light"	114,1 U/L	±2,4 U/L
LDH	ERM-AD453	Eritrociti umani	Isoenzima LDH1	502,0 U/L	±7,0 U/L
ALT	ERM-AD454	Cuore di maiale	-	186,0 U/L	±4,0 U/L
CK	ERM-AD455	Cuore umano	Isoenzima MB	101,0 U/L	±4,0 U/L
AMY	IRMM/IFCC 456	Pancreas umano	Isoenzima pancreatico	546,0 U/L*	±18,0 U/L
AST	ERM-AD457	Ricombinante	Isoenzima epatico citoplasmatico	104,6 U/L	±2,7 U/L

GGT, γ-glutammiltransferasi; LDH, lattato deidrogenasi; ALT, alanina transaminasi; CK, creatinchinasi; AMY, amilasi; AST, aspartato transaminasi.
** Il valore certificato non è stato ottenuto con la procedura di riferimento pubblicata nel rif. 25. La campagna di certificazione di questo materiale era infatti condotta prima che alcuni cambiamenti finali relativi all'aggiustamento del pH di un reagente fossero introdotti nella procedura poi raccomandata come metodo di riferimento IFCC. La differenza tra il valore riportato ed il valore riferibile alla procedura poi pubblicata è circa -2,5%.*

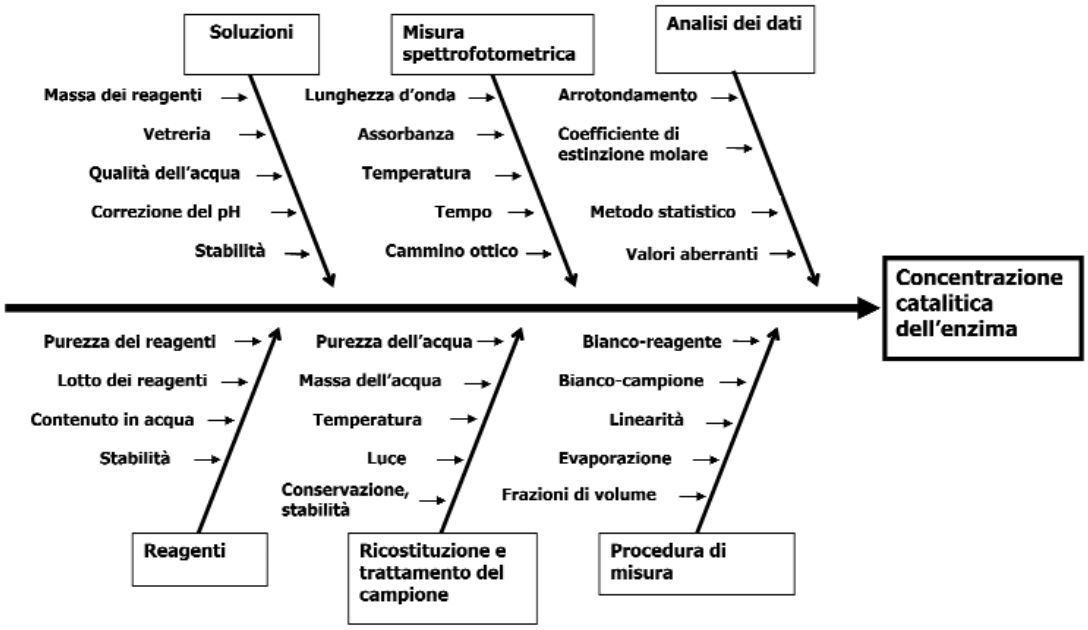


Figura 3
Possibili fonti di incertezza delle misure enzimatiche eseguite mediante procedura di riferimento (mod. da rif. 28).

definizione di intervalli di riferimento comuni dovrebbe annullare le diversità ancor'oggi riscontrate tra intervalli impiegati per lo stesso enzima, fornendo ai clinici informazioni più coerenti ed efficaci (34).

Utilizzando l'approccio sopra descritto, alcuni esempi preliminari di intervalli di riferimento comuni per i principali enzimi possono essere già trovati in letteratura (Tabella 3) (35-37). Recentemente, sono stati anche pubblicati gli intervalli di riferimento pediatrici per AST, ALT, LDH e GGT utilizzando metodi riferibili alle procedure di riferimento IFCC (38). Ampi studi multicentrici, che utilizzino un protocollo sperimentale con requisiti ben definiti, sono, tuttavia, necessari per la definitiva conferma di questi intervalli di riferimento comuni (Tabella 4). Le principali difficoltà sono legate alla



Figura 4
Intervalli di riferimento "comuni" come quarto pilastro del sistema di riferimento: come un problema diventa una soluzione.

Tabella 3
Intervalli di riferimento comuni per i principali enzimi utilizzati in diagnostica

Enzima	Intervallo di riferimento	Commenti
AST	<35 U/L	Nessuna differenza legata al sesso
ALT	<60 U/L maschi	
	<42 U/L femmine	
GGT	<70 U/L maschi	
	<40 U/L femmine	
LDH	125-220 U/L	Nessuna differenza legata al sesso
CK	46-171 U/L maschi	L'etnia afro-americana mostra valori più elevati
	34-145 U/L femmine	
AMY	31-107 U/L	Nessuna differenza legata al sesso; l'etnia asiatica mostra valori più elevati

AST, aspartato transaminasi; ALT, alanina transaminasi; GGT, γ-glutammiltransferasi; LDH, lattato deidrogenasi; CK, creatin-chinasi; AMY, amilasi.

Tabella 4
Prerequisiti per l'organizzazione di studi multicentrici rivolti alla definizione di intervalli di riferimento comuni

- Possono partecipare solo laboratori che utilizzano sistemi analitici per i quali la riferibilità a procedure e/o materiali di riferimento sia chiaramente indicata dal produttore
- Possono partecipare solo laboratori che seguono rigorosamente le istruzioni del produttore
- Gli obiettivi di accettabilità massima della variabilità interlaboratorio (scostamento massimo accettabile) devono essere dichiarati a priori e verificati in un esperimento preliminare
- La qualità analitica durante la produzione dei valori di riferimento deve essere attentamente monitorata attraverso un apposito programma di controllo

necessità di verificare la riferibilità dei metodi utilizzati dai laboratori partecipanti allo studio multicentrico e di coordinare i centri partecipanti ad effettuare migliaia di esami e arruolare centinaia di individui, tutte cose aventi anche notevoli costi. In particolare, per la produzione degli intervalli di riferimento, i metodi utilizzati devono produrre risultati che siano chiaramente riferibili al sistema di riferimento per quello specifico enzima. Per questo motivo, dovrebbe essere verificata l'esattezza delle misure dei laboratori partecipanti e, se necessario, i risultati sperimentali dovrebbero essere corretti in base ai risultati della correlazione sperimentalmente ottenuta con il metodo di riferimento. In alternativa, i campioni provenienti da individui di riferimento possono essere raccolti in diversi centri, congelati e spediti ad un unico laboratorio, dove vengano centralizzate tutte le analisi enzimatiche. Questo secondo approccio è più semplice, consentendo anche un migliore controllo della fase analitica, ma, utilizzando campioni congelati, introduce una variabile non tipica per i laboratori clinici che può far sorgere alcuni dubbi specialmente per gli enzimi più instabili, come l'ALT. In sintesi, la produzione di intervalli di riferimento comuni per gli enzimi può presentare alcuni problemi pratici non facili da risolvere, anche se la possibilità di definire intervalli di riferimento applicabili in tutti i laboratori in grado di produrre risultati riferibili alla procedura di riferimento sembra essere sufficientemente realistica.

STATO DELL'IMPLEMENTAZIONE DELLA RIFERIBILITÀ DEI METODI ENZIMATICI

Nell'Unione Europea l'implementazione in Medicina di Laboratorio della riferibilità dei risultati degli esami ai sistemi di riferimento, ove essi siano definiti, è obbligatoria per legge (39). Tuttavia, l'introduzione in pratica di metodi correttamente standardizzati in enzimologia rappresenta una questione abbastanza complicata. Nel complesso, sembra che in molti casi il bias metodologico possa essere ridotto da una migliore calibrazione verso i sistemi di riferimento internazionalmente riconosciuti, anche se metodi commerciali che utilizzano principi metodologici differenti in termini di specificità analitica, quando confrontati con i sistemi di riferimento, dovrebbero essere sostituiti da procedure analitiche in cui la riferibilità della calibrazione alla corrispondente procedura di riferimento sia stata dimostrata sperimentalmente. Nel 2006, uno studio, che ha coinvolto 70 laboratori europei, ha valutato la riferibilita ai sistemi di riferimento IFCC dei sistemi analitici di sei produttori di diagnostici, mediante l'utilizzo di un pool di sieri i cui valori di ALT, AST, CK, GGT, LDH, e AMY erano stati assegnati con procedure di riferimento (40). I risultati ottenuti con i metodi commerciali erano valutati in base ad un errore massimo accettabile derivato dalla variabilità biologica di ciascun enzima. Delle misure enzimatiche valutate, i risultati di CK e ALT erano molto buoni. Per AST e GGT, solo i sistemi di due produttori erano pienamente conformi. Infine, le misure di LDH e AMY presentavano ancora gravi problemi di allineamento, suggerendo la necessità di immediato miglioramento. Ciò era principalmente dovuto all'utilizzo di metodi con differente specificità analitica nei confronti di questi due enzimi, determinando così risultati non riferibili al sistema di riferimento riconosciuto a livello internazionale.

VERIFICA POST-MARKETING: UNA RESPONSABILITA' DELLA NOSTRA PROFESSIONE

Sebbene dai dati disponibili sia richiesta da parte dei produttori di diagnostici una più corretta implementazione del concetto di riferibilità, è tuttavia responsabilità della nostra professione verificare l'accuratezza e la confrontabilità dei metodi per la misura degli enzimi disponibili commercialmente (Tabella 5) (41). In particolare, un ruolo centrale deve essere svolto dai programmi di VEQ attraverso l'uso di materiali commutabili con valori assegnati mediante le procedure di riferimento (Tabella 6). Infatti, l'attribuzione del valore

Tabella 5
Principali fasi per il raggiungimento della standardizzazione delle misure enzimatiche

- Definizione e approvazione da parte dell'IFCC dei sistemi di riferimento
- Implementazione da parte dell'industria del diagnostico della riferibilità a tali sistemi di riferimento
- Abbandono da parte degli utilizzatori (e dell'industria) dei metodi non-specifici
- Adozione da parte degli organizzatori dei programmi di VEQ di materiali commutabili e di una valutazione esclusivamente basata sulla definizione di esattezza (valore "vero")
- Definizione da parte della professione dell'errore di misura clinicamente accettabile per ciascuno degli enzimi impiegati in campo diagnostico
- Monitoraggio della prestazione analitica dei singoli laboratori attraverso la partecipazione a VEQ e l'applicazione dei limiti di accettabilità clinica

Tabella 6
Caratteristiche irrinunciabili per l'applicazione del concetto di valore "vero" nei programmi di VEQ in enzimologia

Caratteristica	Obiettivo
Valore assegnato con una procedura di riferimento da un laboratorio accreditato	Verificare la riferibilità al sistema di riferimento
Dimostrata commutabilità del materiale di controllo	Permettere la trasferibilità delle prestazioni dei laboratori partecipanti ai risultati sui campioni dei pazienti
Definizione dell'errore totale delle misure che sia clinicamente accettabile	Verificare l'affidabilità delle misure eseguite dal laboratorio in ambito clinico

Tabella 7
Massimo errore totale clinicamente accettabile per le misure dei più importanti enzimi.
Gli obiettivi di errore totale sono stati calcolati come: obiettivo di bias + (1,65 x obiettivo di imprecisione). Gli obiettivi di bias e imprecisione (desiderabile ed ottimale) sono stati ricavati dalle variabilità biologiche intraindividuale e interindividuale dei rispettivi enzimi (disponibili su http://www.westgard.com/biodatabase1.htm) in accordo con rif. 42

Enzima	Livello di qualità	
	Desiderabile	Ottimale
AST	±15,2%	±7,6%
ALT	±32,1%	±16,1%
GGT	±22,2%	±11,1%
LDH	±11,4%	±5,7%
CK	±30,3%	±15,2%
AMY	±14,6%	±7,3%

AST, aspartato transaminasi; ALT, alanina transaminasi; GGT, γ-glutammiltransferasi; LDH, lattato deidrogenasi; CK, creatinchinasi; AMY, amilasi.

"vero" ai materiali utilizzati nelle VEQ, insieme all'applicazione dei limiti di errore totale clinicamente accettabile, è l'unico approccio che permette una valutazione obiettiva della qualità analitica delle misure degli enzimi, attraverso una classificazione della competenza dei laboratori clinici partecipanti al programma basata sull'accuratezza delle loro prestazioni (Tabella 7).

In conclusione, esistono oggi evidenti presupposti che l'implementazione della riferibilità ai sistemi di riferimento internazionali per gli enzimi possa fornire al laboratorio clinico e alla comunità medica un mezzo universale ed oggettivo in grado di garantire la confrontabilità dei risultati ottenuti sullo stesso campione con metodi e strumentazioni differenti. Ciò può essere ottenuto senza cambiamenti dirompenti negli attuali metodi di lavoro o nella preferenza di un laboratorio verso un particolare sistema analitico.

BIBLIOGRAFIA

1. Panteghini M, Bais R, van Solinge WW. Enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2006:597-643.
2. Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, Bodenheimer HC. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. Hepatology 2008;47:1363-70.
3. Forsmark CE, Baillie J. AGA Institute technical review on acute pancreatitis. Gastroenterology 2007;132:2022-44.
4. Panteghini M. Laboratory evaluation of pancreatic diseases. Biochim Clin 2010;34:19-25.
5. Huijgen HJ, Sanders GT, Koster RW, et al. The clinical value of lactate dehydrogenase in serum: a quantitative review. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997;35:569-75.
6. Örnemark U, Van Nevel L, Smeyers P, et al. The International Measurement Evaluation Program IMEP-17. Trace and minor constituents in human serum. EUR 20694 EN. Report to participants. Part 2: Methodology and quantity specifications. www.imep.ws
7. Dutta A, Saha C, Johnson CS, Chalasani N. Variability in the upper limit of normal for serum alanine aminotransferase levels: A statewide study. Hepatology 2009;50:1957-62.
8. Ceriotti F. Reference intervals in the new millenium. Biochim Clin 2007;31:254-66.
9. Ceriotti F, Ferrero CA, Panteghini M, et al. Societa' Italiana di Biochimica Clinica - Commissione 04 Enzimi. Raccomandazioni per la determinazione della concentrazione dell'attività catalitica di cinque enzimi. Biochim Clin 1994;18:447-62.
10. Panteghini M, Ceriotti F. Establishing a reference system in clinical enzymology. Biochim Clin 2000;24:499-508.
11. Infusino I, Bonora R, Panteghini M. Traceability in clinical enzymology. Clin Biochem Rev 2007;28:155-61.
12. Panteghini M. Traceability, reference systems and result comparability. Biochim Clin 2007;31:247-53.
13. Panteghini M. Traceability as a unique tool to improve standardization in laboratory medicine. Clin Biochem 2009;42:236-40.
14. Vesper HW, Thienpont LM. Traceability in laboratory medicine. Clin Chem 2009;55:1067-75.
15. Thienpont LM, Van Uytfanghe K, De Leenheer AP. Reference measurement systems in clinical chemistry. Clin Chim Acta 2002;323:73-87.

16. ISO 18153:2003. In vitro diagnostic medical devices - Measurement of quantities in biological samples - Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to calibrators and control materials. ISO, Geneva, Switzerland.
17. Rej R. Accurate enzyme activity measurements. Two decades of development in the commutability of enzyme quality control materials. Arch Pathol Lab Med 1993;117:352-64.
18. Lasky FD. Achieving accuracy for routine clinical chemistry methods by using patient specimen correlations to assign calibrator values. A means to managing matrix effects. Arch Pathol Lab Med 1993;117:412-9.
19. Cattozzo G, Guerra E, Ceriotti F, Franzini C per il Gruppo di Studio Enzimi SIBioC. Confrontabilità dei risultati di due metodi per la determinazione della lattato deidrogenasi del siero dopo ricalibrazione al sistema di riferimento: impatto della commutabilità del calibratore. Biochim Clin 2008;32:311-7.
20. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. Clin Chem Lab Med 2002;40:635-42.
21. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 3. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. Clin Chem Lab Med 2002;40:643-8.
22. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.
23. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:725-33.
24. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of γ-glutamyltransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:734-8.
25. Schumann G, Aoki R, Ferrero CA, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α-amylase. Clin Chem Lab Med 2006;44:1146-55.
26. Schumann G, Klauke R. A new reference system in town: alkaline phosphatase. 2nd International Scientific Meeting "Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability". November 25, 2008, Milano, Italy. Available at: http://users.unimi.it/cirme/public/UploadAttach/6_Schumann.pdf
27. Lessinger JM. Theoretical bases for standardizing pancreatic lipase measurements. 2nd International Scientific Meeting "Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability". November 25, 2008, Milano, Italy. Available at: http://users.unimi.it/cirme/public/UploadAttach/7_%20Lessinger.pdf
28. Klauke R, Schumann G. Uncertainty sources of reference measurement procedures for enzymes. 2nd International Scientific Meeting "Standardization in clinical enzymology: a challenge for the theory of metrological traceability". November 25, 2008, Milano, Italy. Available at: http://users.unimi.it/cirme/public/UploadAttach/2_Schumann_new.pdf
29. Siekmann L. Requirements for reference (calibration) laboratories in laboratory medicine. Clin Biochem Rev 2007;28:149-54.
30. http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm/jctlm-wg2/
31. Scharnhorst V, Apperloo J, Baadenhuijsen H, Vader HL. Multicenter evaluation of the commutability of a potential reference material for harmonization of enzyme activities. Clin Chem Lab Med 2004;42:1401-7.
32. Kuwa K, Ueda S, Umemoto M. Certified multi-enzyme reference material using recombinant enzymes for JCTLM traceability chain. Clin Chem 2008;54(suppl):A179-80.
33. Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. Ann Clin Biochem 2009;46:8-17.
34. Ceriotti F, Schumann G, Panteghini M. Redefining reference limits needs more attention to the analytical aspects. Liver International 2006;26:1155-6.
35. Schumann G, Klauke R. New IFCC reference procedures for the determination of catalytic activity concentrations of five enzymes in serum: preliminary upper reference limits obtained in hospitalized subjects. Clin Chim Acta 2003;327:69-79.
36. Steinmetz J, Schiele F, Gueguen R, et al. Standardization of γ-glutamyltransferase assays by intermethod calibration. Effect on determining common reference limits. Clin Chem Lab Med 2007;45:1373-80.
37. Pagani F, Bonora R, Panteghini M. Reference interval for lactate dehydrogenase catalytic activity in serum measured according to the new IFCC recommendation. Clin Chem Lab Med 2003;41:970-1.
38. Heiduk M, Päge I, Kliem C, et al. Pediatric reference intervals determined in ambulatory and hospitalized children and juveniles. Clin Chim Acta 2009;406:156-61.
39. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices. Official Journal of the European Communities 1998(Dec 7);L331:1-37.
40. Jansen R, Schumann G, Baadenhuijsen H, et al. Trueness verification and traceability assessment of results from commercial systems for measurement of six enzyme activities in serum. An international study in the EC4 framework of the Calibration 2000 project. Clin Chim Acta 2006;368:160-7.
41. 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.
42. Fraser CG, Petersen PH, Libeer JC, Ricos C. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. Ann Clin Biochem 1997;34:8–12.