Stima dell'incertezza di una misurazione: la riferibilità metrologica ci salverà?

Ilenia Infusino, Mauro Panteghini
Centro Interdipartimentale per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Università degli Studi, Milano

"Medicine is a science of uncertainty and an art of probability"
William Osler, 1849-1919

Il concetto di incertezza ("uncertainty") fu introdotto negli anni '90 in seguito alla mancanza di consenso sul modo in cui esprimere la qualità dei risultati delle misure. Sebbene si possa facilmente comprenderne il significato, la sua stima può tuttavia essere difficile da ottenere nella pratica quotidiana. L'approccio descritto nella "Guide to the expression of uncertainty of measurement" (GUM) stabilisce un modello generale per la valutazione e la combinazione di tutte le principali fonti di incertezza di una misurazione (1). Tale modello è di norma utilizzato nei laboratori accreditati che eseguono procedure di riferimento (2). Tuttavia, la sua applicazione nei laboratori clinici non è semplice e ha incontrato molti problemi pratici e numerose obiezioni (3). Esempi, peraltro abbastanza scarsi, presenti in letteratura hanno dimostrato le difficoltà che l'applicazione dell'approccio "bottom-up" del GUM comporta (4). Ne deriva che, affinché il concetto di incertezza possa essere più diffusamente accettato, la complessità del suo processo di valutazione dovrebbe essere notevolmente ridotta, in modo che i laboratori clinici abbiano la possibilità di stimare questa importante caratteristica, preferibilmente basandosi su informazioni già disponibili.

Uno dei concetti cardine della teoria dell'incertezza è che le procedure impiegate nei laboratori clinici dovrebbero essere, in linea di principio, esenti da errore sistematico. Non è per nulla casuale che nello standard ISO 15189 il requisito relativo all'incertezza (punto 5.6.2) sia posto appena prima di quello (punto 5.6.3) riguardante la verifica dell'esattezza e della riferibilità dei risultati delle misurazioni mediante l'applicazione dei concetti di metrologia, al fine di ridurre al minimo lo scostamento metodo-dipendente (5). L'Unione Europea ha emanato, a questo proposito, la direttiva sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD), che assiste i laboratori in questo compito (6). La direttiva, sostenuta da due standard ISO (7, 8), obbliga i produttori di diagnostici a garantire la riferibilità dei loro sistemi di analisi a riferimenti riconosciuti di ordine superiore. Di conseguenza, il laboratorio deve fare affidamento sui produttori, i quali sono tenuti ad assicurare la riferibilità dei loro prodotti al livello di riferimento più alto disponibile. In ottemperanza alla direttiva IVD, il produttore è inoltre invitato a fornire l'incertezza associata ai valori assegnati ai calibratori del metodo, quando questi siano utilizzati in associazione alle altre componenti (strumentazione e reagenti) del sistema analitico, nel caso che la prestazione analitica sia accettabile secondo i parametri stabiliti dal produttore stesso, rappresentati dall'intervallo di accettabilità dei materiali di controllo del sistema. Ai laboratori clinici non resta che verificare, nel corso delle operazioni routinarie eseguite in accordo alle indicazioni del produttore, la conformità alle prestazioni dichiarate, mediante l'analisi dei materiali di controllo del sistema e l'ottenimento dei risultati attesi, privi di errore sistematico significativo.

Se le procedure di misurazione operano in assenza di significativo errore sistematico, esse producono risultati che hanno un'incertezza relativa associata sostanzialmente derivata dalla combinazione di due fonti principali, la prima dovuta all'incertezza combinata della corrispondente catena della riferibilità (ad es. l'incertezza associata al materiale di riferimento utilizzato per il trasferimento dell'esattezza) e la seconda associata all'incertezza dovuta agli effetti casuali. In queste condizioni, ancora una volta è stato suggerito un approccio "bottom-up" per la stima dell'incertezza, che utilizzi le principali fonti sopra riportate (9). Tuttavia, anche se i produttori di diagnostici sono tenuti a fornire ai loro clienti le informazioni riguardanti la riferibilità della calibrazione e l'incertezza ad essa associata (ma solo su specifica richiesta: infatti, i calibratori sono generalmente rilasciati senza l'informazione relativa all'incertezza associata), queste sono comunque difficili da utilizzare. Per esempio, quando la concentrazione dei campioni dei pazienti per i quali l'incertezza deve essere stimata differisce significativamente dalla concentrazione del calibratore, l'incertezza dichiarata dei calibratori deve essere corretta per il livello di concentrazione in questione. L'incertezza dovuta agli effetti casuali (data dall'imprecisione del metodo) può essere derivata da un appropriato programma di CQI, anche se evidenti limitazioni possono essere legate all'uso di materiali di controllo non commutabili e alla necessità di utilizzare più di un livello di concentrazione per coprire tutto l'intervallo di misura del metodo. Un'altra limitazione è che l'impiego di dati derivati dal CQI, di solito ottenuti in lunghi periodi di tempo, può risultare in una più elevata incertezza combinata e non riconoscere che singoli risultati possano essere associati a minore variabilità. E' chiaro quindi che anche l'utilizzo di tale modello da parte dei laboratori clinici per il calcolo dell'incertezza associata ad ogni procedura di analisi utilizzata appare, ancora una volta, impensabile.

Esiste un'altra possibilità? In questo numero di *Biochimica Clinica*, Guerra e Ceriotti (10) confrontano tre diversi approcci per il calcolo dell'incertezza nella misurazione di un'attività enzimatica. E' interessante notare come l'incertezza espansa ottenuta applicando l'approccio GUM sia molto simile a quella ottenuta con un approccio "top-down" che molto più semplicemente impieghi misure ripetute di un materiale di riferimento ben caratterizzato (10). Nella valutazione dell'incertezza un ruolo centrale può quindi essere svolto dai programmi di VEQ, a condizione che questi obbligatoriamente soddisfino specifici criteri, quali l'impiego di materiali di controllo commutabili e l'assegnazione ad essi del valore "vero" per l'analita considerato con procedura di riferimento (11, 12). Se queste premesse sono rispettate, in accordo con quanto dimostrato da Guerra e Ceriotti, le deviazioni dei risultati forniti dal laboratorio partecipante alla VEQ dai valori assegnati definiscono sperimentalmente la sua incertezza. Naturalmente, dovrà essere garantito che i campioni di controllo utilizzati in differenti esercizi di VEQ siano rappresentativi delle concentrazioni di analita in tutto l'intervallo misurabile e che altre possibili fonti di incertezza, come ad es. possibili aspetti preanalitici, siano trascurabili. Purtroppo però, quasi tutti gli attuali programmi di VEQ non sono adeguati per valutare la riferibilità dei risultati prodotti dai laboratori e la corrispondente incertezza: spesso non si presta adeguata attenzione alla qualità dei materiali utilizzati e si utilizza solo la media del gruppo omogeneo (o altri indicatori di tendenza centrale) per la valutazione delle prestazioni dei laboratori partecipanti.

In conclusione, per rendere in concreto possibile la stima dell'incertezza associata alle misurazioni eseguite nei laboratori clinici (e quindi positivamente ottemperare a quanto richiesto negli standard di accreditamento), la nostra professione dovrebbe fortemente ripensare la struttura e l'organizzazione dei programmi di VEQ al fine ultimo di renderne i risultati più utili nel valutare l'affidabilità in ambito clinico delle misure eseguite (11). In questo anche la SIBioC dovrà avere un ruolo centrale, esplicitando chiaramente quanto debba essere fatto e cosa non sia invece più accettabile per un programma di VEQ organizzato nell'era della riferibilità metrologica (Figura).

BIBLIOGRAFIA

1. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. 1st ed. 2008.
2. Siekmann L. Requirements for reference (calibration) laboratories in laboratory medicine. Clin Biochem Rev 2007;28:149-54.
3. 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.
4. Linko S, Örnemark U, Kessel R, Taylor PDP. Evaluation of uncertainty of measurement in routine clinical chemistry - Application to determination of the substrate concentration of calcium and glucose in serum. Clin Chem Lab Med 2002;40:391-8.
5. ISO 15189:2007. Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence. Geneva: ISO, 2007.
6. 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.
7. ISO 17511:2003. In vitro diagnostic medical devices - Measurement of quantities in biological samples - Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. Geneva: ISO, 2003.
8. 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. Geneva: ISO, 2003.
9. White GH. Basics of estimating measurement uncertainty. Clin Biochem Rev 2008;29(suppl):S53-60.
10. Guerra E, Ceriotti F. Calcolo dell'incertezza nella determinazione dell'attività catalitica della γ-glutamiltransferasi: confronto fra tre approcci. Biochim Clin 2010;34:259-64.
11. 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.
12. Infusino I, Ceriotti F, Panteghini M. Standardizzazione in enzimologia clinica: una sfida per la teoria della riferibilità metrologica. Biochim Clin 2010;34:96-102.

