

Costruzione di un Sistema di Qualità per il laboratorio chimico-tossicologico

Anna Pia Colucci, Roberto Gagliano-Candela

Dipartimento Medicina Interna Medicina Pubblica, Università degli Studi di Bari

ABSTRACT

Building up a quality system for the chemical-toxicological laboratory. Reliable analytic measurements are needed when human health care is concerned; the control of analytical data quality is an absolutely necessary requisite for a rigorous control of reliability. In such a process it is necessary to guarantee homogeneity, both in the definition and evaluation of quality parameters, in agreement with the most recent suggestions at European level, and in the interpretation of results, in consideration of the scopes of testing. Therefore, in the present work, we suggest the procedures for building up a quality system for the laboratory of toxicological analytical chemistry, aimed to guarantee the "analytical quality assurance", even through the use of appropriate parameters for quality verification (representativeness, accuracy of value, recovery, detection limit, LOD, LOQ, selectivity, specificity, robustness, uncertainty of measurement).

INTRODUZIONE

L'impegno del Laboratorio di tossicologia analitica che esegue accertamenti aventi implicazioni medicolegali, che si esplica principalmente mediante il rilevamento, identificazione, quantificazione e valutazione, di sostanze classicamente definite "tossiche", in matrici biologiche e non, deve essere regolato da chiari principi organizzativi e metodologici sulle tre fasi operative, pre-analitiche, analitiche e post-analitiche, ciascuna delle quali caratterizzate da precise variabili.

Tra le variabili analitiche, nella determinazione dei tossici, ricordiamo: l'elevato numero e la grande varietà di strutture chimiche, gruppi funzionali e valori di pKa; gli ampi intervalli di concentrazione nelle diverse matrici biologiche in funzione delle dosi assunte; la diversità delle matrici biologiche e le potenziali interferenze analitiche prodotte da sostanze esogene, endogene e putrefattive. Ciò implica una accurata selezione delle metodologie analitiche da utilizzare, soprattutto in funzione delle classi di sostanze ricercate e dei valori soglia adottati, che richiedono l'esecuzione periodica di controlli di qualità e l'utilizzo di protocolli operativi standardizzati ed eventualmente validati. Ogni analisi, quindi, si pone come caso individuale per il quale non sussistono regole applicabili a tutti gli analiti e a tutte le situazioni. La complessità e le difficoltà delle indagini chimico-tossicologiche richiedono una crescente attenzione volta al raggiungimento della sicurezza di qualità e a garantire l'affidabilità del risultato analitico.

Il compito primario della Direzione del Laboratorio consiste pertanto nell'assicurare la correttezza del dato analitico mediante il perseguimento di un costante ed elevato livello di "Sicurezza di Qualità" delle prestazioni

fornite, che può essere garantita intervenendo sinergicamente ai differenti livelli che caratterizzano la complessa attività del Laboratorio di Tossicologia analitica: logistico-organizzativo, analitico, di controllo ed interpretativo.

Perché i risultati delle misurazioni siano accettati come validi dalle parti interessate, è necessario che il risultato sia ottenuto attraverso processi che rispettino il sistema qualità.

Il presente lavoro pertanto suggerisce le procedure per la costruzione di un sistema di qualità per il laboratorio di chimica analitica tossicologica, nell'ambito del quale deve essere garantita "l'Assicurazione della qualità analitica", anche attraverso l'uso di parametri per la verifica della qualità (rappresentatività, accuratezza del valore, recupero, limite di rivelazione, LOD, LOQ, selettività, specificità, robustezza, incertezza di misurazione).

SISTEMI DI QUALITÀ

Esistono di fatto due approcci nell'affrontare la discussione:

- 1) *Qualità Totale (Total Quality Management)* sviluppata in un contesto squisitamente manageriale;
- 2) *Assicurazione della Qualità (Quality Assurance)* da intendersi come approccio tipico della componente professionale che tende a migliorare la qualità con la coordinazione di attività di valutazione degli interventi sanitari e successive attività di revisione degli stessi.

Essendo l'obiettivo fondamentale il miglioramento della qualità per entrambi, si può sostenere che tra i due approcci non devono esistere differenze sostanziali ma essere complementari ed integrati tra loro.

La "Qualità Totale" si propone di migliorare il "prodot-

to/servizio" attraverso un miglioramento continuo dell'organizzazione" per gestire le attività di progettazione e realizzazione.

La "Assicurazione della qualità" si propone di migliorare la qualità del "prodotto/servizio" sia in termini di quantità di salute aggiunta, sia rispetto alla modalità con cui il risultato viene conseguito.

Pertanto, visto che la "Qualità Totale" copre i problemi organizzativi e l' "Assicurazione della qualità" considera, principalmente, il coinvolgimento di competenze specifiche degli operatori interessati a elevare la qualità delle loro prestazioni, appare sensato proporre l'adozione di entrambi i sistemi, ciascuno collocato al giusto livello nella struttura sanitaria. Tale impegno, nel laboratorio analitico, si esplica mediante il coinvolgimento delle diverse componenti che lo caratterizzano: tecnologiche, di servizio e relazionali.

La realizzazione e la implementazione di un Sistema Qualità in conformità alle norme ISO, riconosciute a livello internazionale e non riferite a standard nazionali (che risentono senza alcun dubbio della diversità dei Sistemi Sanitari implicati) rappresenta un momento propedeutico al raggiungimento successivo della "Certificazione e/o Accredimento" del laboratorio di analisi.

Quando si parla di certificazione del laboratorio si vuole intendere una implementazione del Sistema Qualità che garantisca, non solo, la qualità del modello gestionale applicato, ma anche, il mantenimento e la continuità di questa situazione. Tale realizzazione di sistema gestionale viene verificata da Enti riconosciuti, che alla fine della loro verifica, garantiscono che il Sistema Qualità del laboratorio soddisfa le richieste ed i parametri dettati dalle norme ISO e successivamente verifica che tale Sistema venga applicato e, nel tempo, mantenuto.

L'attestazione di conformità, in sostanza, garantisce la capacità dei processi di soddisfare i requisiti contrattuali del cliente e del Sistema di mantenere la conformità alla norma.

La Certificazione è, pertanto, lo strumento che la Comunità Europea si è data a difesa dell'utente che potrà, così, avere la garanzia di trovare nella "Organizzazione Certificata" un livello di Qualità globale adeguato ai suoi bisogni. Quindi, nel caso del laboratorio di analisi la certificazione riguarda la conformità del modello organizzativo di gestione messo in atto per la garanzia della qualità.

ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ ANALITICA

Impiego di Materiali di Riferimento (Certificati)

La qualità di un metodo analitico si verifica attraverso

l'impiego di standard adeguati che, perché la procedura sia definita valida, devono avere composizione quanto più simile a quella dei campioni, sia per concentrazione degli analiti che per composizione totale (matrice compresa).

Spesso però nel caso di materiali complessi come le matrici biologiche, difficili da riprodurre, e nel caso in cui gli analiti sono in parte non noti, si dovranno preparare soluzioni contenenti analiti analoghi per qualità e quantità a quelli presenti nell'estratto dal materiale biologico da sottoporre all'analisi.

Assicurazione di Qualità e Controlli di Qualità

In un Sistema Qualità di un laboratorio chimico analitico, si parla di *Quality Assurance* (QA) quando si fa riferimento all'aspetto normativo adottato dal laboratorio per garantire ed assicurare la qualità del servizio fornito, mentre con il termine *Quality Control* (QC) si descrivono le singole procedure necessarie al monitoraggio ed al controllo di ben definite operazioni analitiche.

Le linee – guida dettate dalle norme rappresentano il modello cui attenersi; ma la modulazione di tutte le procedure, sia gestionali che tecniche eseguite nella struttura, portano alla personalizzazione più completa del sistema Qualità.

Il Controllo di Qualità, applicato sia all'interno di un laboratorio (IQC) che tra diversi laboratori (EQC), è rappresentato da quell'insieme di attività finalizzate a minimizzare gli errori analitici e a promuovere l'attendibilità dei dati forniti dallo stesso laboratorio o confrontati relativamente ai dati del laboratorio di riferimento.

Le metodologie analitiche impiegate devono essere descritte in altrettante POS (Procedure Operative Standard), che devono essere periodicamente datate e soggette a periodica revisione da parte del personale addetto, dettagliando la preparazione del campione, la conservazione di standard e reagenti, il funzionamento e la calibrazione degli strumenti.

Il QC richiede l'utilizzo di campioni di controllo (*QC samples*) aventi caratteristiche di omogeneità e stabilità tali da fornire gli stessi risultati (pur soggetti a variazioni casuali dovute al metodo analitico utilizzato) e disponibili in quantità sufficienti da consentire l'esecuzione di analisi replicate. La variazione delle prestazioni del metodo analitico impiegato può essere monitorata nel tempo utilizzando le risposte analitiche ottenute dall'analisi di campioni di controllo introdotte nelle relative carte.

In generale tutti i QC *samples* vengono usati per monitorare la deriva di un sistema analitico, in particolare i *bianchi* (campioni non contenenti l'analita) possono essere utilizzati per monitorare i contributi al segnale strumentale non riconducibili all'analita, garantendo in tal modo la possibilità di effettuare opportune correzioni sui calcoli eseguiti. L'analisi dei *blind samples* (campioni

posti nel lotto da analizzare all'insaputa dell'analista) permette invece di ottenere una corretta valutazione della precisione: evitando preconcetti correlati a particolari risultati. Infine, l'analisi di *chemical calibrants* (soluzioni contenenti sostanze note di purezza definita in un opportuno solvente il più simile possibile a quello del campione) eseguita ad intervalli regolari permette di verificare la stabilità della risposta dovuta all'intero processo analitico.

Nei test preliminari di screening sarà opportuno prevedere la contemporanea inclusione di un "positivo" e di un "negativo" dispersi in modo casuale per ciascuna serie analitica.

I campioni di controllo per le tecniche di conferma quantitative devono consistere di un negativo, di un campione la cui concentrazione sia di poco superiore alla soglia di sensibilità analitica, di uno collocato intorno al valore medio della curva e di uno a valore più elevato.

Il QC implica inoltre l'utilizzo di *carte di controllo*, sulle quali impostare il controllo statistico mediante l'esecuzione periodica, ogni *n* campioni reali, di una o più analisi di campioni di controllo. Le carte di controllo sono costruite sulla base di: valore atteso, media dei risultati ottenuti dall'analisi dei campioni di controllo; limiti di attenzione o *warning limits e di controllo o control limits*.

Sebbene non esista ancora in Italia una normativa che regoli l'attività dei Laboratori impegnati in accertamenti a finalità medico-legale, è prioritario impegnare le migliori risorse disponibili per ottenere l'accreditamento del Laboratorio, ovvero il riconoscimento formale della sua competenza ad effettuare specifiche determinazioni.

Validazione del metodo

La validazione del metodo analitico è un elemento chiave sia nel processo di elaborazione di un metodo di riferimento, sia nella valutazione della capacità del laboratorio di fornire dati analitici attendibili. Inoltre la validazione non riguarda solo l'aspetto strumentale quanto piuttosto l'intero processo analitico che va dal campionamento alla valutazione del dato analitico.

Prima del suo impiego routinario un metodo analitico deve essere validato per garantire che effettui in modo affidabile le operazioni per le quali è stato allestito.

Secondo lo standard internazionale UNI CEI EN ISO /IEC 17025 la validazione del metodo di analisi è un processo che permette di studiare e valutare le *performance* di un metodo analitico al fine di dimostrare che i requisiti particolari per l'uso previsto siano soddisfatti.

In particolare la norma stabilisce che *"il laboratorio deve validare i metodi non normalizzati, i metodi sviluppati/progettati dal laboratorio, i metodi normalizzati utilizzati al di fuori del proprio scopo e campo di applicazione prefissato, come pure estensioni e modifiche di metodi normalizzati per confermare che i metodi siano adatti*

all'utilizzazione prevista." e che *"La validazione deve essere estesa in modo da soddisfare le esigenze di una data applicazione o di un campo di applicazione."*

Le più comuni situazioni sperimentali che impongono la validazione possono essere:

- lo sviluppo di un nuovo metodo per scopi particolari;
- aggiornamento, miglioramento o estensione ad un nuovo problema di un metodo analitico stabilito;
- eventuali variazioni temporali dei parametri di qualità evidenziati attraverso il controllo di qualità;
- utilizzo in un diverso laboratorio e/o da un diverso analista e/o con diversa strumentazione di un metodo stabilito;
- dimostrazione dell'equivalenza del metodo in esame con un metodo standard.

PARAMETRI DI QUALITÀ

La valutazione dell'adeguatezza di un metodo analitico richiede la determinazione di alcuni parametri di qualità (o figure di merito), caratterizzanti le prestazioni del metodo stesso: - rappresentatività; - accuratezza (precisione + esattezza); - recupero; - limite di rivelazione; - limite di quantificazione; - selettività e specificità; - robustezza; - incertezza di misurazione.

Stabilite le figure di merito del metodo analitico in esame questo può essere considerato validato fino al verificarsi di variazioni significative dei parametri di qualità, della matrice oppure del range di concentrazione dell'analita.

I parametri di qualità oggetto di valutazione dipendono dall'area di applicazione del metodo: infatti mentre un'analisi di screening qualitativa richiede solo la determinazione della selettività, del limite di rivelabilità e della robustezza, una determinazione quantitativa, e quindi di conferma, richiede una valutazione più estesa, comprendente la stima di ulteriori parametri quali accuratezza, incertezza di misurazione, range dinamico e lineare, limite di quantificazione e recupero.

La norma, al fine di determinare la prestazione di un metodo, richiede la definizione e la misurazione dei parametri di qualità mediante l'utilizzo di una o una combinazione delle seguenti operazioni tecniche:

- taratura, con campioni o materiali di riferimento;
- confronto dei risultati ottenuti con altri metodi;
- confronti interlaboratorio;
- valutazione sistematica dei fattori che influenzano il risultato;
- stima dell'incertezza dei risultati sulla base della conoscenza scientifica dei principi teorici del metodo e dell'esperienza pratica.

Esaminiamo brevemente le caratteristiche dei singoli parametri di qualità.

Rappresentatività

Un dato si definisce rappresentativo quando rispecchia nell'ambito del possibile la situazione in atto al momento cui ci si riferisce, e cioè per il cadavere al momento della morte, per il vivente al momento del prelievo. La rappresentatività va considerata sotto due aspetti, quello strettamente tecnologico e quello più interamente interpretativo. Peraltro, non sono in realtà le trasformazioni che avvengono a carico dell'analita quelle che alterano in maniera determinante la rappresentatività del dato ma piuttosto quelle relative alla matrice, che non sono univoche e mai facilmente prevedibili.

La rappresentatività del dato è comunque una caratteristica nella quale giocano fattori non esclusivamente tecnici e che sul piano interpretativo non sono facili da evidenziare aprioristicamente.

Accuratezza (valore vero o presunto tale)

Le caratteristiche fondamentali del dato quantitativo sono la sua accuratezza e la sua precisione, che forniscono in pratica l'ambito di errore nel quale tale dato è compreso.

Nelle norme ISO per accuratezza si intende il grado di accordo tra il risultato di un procedimento analitico e il valore di riferimento accettato. Da notare che, nella sua accezione più recente, l'accuratezza combina *esattezza* (grado di accordo tra il valore medio ottenuto da un ampio set di risultati ed un valore di riferimento accettato) e *precisione* (grado di accordo tra risultati indipendenti ottenuti con un procedimento di analisi in condizioni ben specificate, valutato tramite prove ripetute su un determinato campione) per dare risalto agli effetti degli errori sistematici e casuali. L'accuratezza diviene equivalente alla precisione quando i risultati non sono affetti da errori sistematici.

La misura dell'esattezza è normalmente espressa in termini di *bias* (errore totale sistematico).

L'*accuratezza* esprime la vicinanza di un valore misurato a quello vero. Per i metodi quantitativi, il recupero dell'analita aggiunto ad un appropriato range di concentrazioni è considerato un indicatore dell'accuratezza.

Su tali campioni si prepara la *curva di taratura* o di *calibrazione* dalla quale poi si può calcolare il fattore in base al quale si può teoricamente risalire al contenuto in analita del singolo campione.

La conoscenza dell'entità dell'errore, che è legata sostanzialmente al metodo di determinazione, è fondamentale agli effetti delle finalità dell'indagine, in quanto consente di valutare se il dato è utilizzabile o meno. Il dato quantitativo è in ogni caso frutto di un processo di standardizzazione e normalizzazione, il che significa in pratica che il dato quantitativo disponibile non corrispon-

de al quantitativo di sostanza effettivamente presente a livello biologico, ma in realtà ne è la rappresentazione più o meno proporzionalmente fedele.

Così operando si riesce a controllare il recupero dell'analita aggiunto al materiale biologico, non certamente però di quello che vi perviene attraverso il processo di assorbimento che si verifica nell'organismo umano. Non essendo controllabile il processo, è evidente che un discorso razionale riguardo al recupero di tutto l'analita presente non può facilmente essere impostato. Il quantitativo effettivamente presente è ipotetico, la sua determinazione è quindi raggiungibile solo attraverso un processo di stima che, evidentemente, necessita di una standardizzazione per essere valido.

Il dato quantitativo è quindi per sua natura affetto da errori che possono essere di entità più o meno elevata, in genere dovendo tale entità risultare nota.

I principali fattori che possono influenzare la precisione sono di tipo ambientale (variazioni nelle condizioni di temperatura e umidità), umano (legati alla manualità e all'esperienza dell'operatore), strumentazioni con caratteristiche diverse oppure legati ai materiali (composizione, grado di invecchiamento...).

La precisione si misura in termini di *deviazione standard* e più precisamente se la variabilità dei risultati analitici di un metodo sia riferita ad un Laboratorio o ad un operatore, che utilizzano un solo strumento, o sia riferita a laboratori diversi con operatori e strumenti diversi, si parla di:

- *ripetibilità* che rappresenta il valore massimo, prevedibile ad un certo livello di fiducia, della differenza assoluta tra due risultati ottenuti in condizioni omogenee (laboratorio, giorno, analista);
- *precisione intermedia* che si determina confrontando i risultati ottenuti nello stesso laboratorio in tempi diversi, o utilizzando apparecchiature diverse o da un analista diverso
- *riproducibilità* che si ottiene confrontando i risultati ottenuti da diversi laboratori ed è il valore massimo della differenza assoluta tra due risultati

La deviazione standard della riproducibilità è di solito due o tre volte più grande di quella della ripetibilità.

La precisione non esprime nulla sulla "accuratezza" di un'analisi quantitativa. Nonostante una buona precisione, i valori misurati possono differire sensibilmente dal valore "vero" (ad es. valore teorico in campione di sangue di controllo). Si parla allora di errore sistematico, espresso dalla deviazione del "valore medio misurato" dal "valore vero".

Recupero

In un'analisi quantitativa è fondamentale correggere risultati ottenuti per il recupero, ovvero per la frazione di analita presente o aggiunto al materiale in prova, estrat-

to e portato alla misurazione. La stima di questo parametro in fase di validazione permette di rilevare eventuali perdite di analita o eventuali contaminazioni del campione nel corso della procedura.

I valori di recupero possono essere determinati con metodi che utilizzano lo standard interno o lo standard esterno; in quest'ultimo caso il recupero dello stesso deve essere determinato indipendentemente. Il metodo con standard interno prevede l'aggiunta di una sostanza (quanto prima possibile nell'ambito della procedura analitica, per compensare perdite di campione durante l'estrazione), la purificazione e la separazione finale. Lo standard interno deve essere completamente risolto dagli altri picchi del tracciato cromatografico ed avere proprietà fisiche e chimiche il più possibile simili all'analita d'interesse. Esso non deve essere presente nel campione, né costituire un possibile prodotto di degradazione; normalmente è costituito da sostanze analoghe, omologhe o isomeri.

Particolare attenzione deve essere rivolta agli standard interni ideali per l'analisi quantitativa GC-MS, rappresentate da sostanze deuterate.

Limite di rivelazione e LOD

È un parametro fondamentale sia a livello qualitativo che a livello quantitativo e può essere definito come la minima concentrazione di analita che produce un segnale significativamente diverso dal bianco: questo segnale indica, quindi, la presenza dell'analita al livello di confidenza prescelto.

Il LOD (*Limit of Detection*) è il limite di rivelazione espresso in termini di concentrazione, cioè la più bassa concentrazione di un analita che può essere rivelata rispetto ad un bianco (capacità di affermare la presenza o l'assenza dell'analita).

Se dall'analisi si ottiene un valore che differisce da zero è possibile dare due interpretazioni contrastanti: una che il campione non contiene l'analita e che il valore misurato è solo il risultato dell'imprecisione del metodo; l'altra è che l'analita è presente nel campione e la ripetizione delle analisi fornisce in questo caso una media analitica ed un intervallo incerto di distribuzione all'interno del quale cade il primo valore misurato.

Statisticamente, per ogni valore misurato, possono essere determinate ad una precisione analitica nota (deviazione standard) entrambe le probabilità: o il segnale appartiene alla distribuzione del bianco o corrisponde alla presenza di analita. I criteri decisionali vengono stabiliti in base alla probabilità di errore.

La probabilità che il campione realmente non contenga l'analita anche se è stato ottenuto un segnale è conosciuta come *errore di prima specie* (decisione falsa positiva). La probabilità che il campione contenga l'analita anche se i risultati analitici presentano valori all'interno

della distribuzione del bianco è conosciuta come *errore di seconda specie* (decisione falsa negativa).

Per passare dal dominio dei segnali a quello delle concentrazioni, e quindi per risalire al valore di concentrazione corrispondente al limite di rivelazione LOD si costruisce un'opportuna curva di calibrazione dalla quale si ricavano le concentrazioni relative al limite di rivelazione e al limite di quantificazione dopo la verifica di:

- omogeneità della varianza dei segnali, corrispondenti ai valori di concentrazione usati come punti della retta (compresi i segnali del bianco replicati almeno 6 volte se non risultano outliers);
- Test del "lack-of-fit" (confronto fra varianza dovuta all'approssimazione del modello e quella ottenuta sperimentalmente);
- Test di Mandel (bontà del modello lineare rispetto a quello quadratico);

Limite di quantificazione (LOQ)

Qualora lo scopo di un'analisi sia la quantificazione di uno o più analiti in una matrice definita, è logico supporre che la deviazione standard debba essere una frazione trascurabile del segnale. Non esistendo un modello concordato, un'analisi si definisce quantitativa quando il segnale attribuito all'analita è 10-20 volte maggiore della deviazione standard del bianco.

Il valore di concentrazione corrispondente al segnale suddetto è il LOQ (*Limit of Quantification*) e rappresenta la minima concentrazione di analita in grado di essere quantificata ad un dato valore di precisione analitica (capacità di eseguire una misurazione quantitativa).

Per la validazione di un metodo analitico è di fondamentale importanza la determinazione del limite di rivelazione e del limite di quantificazione: infatti lavorando a bassi valori di concentrazione distinguere significativamente tra il segnale dell'analita dalla deviazione standard del bianco, intesa come matrice in assenza di analita, e ottenere un risultato quantitativo con sufficiente precisione può rappresentare un problema.

Selettività/specificità

Rappresenta il grado con cui il metodo può determinare un certo analita in una miscela complessa senza subire interferenze da parte di altri componenti presenti nella miscela: un metodo che è del tutto selettivo nei riguardi di un analita o di un gruppo di analiti è anche specifico (IUPAC "*specificity is the ultimate of selectivity*").

Quindi esprimendo la selettività in termini di massima concentrazione di interferente accettabile ai fini dell'applicabilità del metodo, la specificità può essere definita come selettività al 100%. Una tecnica analitica può essere selettiva ma non specifica, mentre una tecnica speci-

fica è anche selettiva.

In altre parole è la capacità di un metodo analitico di determinare un particolare analita in una particolare matrice senza risentire della presenza di interferenti di matrice o di altri componenti diversi dall'analita in esame.

I metodi quali la GC/MS e LC/MS la selettività è ottenuta o in fase di trattamento del campione, abbinando stadi di purificazione a tecniche selettive di estrazione e di arricchimento (es. colonnine o fibre per l'estrazione e purificazione), o in fase di separazione dei segnali (es. sfruttando le interazioni tra analita e le fasi stazionarie e mobili nei sistemi cromatografici) o in fase di rivelazione (per es. operando, per la GC/MS, con metodi sensibili e specifici: SIM con elezione degli ioni caratteristici; registrazione del segnale di ioni positivi e negativi).

Sebbene Selettività e Specificità siano spesso impiegate con significato equipollente, il termine *specificità* si riferisce ad un metodo che genera una risposta per un solo analita, mentre il termine *selettività* si riferisce ad un metodo che fornisce risposte distinguibili per un certo gruppo di analiti. Se la risposta per l'analita d'interesse si distingue dagli altri del gruppo, il metodo si definisce selettivo.

Le analisi di conferma devono essere specifiche per il singolo analita, per ovviare alla non specificità della maggior parte dei test immunologici che è per classi di sostanze, devono avere sensibilità uguale o maggiore al valore soglia stabilito nei test di primo livello e cut-off deve essere ad un valore più basso rispetto a quello dello screening

Robustezza

Si intende la capacità di un metodo di fornire dei risultati esatti in presenza di piccole variazioni delle condizioni sperimentali che possono verificarsi durante il lavoro di routine. Per valutare questo parametro si apportano deliberatamente piccole variazioni dei parametri che caratterizzano il metodo e possono, prevedibilmente, influenzarne la capacità di fornire risultati attendibili.

Al fine di migliorare le prestazioni del sistema analitico è opportuno ordinare le variabili in base alla loro influenza sull'esattezza del metodo, onde identificare quelle che hanno l'effetto più significativo (variabili critiche) e mantenerle sotto controllo durante l'analisi di routine.

Tipiche variabili da tenere sotto controllo sono: - stabilità delle soluzioni; - differenti strumentazioni; - differenti analisti.

Nella tecnica GC: - colonne differenti (diversi lotti e/o fornitori); - temperatura; - velocità di flusso.

Incerteza di misurazione

Rappresenta un'indicazione quantitativa della qualità del risultato analitico, indispensabile per conoscere l'attendibilità del dato. Nella norma ISO 17025 è definita come "parametro che, associato al risultato di una misurazione, caratterizza la dispersione dei valori che possono essere ragionevolmente attribuiti al misurando qualora siano state considerate tutte le sorgenti di errore associabili agli stadi della procedura analitica totale". Matematicamente può essere espressa come deviazione standard (o come semi-ampiezza) di un intervallo definito sulla base di un livello di fiducia.

CONCLUSIONI

Alla luce di quanto detto appare necessario per il laboratorio realizzare ed implementare un Sistema Qualità, conformandosi, pertanto, a parametri espliciti relativi al controllo della qualità e rivolgendosi a vari modelli di riferimento, che dettano standard di qualità in campo aziendale. E' quindi logico operare una scelta per il Sistema Qualità in conformità alle norme ISO riconosciute a livello europeo.

BIBLIOGRAFIA

1. van Zoonen P., Hoogerbrugge R, Gort S.M., van de Wiel H.J., van't Klooster H.A. (1999) Some practical examples of method validation in the analytical laboratory. Trends in analytical chemistry, vol. 18, n. 9-10, 584-593
2. Ferrara D.S., Tedeschi L., Frison G., Brusini G. (1998) Quality control in toxicological analysis. Journal of Chromatography B, 713, 227-243
3. Green J.M. (1996) A practical guide to analytical method validation. Analytical Chemistry, New and Features, May 1, 305A-309A
4. Wood R. (1999) How to validate analytical methods. Trends in analytical chemistry, vol. 18, n. 9-10, 624-632
5. Jimenez C., Ventura R., Segura J. (2002) Validation of qualitative chromatographic methods: strategy in antidoping control laboratories. Journal of Chromatography B, 767, 341-351
6. Eurachem Guide (1998), The fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 1st English Edition 1.0, LGC Teddington Ltd.
7. Currie L.A. (1999) Detection and quantification limits: origins and historical overview. Analytica Chimica Acta, 391, 127-134.
8. Vessman J., Stefan I., Van Staden J.F., Danzer K., Lindner W., Thorburn Burns D., Fajgelj A., Muller H. (2001) Selectivity in Analytical Chemistry (IUPAC Recommendations 2001), *Pure and Applied Chemistry*, Vol. 73, n. 8, 1381