

Promuovere l'accuratezza e la confrontabilità delle informazioni di laboratorio attraverso programmi di armonizzazione e standardizzazione

Ferruccio Ceriotti¹ Martina Zaninotto²

¹Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, S.C. Patologia Clinica, Milano

²Medicina di Laboratorio, Dipartimento di Medicina, Università di Padova

ABSTRACT

Promoting the accuracy and comparability of the laboratory's information through standardization and harmonization

Going through the different phases of the activity of the clinical laboratory, the need for harmonization and standardization are examined and the activities directed to improve the situation are proposed. Regarding the analytical phase the progress in standardization requires an amelioration of the introduction in the daily practice the concept of metrological traceability and measurement uncertainty. Also, a clear definition of the analytical performance specifications and their use within the various aspects of the activity (internal quality control, method verification and development, external quality assessment) are a requirement to define common targets and harmonized level of analytical quality. The pre-analytical phase harmonization requires intervention in standardizing the blood drawing and especially the indications for the storage and transportation of the different types of samples. In the post-analytical phase harmonization initiatives involve the standardized description of the measurands, the form of the report, the unity of measurement and the reference intervals. For the units of measurement and the reference intervals a series of minimal requirements are presented: elimination of /mL and mEq/L, use of g/L or mg/L for proteins; need for sex and age-related intervals, clear specifications for decision limits.

Parole chiave: armonizzazione, standardizzazione, medicina di laboratorio

INTRODUZIONE

Promuovere l'accuratezza e la confrontabilità delle informazioni di laboratorio attraverso programmi di armonizzazione e standardizzazione rappresenta il primo punto del decalogo proposto da Mario Plebani nel Manifesto sul futuro della medicina di laboratorio pubblicato su questa rivista nel 2020 (1). Il lavoro era una rielaborazione di quanto pubblicato dallo stesso Autore, assieme a Laposata e Lippi, l'anno precedente (2) e non a caso il cambiamento principale fra i 10 punti proposti era proprio quello relativo all'armonizzazione. Infatti Plebani assieme a Miller, riprendendo in esame in una lettera i 10 punti del "Manifesto", sempre nel 2019 sottolineava come l'armonizzazione rappresentasse un elemento essenziale per la realizzazione di almeno tre

fra i 10 punti elencati: la gestione guidata dal laboratorio clinico non può funzionare adeguatamente in assenza di risultati accurati, la qualità degli intervalli di riferimento non può prescindere dall'armonizzazione sia della fase analitica che preanalitica ed infine se i risultati prodotti non sono armonizzati è difficile inserirsi efficacemente nei percorsi clinici (3).

Parlando di strategie per il futuro è infatti fondamentale che queste siano costruite su basi solide e l'affidabilità delle informazioni prodotte dal laboratorio costituisce un prerequisito che dovremmo dare per scontato ma, purtroppo, ancora oggi scontato non è.

Quando si parla di accuratezza e confrontabilità delle informazioni, requisiti essenziali per poter attuare una vera "medicina di precisione", si è portati a ragionare in primo luogo sul processo analitico. Questo aspetto

Corrispondenza a: Ferruccio Ceriotti Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Via Francesco Sforza 35, 20122 Milano - Email: ferruccio.ceriotti@policlinico.mi.it

Ricevuto: 14.09.2023

Revisionato: 14.09.2023

Accettato: 14.09.2023

Publicato on-line: 02.10.2023

DOI: 10.19186/BC_2023.073

è fondamentale, ma senza una armonizzazione/standardizzazione anche di tutte le altre fasi del processo della medicina di laboratorio, dalla pre-preanalitica alla post-postanalitica, anche una fase analitica perfetta serve a poco. Sull'argomento "armonizzazione" è stato scritto molto ma fatto piuttosto poco, e sarebbe il momento di passare dalle parole ai fatti.

Già 9 anni fa Clinica Chimica Acta aveva dedicato un intero numero all'armonizzazione (4), SIBioC aveva seguito l'esempio alla fine del 2015 (5) cercando di dar seguito ad una sorta di documento programmatico pubblicato da me all'inizio di quell'anno (6).

Qual è la situazione a distanza di 8 anni e cosa si può fare per progredire?

LE FASI DEL PROCESSO DI LABORATORIO

Fase analitica

In questo contesto, più che in altri, i due termini "standardizzazione" e "armonizzazione" possono sembrare in contrapposizione, in realtà si tratta di due modalità di armonizzazione: la standardizzazione è quella definitiva che permette di rendere i risultati tra loro confrontabili perché riferibili ad un unico sistema metrologico di riferimento. L'armonizzazione è un processo intermedio basato su approcci pragmatici per rendere i risultati confrontabili tra loro quando un sistema di riferimento non è disponibile.

Per "sistema di riferimento" si intende la definizione di materiali di riferimento, metodi di riferimento e laboratori di riferimento (7). Oggi, sistemi di riferimento sono disponibili solo per una piccola minoranza di misurandi, ma sono quelli più comunemente richiesti e coprono probabilmente almeno il 70% di tutti i risultati prodotti; è quindi estremamente importante che, almeno per questi misurandi, la teoria sia messa in pratica al meglio. Ai tre costituenti originali dei sistemi di riferimento Panteghini et al. hanno aggiunto altri 3 pilastri: Intervalli riferimento e limiti decisionali riferibili, sistema di controllo (interno ed esterno) adeguato, traguardi di incertezza definiti (8). Il senso di queste aggiunte è chiaro: senza un elemento di confronto coerente (intervallo di riferimento o valore decisionale) il risultato ottenuto potrebbe essere interpretato in modo scorretto, vanificando i vantaggi della standardizzazione (vedi più avanti, fase post-analitica); il sistema di controllo è fondamentale per garantire l'effettiva stabilità del sistema e l'efficacia dell'implementazione del processo di standardizzazione, infine i traguardi di incertezza rappresentano il riferimento su cui tarare tutto il sistema.

Di fatto, per quanto riguarda la standardizzazione della fase analitica possiamo estrapolare tre parole chiave:

- tracciabilità (riferibilità) metrologica,
- incertezza di misura,
- specifiche delle prestazioni analitiche.

Su questi tre aspetti si dovranno indirizzare gli sforzi della Società e di ciascuno dei soci.

Tracciabilità (riferibilità) metrologica

Il termine Inglese metrological traceability, è la proprietà del risultato di una misura che permette di collegarla ad un riferimento, attraverso una catena ininterrotta di calibrazioni, ciascuna delle quali contribuisce all'incertezza della misura finale (9). Il riferimento può essere una unità di misura, un metodo di riferimento oppure uno standard, in base alla tipologia di misurando ed al sistema di riferimento disponibile. Questo concetto, intuitivamente semplice (se tutti si riferiscono al medesimo riferimento, tutti i risultati ottenuti, a prescindere dal metodo utilizzato ed entro una certa incertezza, saranno confrontabili), è però difficile da realizzare per una serie di ragioni: la catena di calibrazioni può prevedere maggiore o minor numero di passaggi; i riferimenti presi possono avere caratteristiche diverse e, soprattutto, la mancata commutabilità dei calibratori può interrompere la catena introducendo un bias. Quando utilizziamo una bilancia sperimentiamo la completa realizzazione di questo concetto; per le analisi di laboratorio, malgrado alcuni progressi concreti, siamo ancora molto lontani da questo livello. In particolare ancora alcuni parametri chiave per la diagnostica soffrono di problemi di mancanza di reale riferibilità, tra quelli a più elevato impatto clinico ci sono gli enzimi e la creatinina. Paradigmatico è l'esempio dell'alanina aminotransferasi (ALT). ALT è il parametro di primo livello per identificare la presenza di una patologia epatica, di qualsiasi origine (10). Questo suo ruolo richiederebbe il massimo della standardizzazione in modo da poter utilizzare un unico valore decisionale. Però sono in commercio sia metodi che includono fra i reattivi il coenzima piridossal fosfato (P5P) sia metodi che non ne prevedono l'uso e quasi tutti i produttori forniscono entrambe le opzioni (la motivazione tecnica è che i reattivi senza P5P hanno una maggiore stabilità ed un costo lievemente inferiore). Ma se si usa un metodo senza P5P non è possibile affermare la riferibilità al metodo di riferimento IFCC che invece ne prevede l'uso. Di fatto con un metodo si misura l'attività enzimatica totale, in quanto tutte le molecole di ALT presenti sono legate al cofattore, con l'altro metodo invece non viene misurata l'attività delle molecole di ALT prive di cofattore e la percentuale di questa componente non è costante, e in alcuni casi (dializzati, pazienti oncologici in terapia) può essere molto elevata. Quindi, pur se i produttori dichiarano la tracciabilità al metodo di riferimento anche per i metodi privi di P5P, questa dichiarazione non è corretta. L'uso di queste due tipologie di reattivi comporta intervalli di riferimento lievemente differenti e quindi è sbagliato proporre, come fa la linea guida dei Gastroenterologi Americani (11) valori decisionali per sospettare una patologia epatica, di 29-33 U/L per i maschi e 19-25 U/L per le donne, valori basati su risultati ottenuti senza P5P e che non tengono in considerazione le differenze metodologiche. Questo aspetto era già stato fatto presente da Panteghini et al. (12) ed è stato riproposto recentemente (13) mettendo in luce i rischi di considerare malati soggetti sani, inducendo procedure diagnostiche anche invasive come la biopsia epatica. Non mi soffermo ulteriormente sul caso creatinina, su

cui sono stati spesi da molti, sottoscritto incluso, fiumi di inchiostro nel corso degli ultimi 30 anni, ad indicare come i metodi chimici basati sulla reazione con il picrato alcalino (il cosiddetto metodo di Jaffe) sono soggetti ad una serie di interferenze sia positive che negative che impediscono di fatto di riferire i risultati ottenuti con questo metodo alla mole di creatinina e che quindi ne chiedono il definitivo abbandono (14-18). Le motivazioni economiche a sostegno del suo mantenimento non possono reggere al confronto con la maggiore qualità dei risultati ed i conseguenti vantaggi per i pazienti. Dobbiamo quindi essere noi laboratoristi a richiedere all'industria i reattivi più validi dal punto di vista scientifico ed in questo senso non posso che fare mio l'appello di M. Panteghini pubblicato lo scorso anno su *Clinical Chemistry* (19).

Incertezza di misura

Questo parametro indica la dispersione dei valori che il misurando potrebbe assumere (9). La dispersione dei valori dipende sia da imprecisione che dall'eventuale presenza di un bias (scostamento sistematico). Il principio base per la sua definizione è quello di comprendere tutte le fonti di variabilità che possono affliggere la misura e, se ci sono errori di tipo sistematico, questi vanno corretti e la variabilità legata alle operazioni di correzione va inserita nel calcolo (20).

Ci sono vari approcci per la sua definizione, nel caso del laboratorio clinico la modalità consigliata è piuttosto semplice e parte proprio dai dati raccolti con il programma di CQI (21). Il dato del CV semestrale sintetizza in pratica tutta la componente relativa all'imprecisione, mentre l'incertezza associata al valore del calibratore rappresenta la componente di errore sistematico. La presenza di errori sistematici di breve durata, legati ad una specifica calibrazione o ad una particolare confezione o lotto di reattivo, aumentano il livello di imprecisione calcolato sul lungo periodo (sei mesi appunto).

La formula per il calcolo è la seguente:

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

dove u_{imp} è il CV dei 6 mesi precedenti e u_{bias} è l'incertezza legata al valore assegnato al calibratore (da richiedere al produttore).

Conoscere l'incertezza delle proprie misure è fondamentale a rappresenta un requisito per l'accreditamento ISO 15189. Se calcolata in maniera standardizzata, applicando quindi la formula sopra riportata in modo uniforme, essa costituisce una modalità di confronto fra laboratori ed un riferimento per le prestazioni dei vari sistemi analitici nonché una indicazione dello stato dell'arte di una determinata misura.

Gli aspetti ancora da mettere a punto non sono pochi, quello più banale è relativo alla disponibilità ed alla correttezza dei dati relativi all'incertezza del valore assegnato al calibratore che dovrebbero essere più facilmente disponibili. Un secondo punto è a quale concentrazione calcolare l'incertezza; per alcuni misurandi infatti i risultati variano sensibilmente in

base alla concentrazione. In questo caso la risposta è relativamente semplice: la concentrazione a cui l'effetto della variabilità è più critico dal punto di vista clinico (ad esempio, per il glucosio alla soglia per la diagnosi di diabete (126 mg/dL o 7,0 mmol/L)). Un terzo elemento critico è il materiale da utilizzare che dovrebbe essere il più possibile commutabile in modo da rispecchiare fedelmente il comportamento del sistema analitico con i pazienti.

Specifiche delle prestazioni analitiche

Il termine Inglese analytical performance specifications, APS, indica la qualità necessaria per le nostre analisi. Sono il punto di riferimento per una serie di processi:

- per la definizione delle caratteristiche prestazionali dei metodi: da quelli di riferimento a quelli di uso quotidiano;
- per la definizione delle caratteristiche dei materiali di calibrazione e controllo: l'incertezza legata all'assegnazione del valore, alla stabilità, omogeneità e commutabilità dei materiali devono essere tali da non accrescere l'incertezza di misura finale al di là delle specifiche definite;
- per la valutazione delle prestazioni dei laboratori: definizione delle regole di allarme del CQI e classificazione delle prestazioni nei programmi di VEQ.

Da quanto detto appare evidente quanto sia critica la loro corretta definizione. Il problema chiave non è tanto la teoria su come definire queste specifiche quanto l'attuazione pratica di questa teoria in modo da scegliere quali valori attribuire alle specifiche di qualità analitica per ciascuna analisi. I criteri da usare infatti sono stati ormai chiariti dalla Conferenza di Stoccolma prima (1999) e da quella di Milano (2014) successivamente (22): effetto della qualità analitica sull'esito per il paziente (specifiche basate sull'esito clinico); specifiche definite dalla variabilità biologica del misurando, specifiche definite dallo stato dell'arte. Alcune indicazioni sono state date (23) ma è difficile passare dalla teoria a valori da applicare nella pratica.

Anche in questo caso, come nei precedenti, gli aspetti da risolvere non mancano e possono essere riassunti in questi punti:

- quale dei tre approcci utilizzare per un dato misurando;
- ci possono essere più valori di APS per lo stesso misurando a seconda del contesto di utilizzo del dato (ad esempio, diagnosi *versus* monitoraggio oppure urgenza o POCT), con necessità di chiarire bene quale valore usare in base appunto al contesto in cui il dato viene utilizzato;
- come correlare il risultato delle analisi di laboratorio con l'esito di salute per il paziente;
- cosa si intende per stato dell'arte;
- se usare APS separate per precisione e bias, se combinarle in una APS per l'errore totale o se ottenere il dato relativo alla massima incertezza accettabile.

Relativamente ai tre approcci per la definizione delle APS sono stati fatti notevoli passi avanti, in particolare relativamente al punto relativo alla variabilità biologica. Su questo infatti è stata sia approfondita la teoria che

sono stati raccolti molti dati sperimentali, in particolare attraverso lo studio EuBIVAS e l'attività del Working Group dedicato di EFLM. Un riassunto completo delle attività fatte e dei risultati raggiunti può essere trovato nell'editoriale di Sandberg et al (24). Frutto di queste attività è il data base della EFLM sulla variabilità biologica (biologicalvariation.eu) che rappresenta il riferimento per calcolare APS basate sulla variabilità biologica.

Per lo stesso analita ci possono essere più APS. A di là del dato ottimale in assoluto, basato sull'applicazione della teoria, ci possono essere altri valori che tengano conto di situazioni contingenti e variabili accessorie. Gli esempi da citare possono essere molti, ne scelgo alcuni. Per l'emoglobina glicata (HbA1c), se usata per il monitoraggio del paziente diabetico, la modalità per il calcolo dell'APS dovrebbe essere basata sulla variabilità biologica intra-individuale che, essendo molto contenuta ($CV_I 1,6\%$) (25), comporta la specifica di un $CV_A \leq 0,8\%$ ed una massima incertezza di misura dell'1,6%. Se invece viene utilizzata per la diagnosi di diabete il criterio da utilizzare dovrebbe essere quello dell'outcome; in questo caso però non ci sono studi, se non di simulazione, che portano ad un valore di CV_A del 2%. Un altro caso tipico è il sodio. La modalità da utilizzare è sicuramente quella basata sulla variabilità biologica, ma, dato il CV_I molto basso (0,5%), anche con le specifiche minime siamo al di sotto delle prestazioni raggiungibili con l'attuale stato dell'arte, quindi non compatibili con la definizione di limiti per i programmi di VEQ o di CQI che devono quindi essere basate sullo stato dell'arte.

Il problema di come correlare l'incertezza di misura agli esiti di salute per il paziente rimane aperto. Di fatto non esistono né sono realisticamente ipotizzabili studi clinici in doppio cieco per confrontare l'effetto di due metodi analitici con diverse caratteristiche, e non è neppure semplice ipotizzare quale tipo di esito monitorare (sopravvivenza, giorni di ricovero, tempo per il ripristino delle funzioni e quant'altro) anche perché questi effetti non dipendono direttamente dal risultato dell'esame, ma dalle azioni che si intraprendono a seguito del risultato e se queste azioni non sono standardizzate diventa difficile capire quale sia stato l'effetto della qualità dell'esame. In pratica l'unico approccio che sembra praticabile, anche se i dati finora disponibili sono pochi, è quello della simulazione, basato su ipotesi di livelli di misclassificazione dei pazienti al variare delle prestazioni dell'esame.

I possibili interventi concreti per migliorare l'armonizzazione della fase analitica sono indicati in Tabella 1.

Fase pre-analitica

Sull'armonizzazione della fase pre-analitica è già stato detto molto (27,28) e non vale la pena aggiungere molte altre parole.

Gli aspetti importanti riguardano il prelievo e le modalità di conservazione e trasporto dei campioni. Quest'ultimo aspetto diventa ogni giorno più rilevante, data la tendenza alla riduzione del numero dei laboratori

ed all'aumento delle tipologie di analisi. È un aspetto molto delicato su cui esiste un importante documento di FISMELAB (29), forse non sufficientemente conosciuto, ma che richiede un continuo aggiornamento, sia per la necessità di aggiungere i nuovi esami sia per il fatto che le condizioni di stabilità di un dato misurando non dipendono solo dalle sue caratteristiche biochimiche, ma anche dal metodo utilizzato per misurarne la concentrazione. In particolare con i metodi immunochimici ciò che conta è la stabilità degli epitopi riconosciuti dagli anticorpi, stabilità che può essere molto differente tanto da far sì che non si possano definire condizioni standard, ma queste ultime si debbano rapportare al metodo utilizzato per la misura.

Il possibile intervento per migliorare l'armonizzazione della fase pre-analitica, è riportato in Tabella 2

Tabella 1

Interventi per l'armonizzazione della fase analitica

Utilizzare solo metodi in grado di produrre risultati tracciabili al Sistema di Riferimento (ad esempio creatinina enzimatica, transaminasi con P5P, inserire i requisiti di riferibilità metrologica nelle gare di acquisto).

Adottare un approccio uniforme alla gestione del controllo di qualità interno.

Calcolare l'incertezza della misura.

Armonizzare le specifiche di qualità (CQI, VEQ).

Uniformare l'approccio alla gestione dei campioni emolizzati (26).

Tabella 2

Intervento per migliorare l'armonizzazione della fase pre-analitica

Aggiornare, pubblicizzare e sorvegliare l'applicazione delle raccomandazioni per la conservazione ed il trasporto dei campioni biologici.

Fase post-analitica

Gli aspetti principali per migliorare il livello di armonizzazione della fase post-analitica sono i seguenti:

- denominazione uniforme degli esami nei vari laboratori;
- referto il più possibile standardizzato;
- unità di misura uguali in tutti i laboratori;
- intervalli di riferimento e valori decisionali omogenei.

I primi tre punti non richiedono particolari attività di ricerca né implicano costi, ma solo grandi capacità di coinvolgimento dei soci e di eventuale indirizzo delle normative, il quarto punto invece è particolarmente complesso e si collega anche alla capacità di standardizzazione della fase analitica.

Relativamente alla denominazione degli esami, nel marzo 1985 la Commissione Grandezze e Unità di SIBioC aveva prodotto un documento (104 pagine) dal titolo "Nomenclatura e unità di misura per il laboratorio di analisi" a firma di Giorgio De Angelis, Carlo Franzini,

Massimo Luzzana, Anna Maria Salvati, Leonardo Tentori e Guido Tettamanti che però non ci risulta sia mai andato oltre la forma di “ciclostile” in cui è presente nella biblioteca di uno di noi (FC) e quindi non è arrivato al grande pubblico dei soci.

Le indicazioni che ci sentiamo di formalizzare, che riprendono quelle di quasi 40 anni fa, e che saranno contenute anche in un documento della Regione Lombardia in corso di preparazione, sono le seguenti.

La denominazione riportata sul referto deve, in maniera al tempo stesso chiara, sintetica, scientificamente corretta ma comprensibile all’utenza, esprimere:

- la “proprietà” oggetto dell’analisi (misurata o osservata) cioè la denominazione del misurando scientificamente corretta e uniforme in tutti i laboratori,
- il materiale su cui l’analisi è stata effettuata;
- eventuali condizioni accessorie utili per la comprensione del risultato.

Le modalità per esprimere in modo logico, standardizzato, chiaro e non ambiguo questi concetti sono state sviluppate dalla IFCC in un sistema detto NPU (nomenclature, properties and units) (30). Una applicazione semplificata di questo approccio prevede la seguente struttura della descrizione dell’esame:

- sistema: materiale su cui è eseguita l’analisi, abbreviato tramite un prefisso (vedi Tabella 3);
- componente (misurando): l’elemento oggetto dell’analisi;
- unità di misura (parte integrante della descrizione dell’analisi).

Un questionario del 2022 a cui hanno risposto quasi 200 laboratori della Regione Lombardia ha indicato che pochi laboratori adottano questa modalità di denominazione degli esami e quindi una operazione di armonizzazione è sicuramente necessaria.

Per quanto riguarda la struttura del referto questa è normata dal DPCM 178 del 2015 (31), anche se l’applicazione di questo decreto non è stata di fatto realizzata, per lo meno nella sua applicazione ai referti oggi prodotti dalla maggior parte dei laboratori.

Unità di misura

È un argomento dibattuto. Nel lontano 1967 fu pubblicata dalla IFCC la raccomandazione: “Grandezze e Unità in Chimica Clinica” con le indicazioni sulla modalità di adozione delle unità del SI nell’esprimere i risultati delle misurazioni di laboratorio clinico (32).

Queste le raccomandazioni presenti in quel documento di 56 anni fa:

- solo il litro dovrebbe essere usato come denominatore in unità di concentrazione che coinvolgono un volume di soluzione;
- la mole dovrebbe essere utilizzata quando possibile per esprimere la quantità di sostanza nei risultati del laboratorio clinico;
- dovrebbero essere utilizzati di preferenza multipli interi di unità come potenze di dieci (millimole = 10^{-3} moli, micromole = 10^{-6} moli, e così via);
- l’uso della mole è da preferire “quando possibile”: in molti casi, il peso molecolare o l’omogeneità dell’analita misurato non sono sufficientemente noti, e devono quindi essere ancora utilizzate le unità gravimetriche invece delle unità molari. Il sistema SI comprende quindi due diversi tipi di unità di concentrazione: concentrazione di massa (g/L, mg/L, μ g/L,.....) e la quantità di sostanza (molare) (mol/L, mmol/L, μ mol/L,.....). Per le sostanze dalla composizione chimica definita (ione, atomo, molecola) è consigliabile utilizzare la quantità di concentrazione della sostanza;
- la concentrazione equivalente (mEq/L), comunemente usata per riportare i risultati delle misure di elettroliti non fa parte del sistema SI e deve essere sostituita dalla concentrazione molare (mmol/L): per gli ioni monovalenti il valore numerico non cambierà;
- la concentrazione di massa è raccomandata per tutte le misurazioni di proteine e di altre sostanze che non hanno una composizione sufficientemente ben definita; l’unità di misura della concentrazione di massa va espressa in termini di litro (g/L, mg/L,).

Il razionale dell’approccio all’uso delle unità SI era quello di

Tabella 3

Prefissi da utilizzare per la descrizione del materiale su cui viene eseguita l’analisi (sistema)

Materiale	Prefisso	Materiale	Prefisso
Plasma	P	Espettorato	Esp
Siero	S	Liquido amniotico	Amf
Sangue Intero	Sg *	Eritrociti, Globuli Rossi	Erit
Urina	U	Leucociti, Globuli Bianchi	Leuc
Urina delle 24 ore	dU	Liquido ascitico, peritoneale	Lasc
Feci	F	Liquido peritoneale	Lpl
Liquido cefalorachidiano	Lcr	Liquido sinoviale	Lsin

**Se il dispositivo di misura utilizza sangue intero come campione, ma dispone di un sistema interno per la separazione del plasma ed i risultati sono relativi alla concentrazione plasmatica della sostanza il prefisso da utilizzare è P*

fornire rapporti quantitativi più chiari tra le specie molecolari e la possibilità di perseguire una standardizzazione delle basi di dati. Queste raccomandazioni erano valide allora e lo sono ancora oggi.

Questi i principali argomenti a favore dell'adozione delle moli (quantità di sostanza):

- la maggior parte dei metodi di analisi (spettroscopici, fluorimetrici, immunologici) sono basati sulla misura della quantità di molecole e non sulla loro massa;
- la concentrazione di uno standard di calibrazione viene determinata in modo univoco, non influenzata dallo stato chimico del materiale utilizzato;
- le relazioni fisiologiche tra sostanze comunemente si verificano su base molare. L'uso di unità molarie può aiutare quindi a comprendere più facilmente i meccanismi molecolari dei processi patologici: quando gli analiti sono espressi in unità di concentrazione di massa, per esempio mg, la quantità relativa della sostanza non è immediatamente evidente.

Il passaggio a questo tipo di unità è avvenuto nel Nord Europa, ma non in Italia, dove la grande maggioranza dei laboratori è rimasto sulle unità tradizionali.

Un questionario somministrato nel 2022 ai laboratori Lombardi sulle unità di misura utilizzate per alcuni analiti chiave ha dato i risultati illustrati nella Tabella 4 che mostrano come anche le indicazioni più semplici (ad esempio l'abbandono dei mEq/L) non sono state ancora adottate da una larga parte dei laboratori.

Se il passaggio all'utilizzo generalizzato delle unità di sostanza (moli) forse oggi non è più realizzabile, almeno ci si dovrebbe accordare su altri aspetti relativamente semplici come quelli proposti in Tabella 5.

Intervalli di riferimento

Altro argomento estremamente complesso, su cui in tanti hanno lavorato e stanno lavorando da decenni. Chiaramente il fatto che referti di laboratori dello stesso territorio, che magari usano strumentazione analoga, presentino intervalli di riferimento (IR) diversi è difficile da accettare ed impossibile da comprendere per i non addetti ai lavori. Però l'adozione di IR comuni, uguali fra i diversi laboratori, per essere una operazione corretta ed efficace deve essere subordinata ad alcuni prerequisiti (33,34) non facili da ottenere:

- che metodi standardizzati siano disponibili, e che il laboratorio li utilizzi correttamente con un elevato livello di controllo;
- che sia disponibile un IR adeguato, che la popolazione che affrisce al laboratorio sia analoga a quella su cui è stato definito l'IR.

Un importante sviluppo verso la possibilità di adozione di intervalli di riferimento comuni è presentato in un recente lavoro di un gruppo Canadese (35), anche se ci sono ancora aspetti su cui lavorare (36).

Alcuni passi avanti però si possono fare da subito e la loro necessità è dimostrata dai questionari distribuiti nel 2022 da Regione Lombardia. Mi riferisco alla necessità di avere per alcuni misurandi IR suddivisi per sesso e, in alcuni casi anche per età. Sono aspetti fondamentali che hanno a che fare con la qualità delle informazioni fornite. Il caso più importante, sia per la frequenza delle risposte che per le conseguenze sulla salute, è quello della creatinina: non distinguere gli IR degli uomini da quelli delle donne comporta il grave rischio di non identificare

Tabella 4

Unità di misura in uso in Lombardia (questionario anno 2022 risposta da 166 laboratori)

Misurando	Unità di misura		
Colesterolo totale	mg/dL (100%)		
Proteine totali	g/dL (86%)	g/L (14%)	
Ferro	µg/dL (96%)	µg/L (2%)	µmol/L (2%)
IgG	mg/dL (78,5%)	g/L (21,5%)	
Proteina C-reattiva	mg/dL (54,9%)	mg/L (45,1%)	
Sodio	mmol/L (55%)	mEq/L (45%)	
Emoglobina glicata	mmol/mol (39,4%)	% (1,5%)	Entrambe (59.1%)
Emoglobina	g/L (10%)	g/dL (90%)	
Ematocrito	L/L (6%)	% (94%)	

Tabella 5

Interventi per migliorare l'armonizzazione del referto

Passaggio immediato, (non comporta variazione dei valori refertati)

- eliminare i mEq/L per sodio e potassio
- eliminare il mL come unità di volume (ad esempio, ng/mL diventano µg/L)

Un secondo passaggio richiede informazione e formazione preliminare dei clinici:

- eliminazione per le proteine delle unità di misura g/dL e mg/dL (valori che aumentano di 10 volte per la trasformazione da g/dL a g/L e da mg/dL a mg/L o si riducono di 100 volte passando da mg/dL a g/L)
- HbA1c solo in mmol/mol
- Troponina (I o T) solo in ng/L

come patologico un valore di creatinina elevato in una donna perché ancora nell'ambito di riferimento per il sesso maschile. Ancora più grave, sempre per la creatinina, è l'assenza di IR pediatrici: per un bambino di 3 anni avere una creatinina che cade entro l'intervallo di riferimento di un maschio adulto significa essere in grave insufficienza renale.

La Tabella 6 però indica come il 6% dei laboratori che hanno risposto non riporti IR suddivisi per sesso per nessuno dei misurandi chiave indicati e solo l'82% riporta IR separati per sesso per la creatinina.

Anche la presenza di IR pediatrici appare una evenienza non frequente come indicato dalla Tabella 7. In questo caso le considerazioni sono più difficili da fare perché non è detto che tutti i laboratori trattino una popolazione pediatrica.

Tabella 6

Intervalli di riferimento. Percentuali di laboratori della Regione Lombardia che riporta Intervalli di riferimento separati per sesso (questionario 2022, risposta da 150 laboratori)

Misurando	% di laboratori che presenta IR separati per sesso
Alanina amminotransferasi (ALT)	55,6%
Aspartato amminotransferasi (AST)	51,7%
Creatinchinasi (CK)	70,0%
Creatinina	82,8%
Ferritina	78,1%
Ferro	71,5%
Fosfatasi alcalina (ALP)	64,2%
Gamma-glutamilttransferasi (GGT)	75,5%
Sodio	6,6%
Urato	68,9%
Per nessuno dei misurandi sopra elencati	6,6%

Tabella 7

Intervalli di riferimento. Percentuale di laboratori della Regione Lombardia che presentano intervalli di riferimento suddivisi per età per alcuni misurandi chiave (questionario anno 2022, 136 risposte)

Misurando	% di laboratori che presenta IR suddivisi per età
Calcio totale	36,0%
Creatinina	47,8%
Fosfatasi alcalina (ALP)	80,1%
Fosfato inorganico	47,1%
Lattato deidrogenasi (LDH)	46,3%
Nessuno dei misurandi sopra elencati	14,0%

Tabella 8

Possibili iniziative di armonizzazione per gli Intervalli di Riferimento

- Se sono disponibili valori decisionali preferire questi ultimi agli intervalli di riferimento. Identificare chiaramente che si tratta di valori decisionali.
- NON fornire contemporaneamente intervalli di riferimento e valori decisionali, soprattutto quando questi comportano informazioni decisamente contrastanti (ad esempio per i lipidi)
- Fornire intervalli suddivisi per sesso almeno per i seguenti misurandi:
ALP, ALT, CK, creatinina, GGT, IgM, ferritina, ferro, transferrina, urato, globuli rossi, emoglobina, ematocrito
- Fornire intervalli di riferimento pediatrici almeno per i seguenti misurandi:
ALP, amilasi, creatinina, fosfato inorganico, LDH, AST, urato, leucociti, eritrociti, emoglobina, ematocrito, Insulin like growth factor 1 (IGF1)

Relativamente agli Intervalli di Riferimento le iniziative di armonizzazione possibili sono raggruppate in Tabella 8

CONCLUSIONI

Come detto nell'introduzione ci sono molti aspetti in cui un intervento di armonizzazione in tempi brevi è sicuramente possibile, è solo necessario agire, la teoria e le indicazioni pratiche sono ampiamente disponibili. Ciascuno di noi si deve sentire investito dalla necessità di intervenire per modificare la sua realtà. Per altri aspetti serve ancora approfondire la teoria e pretendere sviluppi da parte dell'industria, ma anche in questo caso un ruolo attivo di ciascuno è importante.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Centro Regionale di Coordinamento della Medicina di Laboratorio – DG Welfare Regione Lombardia ed in particolare la Dott.ssa Sabrina Buoro ed il Dr. Fabio Pasotti per i dati dei questionari relativi ai Laboratori di Regione Lombardia.

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

- Plebani M. Il futuro della Medicina di Laboratorio: un Manifesto per i suoi professionisti. *Biochim Clin* 2020;44:263–9.
- Plebani M, Laposata M, Lippi G. A manifesto for the future of laboratory medicine professionals. *Clin Chim Acta* 2019;489:49–52.
- Miller WG, Plebani M. Why harmonization is essential to realize the manifesto for the future of laboratory medicine. [Letter] *Clin Chim Acta* 2019;495:76.
- Tate JR, Johnson RJ, Barth JH. A special issue for *Clinica Chimica Acta* “Harmonization of laboratory testing - A global activity”. *Clin Chim Acta* 2014;432:1-3.
- Cerriotti F, Panteghini M. Armonizzazione in Medicina di Laboratorio. *Biochim Clin* 2015;39:546-7.
- Cerriotti F. Standardizzazione e armonizzazione: SIBioC in prima linea. *Biochim Clin* 2015;39:48-55.
- Müller MM. Implementation of reference systems in laboratory medicine. *Clin Chem* 2000;46:1907-9.
- Braga F, Panteghini M. Verification of in vitro medical diagnostics (IVD) metrological traceability: responsibilities and strategies. *Clin Chim Acta* 2014;432:55-61.
- JCGM 200 : 2008 International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM) . Vol. 3, International Organization for Standardization Geneva. 2008 Available from: http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf (ultimo accesso: agosto 2023)
- Panteghini M. Serum enzymes. In: Rifai N, Chiu RWK, Young I, Burnham CAD, Wittwer CT E, editor. *Tietz Textbook of Laboratory Medicine*. 7th ed. Elsevier: St. 163 Louis; 2023. p. 350.
- Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of abnormal liver chemistries. *Am J Gastroenterol* 2017;112:18–35.
- Panteghini M, Adeli K, Cerriotti F, Sandberg S, Horvath AR. American liver guidelines and cutoffs for “normal” ALT: A potential for overdiagnosis. *Clin Chem* 2017;63:1196-8.
- Hunt CM, Lee TH, Morgan TR, Campbell S. One ALT is not like the other. *Gastroenterology* 2023;165:320-3.
- Blijenberg BG, Brouwer HJ. The accuracy of creatinine methods based on the Jaffé reaction: a questionable matter. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994;32:909-14.
- Cobbaert CM, Baadenhuijsen H, Weykamp CW. Prime time for enzymatic creatinine methods in pediatrics. *Clin Chem* 2009;55:549-58.
- Panteghini M, Myers GL, Miller WG, Greenberg N. The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1287-92.
- Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: A report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 2006;52:5-18.
- Cerriotti F. Determinazione della creatinina: per i laboratori è tempo di agire. *Biochim Clin* 2010;34:9-10.
- Panteghini M. Laboratory community should be more proactive in highlighting the negative impact of analytical non-selectivity of some creatinine assays. *Clin Chem* 2022;68:723.
- Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. 2008 Available from: https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf (ultimo accesso: agosto 2023)
- International Organization for Standardization (ISO). *Medical laboratories — Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty*. ISO/TS 20914. 2019.
- Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:833-5.
- Cerriotti F, Fernandez-Calle P, Klee GG, Nordin G, Sandberg S, Streichert T, et al. Criteria for assigning laboratory measurands to models for analytical performance specifications defined in the 1st EFLM Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:189-94.
- Sandberg S, Carobene A, Aarsand AK. Biological variation – eight years after the 1st Strategic Conference of EFLM. *Clin Chem Lab Med* 2022;60:465-8.
- European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) *Biological Variation Database* Available from: <https://biologicalvariation.eu/> (ultimo accesso: settembre 2023).
- Lippi G, Cadamuro J, von Meyer A, Simundic A-M. Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:718-27.
- Cadamuro J, Baird G, Baumann G, Bolenius K, Cornes M, Ibarz M, et al. Preanalytical quality improvement-an interdisciplinary journey. *Clin Chem Lab Med* 2022;60:662-8.
- Vermeersch P, Frans G, Meyer A Von, Costelloe S, Lippi G, Simundic AM. How to meet ISO15189:2012 pre-analytical requirements in clinical laboratories? A consensus document by the EFLM WG-PRE. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1047-61.
- Brando B, Cenci A, Crivelli F, Curcio F, Giardini R, Magliano E, et al. *Raccomandazioni-FISMeLab-per-il-trasporto-del-materiale-biologico* 2018. Available from: https://www.fismelab.org/wp-content/uploads/2018/07/Raccomandazioni-FISMeLab-per-il-trasporto-del-materiale-biologico_FINALE.pdf%0A (ultimo accesso: settembre 2023)
- Petersen UM, Dybkaer R, Olesen H. Properties and units in the clinical laboratory sciences, Part XXIII. The NPU terminology, principles and implementation -a user's guide (Technical Report 2011) (IFCC-IUPAC). *Pure Appl Chem* 2012;84:137-65.
- DECRETO DEL PRESIDENTE DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI 29 settembre 2015, n. 178 Regolamento in materia di fascicolo sanitario elettronico. *Gazz Uff* 2015;263:27-9.
- Dybkaer R, Jorgensen K. Quantities and Units in Clinical Chemistry. Including Recommendation 1966 of Commission on Clinical Chemistry of IUPAC and IFCC. København: Munksgaard: Williams & Wilkins Company; 1967.
- Cerriotti F. Prerequisites for use of common reference intervals. *Clin Biochem Rev* 2007;28:115-21.
- Panteghini M, Cerriotti F. Obtaining reference intervals traceable to reference measurement systems: Is it possible, who is responsible, what is the strategy? *Clin Chem Lab Med*

- 2012;50:813-7.
35. Bohn M, Bailey D, Balion C, Cembrowski G, Collier C, De Guire V, et al. Reference Interval Harmonization: Harnessing the Power of Big Data Analytics to Derive Common Reference Intervals Across Populations and Testing Platforms. *Clin Chem* 2023;69:991-1008.
 36. Ceriotti F, Vidali M. Reference interval harmonization: will big data provide a solution? [Editorial] *Clin Chem* 2023;69:945-7..