

Linee guida per gestione dei programmi di Controllo di Qualità Interno

Documento preparato a cura del Gruppo di Lavoro SIBioC Linee guida sul Controllo di Qualità Interno

Cosimo Ottomano¹, Ferruccio Ceriotti², Morena Galeazzi³, Pasquale Iandolo⁴, Corrado Romano⁵, Massimo Tocchini³, Arialdo Vernocchi⁶, Martina Zaninotto⁷

¹U.O. Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti di Bergamo

²Diagnostica e Ricerca San Raffaele S.p.A., IRCCS HS Raffaele, Milano

³Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti Umberto I-G.M. Lancisi-G.Salesi, Torrette di Ancona

⁴Laboratorio Analisi Centrale, Ospedale di Lavagna, Asl 4 Chiavarese, Lavagna (GE)

⁵Laboratorio Analisi, Azienda Sanitaria Locale di Chieti

⁶Servizio di Medicina di Laboratorio, Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera Ospedale Treviglio-Caravaggio, Treviglio (BG)

⁷Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera di Padova

INTRODUZIONE

Questo documento esce dopo oltre 10 anni da uno analogo dal titolo "Il controllo di qualità in chimica clinica: le basi, gli obiettivi, il disegno" (1). Come in quel caso, l'aspettativa degli estensori è rapportata all'importanza del tema: il controllo puntuale e evidente della affidabilità analitica dei laboratori diagnostici. Il presente documento si mantiene nel solco del precedente, ma ha l'ambizione di presentare l'argomento in modo pratico e operativo così da contribuire a chiudere il gap che esiste tra una teoria sofisticata ed una pratica spesso molto approssimativa. Infatti, il controllo di qualità comporta in molti Laboratori un dispendio economico di non poco conto per esami eseguiti e tempo dedicato, ma spesso manca quel disegno che renda questa attività davvero efficace per garantire la qualità del risultato.

Questo documento non si pone come un punto di arrivo, ma di partenza e grande è l'auspicio che possa essere veramente "in progress", crescendo e migliorando grazie al contributo dei soci, ma anche di tutti coloro che sono competenti e interessati all'argomento.*

FILOSOFIA DEL CQI

Un CQI correttamente implementato deve:

- permettere il controllo delle prestazioni analitiche di un metodo/sistema analitico in modo tale da fornire allarmi nel caso in cui quest'ultimo non stia più lavorando entro limiti di errore totale (ET) predefiniti (1). In questo caso infatti la qualità analitica dei risultati forniti dal metodo in esame potrebbe pregiudicare l'utilizzo clinico dei risultati; la segnalazione di "fuori controllo" dovrebbe essere inoltre resa disponibile in un tempo sufficientemente breve per permettere di attivare azioni atte a riportare la situazione sotto con-

trollo prima dell'emissione dei referti relativi ai campioni analizzati nel corso della serie;

- verificare la stabilità del metodo/sistema analitico a medio - lungo termine.

Il programma si deve applicare a tutti gli esami del laboratorio che forniscano risultati quantitativi su scala continua (anche se i dati ottenuti sono in un secondo momento trasformati in termini di cut-off - ad es. HBsAg negativo) (2). Nel caso di risultati qualitativi, l'inserimento di un controllo negativo ed uno positivo permette di verificare la corretta esecuzione della procedura analitica, ma non consente alcun altro tipo di valutazione statistica.

Il programma è attuato analizzando campioni stabili e confrontando i risultati ottenuti con la distribuzione dei valori attesa in condizioni operative stabili.

PIANIFICAZIONE DEL CQI

Definizione delle specifiche di qualità dell'esame (vedi Appendice 1)

La specifica di qualità di un esame può essere definita come la massima variazione accettabile nelle prestazioni di un metodo che non comprometta l'interpretazione clinica del dato. Raccomandazioni su come definire le specifiche di qualità sono state definite in una consensus conference (3). L'ET massimo accettabile costituisce una modalità per definire le specifiche di qualità di una misura. Se l'errore fornito dal metodo supera l'ET accettabile la qualità analitica del metodo deve essere considerata insufficiente. Come riferimento per il massimo ET accettabile possono essere utilizzati i criteri di valutazione presenti nei programmi di VEQ oppure si può fare riferimento ai concetti di variabilità biologica (4-6).

**Commenti, suggerimenti, critiche o correzioni devono essere inviati a: ceriotti.ferruccio@hsr.it o ottomano@ospedaliriuniti.bergamo.it.*

Selezione dei materiali di controllo

I materiali di controllo devono presentare caratteristiche chimico-fisiche il più possibile simili ai campioni dei pazienti (commutabilità). L'uso di materiali a matrice umana è auspicabile in quanto rende più probabile l'ottenimento di questa caratteristica.

Nel caso di validazione della serie analitica è preferibile che i materiali siano sempre indipendenti (o terza parte), cioè diversi rispetto a quelli prodotti o forniti insieme ai reattivi.

Nel caso della validazione della calibrazione i materiali devono essere diversi dai calibratori, ma possono essere rappresentati da materiali della ditta produttrice dei reattivi che abbiano un valore assegnato in modo tale da garantirne la tracciabilità a materiali o metodi di riferimento (8).

Possono essere utilizzati anche pool di sieri/plasmi preparati in laboratorio, se rispondono ai criteri di scelta prima esposti. Questi materiali devono essere preparati secondo procedure definite, rispettose della sicurezza degli operatori e della selezione dei campioni.

Il laboratorio deve organizzarsi in modo da usare lo stesso lotto di materiale di controllo per un arco di tempo il più lungo possibile. Si ritiene che due anni siano un periodo di tempo sufficiente per comprovare la stabilità del sistema durante le differenti fasi di alternanza dei lotti di reattivi. Fanno eccezione materiali deteriorabili, come i materiali di controllo di ematologia, per i quali tuttavia il periodo di osservazione deve essere almeno di 6 mesi.

Il cambio di lotto dei controlli deve sempre essere pianificato prevedendo la sovrapposibilità con l'ultimo lotto utilizzato.

Livelli di concentrazione dei materiali di controllo

Per consentire l'applicazione di regole statistiche multiple, sono necessari almeno 2 livelli di controllo le cui concentrazioni dovrebbero essere preferibilmente vicine alle concentrazioni decisionali cliniche (9).

Per metodi immunometrici con riconosciute prestazioni differenziate per livelli di concentrazione, può essere opportuno l'utilizzo di 3 livelli per coprire tutto l'intervallo analitico. Si devono evitare concentrazioni eccessivamente basse, dove l'elevata variabilità del segnale può mascherare l'instaurarsi di instabilità del sistema.

In ogni caso, i valori devono rientrare nell'intervallo di linearità o nell'intervallo analitico utile del metodo utilizzato.

Determinazione delle prestazioni tipiche del metodo

Conoscere le prestazioni tipiche del metodo è di fondamentale importanza per l'attuazione di un corretto programma di CQI. È quindi necessario avere una stima del livello di imprecisione tipica e del bias del metodo.

Imprecisione. È generalmente accettato che per una stima adeguata del livello di imprecisione occorrono 20 misure diverse, ottenute in giorni differenti, possibilmente includendo tutte le possibili fonti di variabilità (calibra-

zioni, operatori, lotti di reattivi, ecc.) (10). Un numero più elevato di misure produrrà una stima più accurata.

In caso di avvio di metodi ad esecuzione non quotidiana, è possibile utilizzare dati della letteratura o stime più approssimative basate su un minor numero di replicati, salvo rivedere in seguito i dati alla luce delle valutazioni retrospettive.

Bias. La stima del bias di un metodo è sempre estremamente complessa; in una fase di avvio è possibile assumere un bias uguale a zero per poi rivalutarlo in base ai dati raccolti nel tempo. Le possibili modalità per valutare la presenza di un bias sono le seguenti (11):

- confronto con un metodo di riferimento su campioni freschi;
- misura di un materiale con valore assegnato mediante metodo di riferimento, purché commutabile. Purtroppo la commutabilità dei materiali di riferimento spesso non è nota oppure non è presente;
- risultati delle VEQ o dei CQI allargati, in cui è possibile confrontare i risultati del laboratorio con quelli del gruppo che utilizza lo stesso sistema analitico. In questo caso non si tratta di un bias "assoluto", ma relativo al gruppo di metodo (l'intero gruppo potrebbe avere un bias rispetto al valore "vero"). È comunque un approccio valido anche se, nel caso dei risultati dei programmi di VEQ, è necessario che la verifica sia fatta su un numero significativo di campioni di controllo, cosa che presuppone una stabilità delle prestazioni del laboratorio. Se questa stabilità manca, anche la valutazione del bias diventa inaffidabile;
- confronto con un altro laboratorio clinico su campioni biologici freschi.

Definizione delle modalità operative e delle regole di controllo da mettere in atto

Questa parte rappresenta l'aspetto più complesso e dipende dall'interazione fra la qualità analitica desiderabile per una specifica analisi (ET massimo accettabile) e le prestazioni analitiche tipiche del metodo. Infatti, l'applicazione indiscriminata di regole di controllo (vedi Appendice 2) non garantisce di per sé che lo scopo primario del CQI (allarme non appena il sistema non lavora più entro i livelli di qualità attesi) sia raggiunto.

Semplificando al massimo il concetto, il numero di misure di controllo, il numero dei materiali da utilizzare, piuttosto che la complessità delle regole di controllo da applicare dipende dal rapporto fra massimo livello di errore accettabile e prestazioni del metodo in termini di CV e bias. Quando il metodo in uso è molto accurato o quando l'errore accettabile è sufficientemente ampio, anche regole semplici (come la 1:3s ad esempio) saranno in grado di fornire i necessari allarmi; al contrario, se già l'imprecisione del metodo supera il massimo ET accettabile, non ci sarà alcuna procedura di CQI in grado di garantire che non si ottengano risultati al di fuori del limite di accettabilità. In questi casi l'unico intervento possibile è quello sul metodo analitico, sostituendolo con uno a migliori prestazioni oppure ricorrendo ad esempio

a misure in duplicato.

Altro punto chiave nella progettazione è quello di evitare "falsi allarmi" che comportino ingiustificati blocchi e costose ripetizioni di analisi.

In tutti i casi per una scelta più rigorosa, in accordo con i traguardi analitici definiti e le prestazioni realmente ottenute, appare necessario scegliere l'idoneo numero di livelli e la più funzionale frequenza di determinazione utilizzando le funzioni di potenza delle regole di controllo (12-15), le carte decisionali sul metodo proposte da Westgard (16,17) e l'utilizzo della scala 6 sigma (18-21) (vedi Appendice 3).

PROCEDURA DI CQI

Quando

È necessario distinguere fra validazione della calibrazione e validazione della serie analitica.

La validazione della calibrazione prevede l'utilizzo di materiali di controllo per valutare (e quindi accettare o rifiutare) l'avvenuta procedura di calibrazione; va effettuata immediatamente dopo le operazioni di calibrazione.

La validazione della serie analitica comporta invece l'introduzione e l'analisi di materiale di controllo insieme ai campioni dei pazienti.

Frequenza

La frequenza è rapportata alla definizione di "seduta (serie) analitica" e quindi come minimo è giornaliera o segue la cadenza della serie analitica (bisettimanale, settimanale, ecc.), ma va comunque modulata in relazione ai carichi di lavoro, alle prestazioni strumentali e ad altre considerazioni. Nel caso di processi che si svolgano in modo continuativo nell'arco delle 24 ore è opportuno che vi siano almeno due serie di controlli nel corso delle 24 ore.

Nell'ambito della serie analitica il campione di controllo dovrebbe essere inserito ogni volta in posizione casuale rispetto ai campioni sconosciuti.

Interpretazione dei risultati

Nel caso della validazione strumentale i valori "target" possono essere forniti dalla casa produttrice dei reattivi e sono espressi come media ed intervallo di accettabilità (dovrebbe essere esplicitato il valore statistico, per esempio una o più DS, dell'intervallo fornito). Questi intervalli non rappresentano le prestazioni del sistema, ma solo un mezzo di valutazione offerto dal fornitore del sistema stesso.

Nella fase di adozione di un nuovo strumento il confronto con questi intervalli è indispensabile per verificare l'esattezza della calibrazione; in tutti i casi non devono mai essere usati per correggere la calibrazione.

Col tempo il laboratorio può (anzi è "fortemente raccomandato") adottare un unico grafico di Levey e Jennings sostenuto da dati sperimentali, attraverso il cui utilizzo si possono effettuare le verifiche sia di calibrazione che di andamento delle serie analitiche.

Nel caso della validazione della serie analitica, i dati storici dei materiali di controllo concorrono a formare il grafico di Levey e Jennings che rappresenta il CQI utile a verificare che le prestazioni del sistema non abbiano subito variazioni. Questo grafico deve essere rigorosamente costruito sulla base di dati sperimentali prodotti in laboratorio e deve essere rappresentativo, come media e dispersione dei dati, della reale situazione del laboratorio stesso. L'osservazione delle carte di controllo e l'applicazione di adeguate regole statistiche (vedi Appendice 2) permettono la valutazione delle prestazioni del metodo/sistema analitico.

ANALISI STATISTICA IN TEMPO REALE

Nella procedura di validazione strumentale è sufficiente verificare che il risultato rientri all'interno dell'intervallo suggerito, mentre nella validazione della serie analitica è necessario introdurre un sistema che preveda regole di controllo specifiche in base alle caratteristiche delle singole analisi utilizzando regole singole o multiple ed un numero di misure di controllo sufficienti per garantire la necessaria sensibilità alla procedura di controllo scelta (vedi Appendice 3).

Il sistema a regole multiple di Westgard è quello più noto ed accreditato (12). Va detto che ogni laboratorio può e deve scegliere le regole che consentono nella sua realtà operativa di controllare al meglio le prestazioni del sistema. Nel caso delle regole multiple la valutazione è maggiormente integrata, secondo un prestabilito algoritmo sequenziale. Le regole semplici e multiple ed i relativi algoritmi sono riportati nell'Appendice 2.

In tutti i casi, i dati del CQI vanno interpretati e valutati in tempo reale. Ciò indica che la valutazione deve avvenire in un tempo sufficientemente breve da consentire la messa in opera di eventuali interventi correttivi prima della validazione (o della refertazione) dei risultati per i campioni dei pazienti analizzati nella stessa serie analitica.

REGOLE ED ALGORITMI

Innanzitutto va programmato un periodo preliminare durante il quale raccogliere i dati necessari per costruire il grafico di Levey e Jennings che rappresenterà, da quel momento in poi, il riferimento per la accettazione dei dati successivi. Se il periodo preliminare è relativo all'introduzione di un nuovo lotto di controllo occorre pianificare l'organizzazione di un periodo di sovrapposibilità del vecchio lotto con il nuovo. Ciò garantisce, valutando positivamente i risultati del precedente lotto di controllo qualità, un'assicurazione aggiuntiva sulla stabilità del processo, come pure permette di confrontare la DS di periodo ottenuta sui due diversi lotti di controllo.

La fase preliminare, sulla base della statistica elementare, richiederebbe almeno 20 dati sui quali definire media e DS. Tutto questo trova un riscontro pratico solo a condizione che i 20 dati siano generati ciascuno in condizioni differenti, in serie analitiche distinte, meglio se in giorni e con operatori e reattivi differenti. Poiché que-

sto spesso non è realizzabile, almeno in tempi brevi, si suggerisce di aumentare la casistica a 40 osservazioni in modo da renderla più rappresentativa delle prestazioni del sistema. Nel lavoro di Ross (22) si indica che nel corso di un mese di controllo qualità si ottiene la stima del 62% della reale imprecisione, mentre nel corso di 6 mesi si ottiene una stima pari al 97% della reale DS del processo analitico.

L'algoritmo di Westgard può rappresentare una base di partenza per impostare un sistema di controllo a regole multiple (vedi Appendice 2) (12).

ANALISI STATISTICA DIFFERITA

Mensilmente, e comunque in occasione di cambi significativi nelle prestazioni del metodo, si possono eseguire valutazioni differite, prendendo in considerazione il confronto con la media bersaglio e la DS storica del metodo, verificando che non esistano differenze significative con le medie e le DS di periodo (la significatività statistica delle eventuali differenze tra valori successivi della media o della DS può essere verificata, rispettivamente, con il test t di Student per dati non appaiati (differenza tra le medie) o con il test F di Fisher sulle varianze (15).

Gli scostamenti statisticamente significativi, in periodi successivi, del valore medio sono indicativi di variazioni sistematiche e quindi di variazione dell'inesattezza relativa, mentre quelli della DS sono indicativi di un aumento della imprecisione analitica.

Questi scostamenti devono essere considerati al fine di interventi sul sistema analitico in uso nel suo complesso (procedura di calibrazione, manutenzioni, utilizzo improprio delle procedure, ecc).

E' necessaria l'osservazione attenta delle carte di controllo per individuare spostamenti significativi nella distribuzione tipica dei dati (shift della media improvvisi o graduati) ed inoltre un aumento della dispersione dei dati (incremento dell'errore casuale) che provocheranno un aumento degli allarmi per un superamento frequente dei limiti di controllo. Le frequenze sperimentali dei limiti adottati nelle carte di controllo devono essere in linea con il modello teorico utilizzato (poiché la variabilità casuale delle misure è, per definizione, gaussiana, la distribuzione dei dati di controllo è simmetrica e a forma di campana; per descrivere questa distribuzione sono sufficienti due parametri, la media e la DS; inoltre in questa distribuzione gli indici di tendenza centrale media, moda e mediana coincidono. Le proprietà della distribuzione sono tali che è possibile calcolare la percentuale teorica dei valori compresi fra il valore medio $\pm n$ DS, cioè:

- entro $x \pm 1$ DS sono compresi circa il 68,3% dei dati,
- entro $x \pm 2$ DS sono compresi circa il 95,5% dei dati,
- entro $x \pm 3$ DS sono compresi circa il 99,7% dei dati.

Per i laboratori che partecipano ad un controllo di qualità allargato è possibile in tempi successivi e con cadenze periodiche che i dati del CQI possano essere utilizzati per un confronto con altri laboratori che usano lo stesso materiale di controllo allo scopo di identificare eventuali derive imputabili ad errori sistematici nati all'in-

terno del laboratorio stesso (eventuali errori sistematici dovuti alla scelta del metodo sono evidenziabili attraverso programmi di VEQ).

Noti i traguardi analitici (5,6) per ogni metodo è possibile:

- 1) confrontare le proprie prestazioni con quelle desiderabili (vedi Appendice 1),
- 2) sulla base dei risultati ottenuti, riesaminare il processo di pianificazione globale del controllo qualità per mettere in atto i cambiamenti necessari al miglioramento dei processi.

AZIONI CORRETTIVE

Ogni volta che un dato ottenuto su un materiale di controllo non rientra nei criteri di accettabilità predefiniti, è necessario attivare azioni correttive allo scopo di ristabilire una situazione "in controllo". Esistono differenti livelli di intervento che, sulla base di criteri predefiniti da ogni laboratorio, possono andare dal rifiuto della calibrazione e/o della serie analitica fino alla sua accettazione.

Vi sono numerose situazioni nelle quali è necessario intervenire con azioni mirate per risolvere i problemi riscontrati e quindi non è possibile fornire indicazioni univoche. In tutti i casi è indispensabile registrare una nota di non conformità e fare seguire all'errore un'indagine volta ad identificare le cause e rimuoverle.

DETERMINAZIONI QUALITATIVE

Esistono analisi che vengono eseguite con metodi che forniscono risultati qualitativi. Per questo tipo di analisi non è possibile eseguire un controllo di qualità statistico come quello descritto in precedenza. È possibile in questi casi attivare sistemi di CQI basati su principi ed interventi di controllo di processo. In sostanza, non si controlla, mediante un campionamento statistico, la rispondenza del prodotto a requisiti predefiniti, ma si sorvegliano le condizioni del processo in cui il risultato analitico viene prodotto, controllandone la rispondenza a requisiti prefissati e scelti in maniera tale da permettere di ottenere un prodotto (risultato analitico) di qualità adeguata. Anche in questo caso comunque si sorveglia il mantenimento delle condizioni prefissate.

A titolo di esempio, le condizioni analitiche più facilmente o più frequentemente controllate in una verifica di processo possono essere rappresentate dalla temperatura (incubatori), dai volumi (dispensatori), dalla qualità e/o stabilità (reagenti), dalla specificità (anticorpi), ecc. Quando tecnicamente possibile, è tuttavia necessario utilizzare anche in questi casi materiali di controllo, per esempio il "controllo positivo" e il "controllo negativo", al fine della validazione della serie analitica.

Per le analisi in cui, come accade ad esempio per la sierologia infettivologica, valori quantitativi sono trasformati in osservazioni qualitative in riferimento a un cutoff (valore soglia) è possibile invece applicare quanto definito in questo documento utilizzando i dati quantitativi disponibili.

ARCHIVIAZIONE DEI DATI DEL CQI

I dati prodotti vanno archiviati (Tabella 1); tutte le informazioni dovrebbero poter confluire in un unico contenitore informatico a disposizione sia degli operatori che di eventuali ispettori nel corso di verifiche ispettive (è consigliata almeno una copia di backup dei dati, che va periodicamente aggiornata e conservata in luogo diverso dal contenitore informatico principale).

In caso di registrazione informatica è importante che il software utilizzato per il controllo qualità preveda la possibilità di registrare note di non conformità e commenti.

Nelle situazioni in cui è fondamentale la rapidità della refertazione (laboratori urgenze, laboratori ospedalieri) è necessario che tutto il processo possa essere gestito in modo completamente automatizzato (dati prelevati per via informatica dagli analizzatori e introdotti automaticamente in un sistema di elaborazione che ne consenta la valutazione immediata e l'archiviazione).

Tabella 1

Archiviazione dei dati del CQI

Cosa archiviare

- le carte di controllo mensili
- le situazioni di fuori controllo riscontrate, con una descrizione sintetica delle azioni correttive effettuate
- le eventuali variazioni dei procedimenti analitici, dei materiali di controllo e della strumentazione
- i parametri statistici delle valutazioni retrospettive, rappresentati dalle medie e dai CV

Durata dell'archiviazione

- carte di controllo: un anno
- per tutti gli altri dati: cinque anni

APPENDICE 1

TRAGUARDI ANALITICI O SPECIFICHE DI QUALITÀ

La consensus conference tenutasi a Stoccolma nel 1999 ha indicato la seguente gerarchia di approcci per la definizione della specifiche di qualità (3):

1. valutazione degli effetti sugli esiti clinici in specifiche situazioni cliniche;
2. valutazione degli effetti sul processo decisionale in generale tramite;
 - variabilità biologica,
 - opinioni dei clinici;
3. raccomandazioni di organizzazioni professionali;
4. traguardi fissati da:
 - enti normativi,
 - organizzatori di programmi di VEQ;
5. stato dell'arte:
 - dati dei programmi di VEQ,
 - pubblicazioni scientifiche.

Poiché l'approccio ottimale è di difficile realizzazione pratica ed è oggi praticabile solo per pochi analiti in specifiche patologie (ad es. glucosio per la diagnosi di diabete), il modello ritenuto scientificamente più valido e applicabile è quello basato sulla variabilità biologica.

Questo modello si basa sull'assunto che la variabilità di ogni misura dipende da due fattori principali: la variabilità biologica intraindividuale e quella analitica. Per la legge sulla propagazione dell'errore, le due variabilità si sommano secondo la formula seguente:

$$V_t = (V_a^2 + V_b^2)^{1/2}$$

dove V_t = variabilità totale, V_a = variabilità analitica e V_b = variabilità biologica intraindividuale.

La variabilità analitica dovrebbe essere tale da non modificare significativamente la variabilità totale. Applicando questa formula è semplice verificare che, se la variabilità analitica è contenuta al di sotto di $1/2$ rispetto alla variabilità biologica, la variabilità totale aumenta solo del 11,8%, valore che, in genere, può essere considerato accettabile.

Dall'applicazione di questo modello deriva il fatto che analiti che presentano bassa variabilità biologica nel sangue (sodio, calcio, cloruri, ecc.) devono essere misurati con metodi con caratteristiche di accuratezza molto superiori rispetto ai metodi utilizzati per determinare analiti che sono soggetti a maggiori variazioni fisiologiche (sideremia, enzimi plasmatici, ecc.).

Utilizzando il modello della variabilità biologica è possibile determinare i traguardi analitici per l'imprecisione, il bias e l'ET massimo accettabile. In base al rapporto tra i traguardi proposti dal modello della variabilità biologica e lo stato dell'arte, a volte ampiamente in grado di raggiungerli, a volte ancora molto lontano dal desiderato, Fraser (4,6) ha proposto una gradualità di applicazione del criterio. Le formule che derivano dal modello teorico sono le seguenti (dove: ETa = errore totale massimo accettabile, CVa = CV analitico; Ba = bias analitico; CVi = variabilità biologica intra-individuale e CVg = variabilità biologica interindividuale):

Prestazione ottimale:

$$\begin{aligned} ETa &< 1,65 (0,25 CVi) + 0,125 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} \\ Ba &< 0,125 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} \\ CVa &< 0,25 CVi \end{aligned}$$

Prestazione desiderabile:

$$\begin{aligned} ETa &< 1,65 (0,50 CVi) + 0,25 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} \\ Ba &< 0,25 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} \\ CVa &< 0,50 CVi \end{aligned}$$

Prestazione minima:

$$\begin{aligned} ETa &< 1,65 (0,75 CVi) + 0,375 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} \\ Ba &< 0,375 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} \\ CVa &< 0,75 CVi \end{aligned}$$

Nella Tabella 2 vengono riportati i dati della variabilità biologica relativa ad un'ampia serie di componenti ed i relativi traguardi analitici derivati in base alle formule elencate in precedenza (5,7).

Tabella 2*Variabilità biologica e relativi traguardi analitici dei principali analiti biologici*

| | Analita | Variazione biologica | | Prestazione desiderabile | | |
|----|---|----------------------|------|--------------------------|-------|--------|
| | | CVi | CVg | I (%) | B (%) | ET (%) |
| S- | 11-Desossicortisolo | 21,3 | 31,5 | 10,7 | 9,5 | 27,1 |
| S- | 17-Idrossiprogesterone | 19,6 | 52,4 | 9,8 | 14,0 | 30,2 |
| U- | 5'-Idrossiindolacetato, concentrazione, 24 h | 20,3 | 33,2 | 10,2 | 9,7 | 26,5 |
| S- | 5'Nucleotidasi | 11,3 | 12,6 | 5,7 | 4,2 | 13,6 |
| S- | Acido ascorbico | 26,0 | 31,0 | 13,0 | 10,1 | 31,6 |
| U- | Acido vanilmandelico, concentrazione, 24h | 22,2 | 47,0 | 11,1 | 13,0 | 31,3 |
| U- | Acido d-aminolevulinico | 20,0 | ND | 10,0 | ND | ND |
| S- | Acyl/free carnitina | 10,4 | 27,2 | 5,2 | 7,3 | 15,9 |
| S- | Adenosina deaminasi (ADA) | 11,7 | 25,5 | 5,9 | 7,0 | 16,7 |
| S- | Alanina amminopeptidasi | 4,1 | ND | 2,1 | ND | ND |
| S- | Alanina amminotransferasi (ALT) | 24,3 | 41,6 | 12,2 | 12,0 | 32,1 |
| S- | Albumina | 3,1 | 4,2 | 1,6 | 1,3 | 3,9 |
| S- | Albumina glicata | 5,2 | 10,3 | 2,6 | 2,9 | 7,2 |
| U- | Albumina, concentrazione, prima urina del mattino | 36,0 | 55,0 | 18,0 | 16,4 | 46,1 |
| S- | Aldosterone | 29,4 | 40,1 | 14,7 | 12,4 | 36,7 |
| U- | Aldosterone, concentrazione | 32,6 | 39,0 | 16,3 | 12,7 | 39,6 |
| S- | Alfa1-Antichimotripsina | 13,5 | 18,3 | 6,8 | 5,7 | 16,8 |
| S- | Alfa1-Antitripsina | 5,9 | 16,3 | 3,0 | 4,3 | 9,2 |
| S- | Alfa1-Glicoproteina acida | 11,3 | 24,9 | 5,7 | 6,8 | 16,2 |
| S- | Alfa1-Globuline | 11,4 | 22,6 | 5,7 | 6,3 | 15,7 |
| U- | Alfa1-Microglobulina, concentrazione, prima urina del mattino | 33,0 | 58,0 | 16,5 | 16,7 | 43,9 |
| U- | Alfa1-Microglobulina, escrezione notturna | 29,0 | 32,0 | 14,5 | 10,8 | 34,7 |
| P- | Alfa2-Antiplasmina | 6,2 | ND | 3,1 | ND | ND |
| S- | Alfa-2-Globuline | 10,3 | 12,7 | 5,2 | 4,1 | 12,6 |
| S- | Alfa1-Macroglobulina | 3,4 | 18,7 | 1,7 | 4,8 | 7,6 |
| S- | Alfa-Amilasi | 8,7 | 28,3 | 4,4 | 7,4 | 14,6 |
| S- | Alfa-Amilasi (pancreatica) | 11,7 | 29,9 | 5,9 | 8,0 | 17,7 |
| U- | Alfa-Amilasi, concentrazione, raccolta non temporizzata | 94,0 | 46,0 | 47,0 | 26,2 | 103,7 |
| S- | Alfa-Carotene | 35,8 | 65,0 | 17,9 | 18,6 | 48,1 |
| S- | Alfa-Fetoproteina | 12,0 | 46,0 | 6,0 | 11,9 | 12,8 |
| S- | Alfa-Tocoferolo | 13,8 | 13,3 | 6,9 | 4,8 | 16,2 |
| S- | Amiloide A | 25,0 | 61,0 | 12,5 | 16,5 | 37,1 |
| U- | Ammonio, escrezione | 24,7 | 27,3 | 12,4 | 9,2 | 29,6 |
| B- | Ampiezza della distribuzione eritrocitaria (RDW) | 3,5 | 5,7 | 1,8 | 1,7 | 4,6 |
| S- | Androstendione | 11,1 | 51,1 | 5,6 | 13,1 | 22,2 |
| P- | Angiotensin converting enzyme (ACE) | 0,1 | ND | 0,1 | ND | ND |
| S- | Antigene associato al carcinoma mucinoso (MCA) | 10,1 | 39,3 | 5,1 | 10,1 | 18,5 |
| S- | Antigene carcinoembrionico (CEA) | 12,7 | 55,6 | 6,4 | 14,3 | 24,7 |
| S- | Antigene prostata-specifico (PSA) | 18,1 | 72,4 | 9,1 | 18,7 | 33,6 |
| S- | Antigene SCC | 39,4 | 35,7 | 19,7 | 13,3 | 45,8 |
| P- | Antitrombina III | 5,2 | 15,3 | 2,6 | 4,0 | 8,3 |
| S- | Apolipoproteina A-I | 6,5 | 13,4 | 3,3 | 3,7 | 9,1 |
| S- | Apolipoproteina B | 6,9 | 22,8 | 3,5 | 6,0 | 11,6 |

| | CVi | CVg | I (%) | B (%) | ET (%) | |
|-----------|--|------|-------|-------|--------|-------|
| P, S- | Aptoglobina | 20,4 | 36,4 | 10,2 | 10,4 | 27,3 |
| S- | Aspartato amminottransferasi (AST) | 11,9 | 17,9 | 6,0 | 5,4 | 15,2 |
| U- | Azoto, escrezione | 13,9 | 24,2 | 7,0 | 7,0 | 18,4 |
| S- | Basofili, conta | 28,0 | 54,8 | 14,0 | 15,4 | 38,5 |
| S- | Beta2-Microglobulina | 5,9 | 15,5 | 3,0 | 4,1 | 9,0 |
| S- | Beta-Carotene | 36,0 | 39,7 | 18,0 | 13,4 | 43,1 |
| S- | Beta-Criptoxantina | 36,7 | ND | 18,4 | ND | ND |
| S- | Beta-Globuline | 10,1 | 9,1 | 5,1 | 3,4 | 11,7 |
| S- | Bicarbonato | 4,8 | 4,7 | 2,4 | 1,7 | 5,6 |
| S- | Bilirubina coniugata | 36,8 | 43,2 | 18,4 | 14,2 | 44,5 |
| S- | Bilirubina totale | 25,6 | 30,5 | 12,8 | 10,0 | 31,1 |
| S- | C Peptide | 9,3 | 13,3 | 4,7 | 4,1 | 11,7 |
| S- | C3 complemento | 5,2 | 15,6 | 2,6 | 4,1 | 8,4 |
| S- | C4 complemento | 8,9 | 33,4 | 4,5 | 8,6 | 16,0 |
| S- | CA 125 antigene | 29,2 | 48,2 | 14,6 | 14,1 | 38,2 |
| S- | CA 15.3 antigene | 6,2 | 62,9 | 3,1 | 15,8 | 20,9 |
| S- | CA 19.9 antigene | 16,2 | 102,0 | 8,0 | 25,8 | 39,0 |
| S- | CA 549 antigene | 9,1 | 33,4 | 4,6 | 8,7 | 16,2 |
| S- | Calcio totale | 1,9 | 2,8 | 1,0 | 0,8 | 2,4 |
| U- | Calcio, concentrazione, 24 h | 27,6 | 36,6 | 13,8 | 11,5 | 34,2 |
| U- | Calcio, escrezione, 24 h | 26,2 | 27,0 | 13,1 | 9,4 | 31,0 |
| S- | Calcio ionizzato | 1,7 | 2,2 | 0,9 | 0,7 | 2,1 |
| S- | Carnitina libera | 7,6 | 15,2 | 3,8 | 4,2 | 10,5 |
| S- | Carnitina totale | 7,7 | 13,8 | 3,9 | 4,0 | 10,3 |
| U- | Catecolamines totali, concentrazione, 24 h | 24,0 | 32,0 | 12,0 | 10,0 | 29,8 |
| P- | CD163 solubile | 9,0 | 35,9 | 4,5 | 9,3 | 16,7 |
| S- | CD163 solubile | 4,5 | 4,5 | 2,3 | 1,6 | 5,3 |
| B- | CD4 linfociti, conta | 25,0 | ND | 12,5 | ND | ND |
| S- | Ceruloplasmina | 5,8 | 11,1 | 2,9 | 3,1 | 7,9 |
| P- | Cisteina | 5,9 | 12,3 | 3,0 | 3,4 | 8,3 |
| S- | Cloro | 1,2 | 1,5 | 0,6 | 0,5 | 1,5 |
| S- | Colesterolo | 6,0 | 14,9 | 3,0 | 4,0 | 9,0 |
| S- | Colinesterasi, attività catalitica | 5,4 | 10,3 | 2,7 | 2,9 | 7,4 |
| S- | Colinesterasi, immunoreattiva | 6,4 | ND | 3,2 | ND | ND |
| S- | Cortisolo | 20,9 | 45,6 | 10,5 | 12,5 | 29,8 |
| S- | C-Propeptide tipo I procollagene | 8,2 | 17,6 | 4,1 | 4,9 | 11,6 |
| S- | Creatina chinasi (CK) | 22,8 | 40,0 | 11,4 | 11,5 | 30,3 |
| S- | Creatina chinasi MB, % | 6,9 | 48,2 | 3,45 | 12,17 | 17,87 |
| S- | Creatina chinasi MB, attività | 19,7 | 24,3 | 9,9 | 7,8 | 24,1 |
| S- | Creatina chinasi MB, massa | 18,4 | 61,2 | 9,2 | 16,0 | 31,2 |
| S- | Creatinina | 4,3 | 12,9 | 2,2 | 3,4 | 6,9 |
| Paziente- | Creatinina clearance | 13,6 | 13,5 | 6,8 | 4,8 | 16,0 |
| U- | Creatinina, concentratione | 24,0 | 24,5 | 12,0 | 8,6 | 28,4 |
| U- | Creatinina, escrezione, 24 h | 11,0 | 23,0 | 5,5 | 6,4 | 15,4 |
| U- | C-Telopeptide tipo I collagene | 8,0 | 35,0 | 4,0 | 9,0 | 15,6 |
| U- | C-Telopeptide tipo I collagene (CTx) | 9,6 | 30,6 | 4,8 | 8,0 | 15,9 |
| U- | C-Telopeptide tipo I collagene/creatinina, prime urine | 35,1 | ND | 17,6 | ND | ND |
| U- | C-Telopeptide tipo I collagene/creatinina, seconde urine del mattino | 24,0 | 36,3 | 12,0 | 10,9 | 30,7 |
| S- | Cyfra 21.1 | 21,8 | ND | 10,9 | ND | ND |
| S- | Deidroepiandrosterone solfato (DHEAS) | 4,2 | 29,3 | 2,1 | 7,4 | 10,9 |

| | | CVi | CVg | I (%) | B (%) | ET (%) |
|------------|---|------|------|-------|-------|--------|
| U- | Desossipiridinolina/creatinina, prime urine del mattino | 13,1 | 19,0 | 6,6 | 5,8 | 16,6 |
| U- | Desossipiridinolina/min | 26,5 | 35,7 | 13,3 | 11,1 | 33,0 |
| U- | Desossipiridinolina/creatinina, 24 h | 13,5 | 17,6 | 6,8 | 5,5 | 16,7 |
| P- | Dipeptidil-peptidasi IV | 8,2 | 14,5 | 4,1 | 4,2 | 10,9 |
| P- | Elastasi-I | 13,6 | 16,4 | 6,8 | 5,3 | 16,5 |
| B- | Ematocrito | 2,8 | 6,4 | 1,4 | 1,7 | 4,1 |
| B- | Emoglobina | 2,8 | 6,6 | 1,4 | 1,8 | 4,1 |
| B- | Emoglobina A _{1C} | 1,9 | 4,0 | 1,0 | 1,1 | 2,7 |
| (B)Erythr- | Emoglobina corpuscolare media (MCH) | 1,6 | 5,2 | 0,8 | 1,4 | 2,7 |
| (B)Erythr- | Emoglobina corpuscolare media concentrazione (MCHC) | 1,7 | 2,8 | 0,9 | 0,8 | 2,2 |
| B- | Eosinofili, conta | 21,0 | 76,4 | 10,5 | 19,8 | 37,1 |
| (B)Plat- | Epinefrina | 25,3 | ND | 12,7 | ND | ND |
| P- | Epinefrina | 48,3 | ND | 24,2 | ND | ND |
| B- | Eritrociti, conta | 3,2 | 6,1 | 1,6 | 1,7 | 4,4 |
| U- | Estradiolo | 30,4 | ND | 15,2 | ND | ND |
| S- | Estradiolo | 18,1 | 19,7 | 9,1 | 6,7 | 21,6 |
| S- | Estradiolo libero | 22,8 | ND | 11,4 | ND | ND |
| U- | Estradiolo libero | 38,6 | ND | 19,3 | ND | ND |
| S- | Fattore di crescita endoteliale (EGF) | 10,7 | 47,6 | 5,4 | 12,2 | 21,0 |
| S- | Fattore reumatoide | 8,5 | 24,5 | 4,3 | 6,5 | 13,5 |
| P- | Fattore V coagulazione | 3,6 | ND | 1,8 | ND | ND |
| P- | Fattore VII coagulazione | 6,8 | 19,4 | 3,4 | 5,1 | 10,7 |
| P- | Fattore VIII coagulazione | 4,8 | 19,1 | 2,4 | 4,9 | 8,9 |
| P- | Fattore X coagulazione | 5,9 | ND | 3,0 | ND | ND |
| S- | Ferritina | 14,9 | 13,5 | 7,5 | 5,0 | 17,3 |
| S- | Ferro | 26,5 | 23,2 | 13,3 | 8,8 | 30,7 |
| P- | Fibrinogeno | 10,7 | 15,8 | 5,4 | 4,8 | 13,6 |
| (B)Erythr- | Folato | 12,0 | 66,0 | 6,0 | 16,8 | 26,7 |
| S- | Folato | 24,0 | 73,0 | 12,0 | 19,2 | 39,0 |
| S- | Fosfatasi acida (ACP) | 8,9 | 8,0 | 4,5 | 3,0 | 10,3 |
| S- | Fosfatasi acida prostatica (PAP), attività | 33,8 | ND | 16,9 | ND | ND |
| S- | Fosfatasi acida tartrato-resistente (TR-ACP) | 5,4 | 13,3 | 2,7 | 3,6 | 8,0 |
| S- | Fosfatasi alcalina | 6,4 | 24,8 | 3,2 | 6,4 | 11,7 |
| S- | Fosfatasi alcalina, isoenzima epatico | 10,0 | 27,0 | 5,0 | 7,2 | 15,4 |
| S- | Fosfatasi alcalina, isoenzima osseo | 6,6 | 35,6 | 3,3 | 9,1 | 14,5 |
| S- | Fosfatasi alcalina, isoenzima placentare | 19,1 | ND | 9,6 | ND | ND |
| S- | Fosfato | 8,5 | 9,4 | 4,3 | 3,2 | 10,2 |
| U- | Fosfato, concentrazione | 26,4 | 26,5 | 13,2 | 9,4 | 31,1 |
| U- | Fosfato, escrezione | 18,0 | 22,6 | 9,0 | 7,2 | 22,1 |
| Paziente- | Fosfato, riassorbimento tubulare | 2,7 | 3,3 | 1,4 | 1,1 | 3,3 |
| S- | Fosfolipidi | 6,5 | 11,1 | 3,3 | 3,2 | 8,6 |
| S- | Fruttosamina | 3,4 | 5,9 | 1,7 | 1,7 | 4,5 |
| S- | Galattosil-idrossilisina | 11,8 | 25,8 | 5,9 | 7,1 | 16,8 |
| S- | Gamma-Globuline | 14,6 | 12,3 | 7,3 | 4,8 | 16,8 |
| S- | Gamma-glutamilttransferasi (GGT) | 13,8 | 41,0 | 6,9 | 10,8 | 22,2 |
| (B)Hb- | Glicemoglobina | 5,6 | ND | 2,8 | ND | ND |
| S- | Globuline, totali | 5,5 | 12,9 | 2,8 | 3,5 | 8,0 |

| | | CVi | CVg | I (%) | B (%) | ET (%) |
|------------|---|------|------|-------|-------|--------|
| S- | Glucosio | 5,7 | 6,9 | 2,9 | 2,2 | 6,9 |
| (B)Erythr- | Glucosio 6-fosfato-1-deidrogenasi | 32,8 | 31,8 | 16,4 | 11,4 | 38,5 |
| S- | Glutazione perossidasi | 7,2 | 21,7 | 3,6 | 5,7 | 11,7 |
| S- | HDL-1 colesterolo | 5,5 | 27,2 | 2,8 | 6,9 | 11,5 |
| S- | HDL-2 colesterolo | 15,7 | 40,7 | 7,9 | 10,9 | 23,9 |
| S- | HDL-3 colesterolo | 7,0 | 14,3 | 3,5 | 4,0 | 9,8 |
| S- | HDL colesterolo | 7,1 | 19,7 | 3,6 | 5,2 | 11,1 |
| S- | Idrossibutirrato deidrogenasi | 8,8 | ND | 4,4 | ND | ND |
| U- | Idrossiprolina/min, urine della notte | 36,1 | 38,8 | 18,1 | 13,2 | 43,0 |
| U- | Idrossiprolina/creatinina | 25,9 | 38,0 | 13,0 | 11,5 | 32,9 |
| S- | Immunoglobuline A | 5,4 | 35,9 | 2,7 | 9,1 | 13,5 |
| S- | Immunoglobuline catene λ | 4,8 | 18,0 | 2,4 | 4,7 | 8,6 |
| S- | Immunoglobuline G | 4,5 | 16,5 | 2,3 | 4,3 | 8,0 |
| S- | Immunoglobuline M | 5,9 | 47,3 | 3,0 | 11,9 | 16,8 |
| S- | Immunoglobuline catene κ | 4,8 | 15,3 | 2,4 | 4,0 | 8,0 |
| S- | Insulina | 21,1 | 58,3 | 10,6 | 15,5 | 32,9 |
| (B)Leuc- | Interferone, recettore | 14,0 | 20,0 | 7,0 | 6,1 | 17,7 |
| S- | Interleuchina-8 | 24,0 | 31,0 | 12,0 | 9,8 | 29,6 |
| S- | Interleuchina-1 | 30,0 | 36,0 | 15,0 | 11,7 | 36,5 |
| B- | Lattato | 27,2 | 16,7 | 13,6 | 8,0 | 30,4 |
| S- | Lattato deidrogenasi (LDH) | 8,6 | 14,7 | 4,3 | 4,3 | 11,4 |
| S- | Lattato deidrogenasi isoenzima 1 (LDH1) | 6,3 | 10,2 | 3,2 | 3,0 | 8,2 |
| S- | Lattato deidrogenasi isoenzima 2 (LDH1) | 4,9 | 4,3 | 2,5 | 1,6 | 5,7 |
| S- | Lattato deidrogenasi isoenzima 3 (LDH1) | 4,8 | 5,5 | 2,4 | 1,8 | 5,8 |
| S- | Lattato deidrogenasi isoenzima 4 (LDH1) | 9,4 | 9,0 | 4,7 | 3,3 | 11,0 |
| S- | Lattato deidrogenasi isoenzima 5 (LDH1) | 12,4 | 13,4 | 6,2 | 4,6 | 14,8 |
| P- | Lattoferrina | 11,8 | 23,7 | 5,9 | 6,6 | 16,4 |
| S- | LDL colesterolo | 8,3 | 25,7 | 4,2 | 6,8 | 13,6 |
| S- | LDL colesterolo (metodo diretto) | 6,5 | ND | 3,3 | ND | ND |
| S- | LDL recettore, mRNA | 21,5 | 13,6 | 10,8 | 6,4 | 24,1 |
| B- | Leucociti, conta | 10,9 | 19,6 | 5,5 | 5,6 | 14,6 |
| S- | Licopenene | 43,1 | ND | 21,6 | ND | ND |
| B- | Linfociti CD4 | 25,0 | ND | 12,6 | ND | ND |
| B- | Linfociti, conta | 10,4 | 27,8 | 5,2 | 7,4 | 16,0 |
| S- | Lipasi | 23,1 | 33,1 | 11,6 | 10,1 | 29,1 |
| S- | Lipoproteina (a) | 8,5 | 85,8 | 4,3 | 21,6 | 28,8 |
| S- | Luteina | 23,7 | ND | 11,9 | ND | ND |
| (B)Erythr- | Magnesio | 5,6 | 11,3 | 2,8 | 3,2 | 7,8 |
| (B)Leuc- | Magnesio | 18,3 | 16,4 | 9,2 | 6,1 | 21,2 |
| S- | Magnesio totale | 3,6 | 6,4 | 1,8 | 1,8 | 4,8 |
| U- | Magnesio, concentrazione, 24 h | 45,4 | 37,4 | 22,7 | 14,7 | 52,2 |
| U- | Magnesio, escrezione, 24 h | 38,3 | 37,6 | 19,2 | 13,4 | 45,0 |
| S- | Magnesio ionizzato | 1,9 | 5,1 | 1,0 | 1,4 | 2,9 |
| S- | Mioglobina | 13,9 | 29,6 | 7,0 | 8,2 | 19,6 |
| B- | Monociti, conta | 17,8 | 49,8 | 8,9 | 13,2 | 27,9 |

| | | CVi | CVg | I (%) | B (%) | ET (%) |
|----------|---|------|------|-------|-------|--------|
| U- | N-Telopeptide tipo I collagene/creatinina, prima urina | 17,2 | 44,8 | 8,6 | 12,0 | 26,2 |
| U- | N-Acetil glucosaminidasi, concentrazione, urina della notte | 48,6 | 18,4 | 24,3 | 13,0 | 53,1 |
| U- | N-Acetil glucosaminidasi, escrezione | 42,4 | 18,2 | 21,2 | 11,5 | 46,5 |
| B- | Neutrofilati, conta | 16,1 | 32,8 | 8,1 | 9,1 | 22,4 |
| B(Plat)- | Norepinefrina | 9,5 | ND | 4,8 | ND | ND |
| P- | Norepinefrina | 19,5 | ND | 9,8 | ND | ND |
| P- | Omocisteina | 9,0 | 40,3 | 4,5 | 10,3 | 17,7 |
| S- | Ormone follicolo-stimolante (FSH) | 8,7 | 18,0 | 4,4 | 5,0 | 12,2 |
| S- | Ormone luteotropo (LH) | 14,5 | 27,8 | 7,3 | 7,8 | 19,8 |
| S- | Ormone tireotropo (TSH) | 19,3 | 19,7 | 9,7 | 6,9 | 22,8 |
| S- | Osmolarità | 1,3 | 1,2 | 0,7 | 0,4 | 1,5 |
| U- | Ossalato, concentrazione | 44,0 | 18,0 | 22,0 | 11,9 | 48,2 |
| U- | Ossalato, escrezione | 42,5 | 19,9 | 21,3 | 11,7 | 46,8 |
| S- | Osteocalcina | 7,2 | 27,0 | 3,6 | 7,0 | 12,9 |
| B- | pCO ₂ | 4,8 | 5,3 | 2,4 | 1,8 | 5,7 |
| B- | pH (pH unità) | 0,2 | ND | 0,1 | ND | ND |
| B- | pH [H ⁺] | 3,5 | 2,0 | 1,8 | 1,0 | 3,9 |
| B- | Piastrine, ampiezza della distribuzione | 2,8 | ND | 1,4 | ND | ND |
| B- | Piastrine, conta | 9,1 | 21,9 | 4,6 | 5,9 | 13,4 |
| B- | Piastrinocrito | 11,9 | ND | 6,0 | ND | ND |
| U- | Piridinolina/creatinina, urina del mattino | 8,7 | 17,6 | 4,4 | 4,9 | 12,1 |
| B- | Piruvato | 15,2 | 13,0 | 7,6 | 5,0 | 17,5 |
| P- | Plasminogeno | 7,7 | ND | 3,9 | ND | ND |
| U- | Porfirine | 40,0 | ND | 20,0 | ND | ND |
| U- | Porfirine totali | 40,0 | ND | 20,0 | ND | ND |
| U- | Porfobilinogeno | 15,0 | ND | 7,5 | ND | ND |
| (B)Leuc- | Potassio | 13,6 | 13,4 | 6,8 | 4,8 | 16,0 |
| S- | Potassio | 4,8 | 5,6 | 2,4 | 1,8 | 5,8 |
| U- | Potassio, concentrazione | 27,1 | 23,2 | 13,6 | 8,9 | 31,3 |
| U- | Potassio, escrezione | 24,4 | 22,2 | 12,2 | 8,2 | 28,4 |
| S- | Prealbumina | 10,9 | 19,1 | 5,5 | 5,5 | 14,5 |
| S- | Procollagene tipo 1 C-terminale | 7,8 | ND | 3,9 | ND | ND |
| S- | Procollagene tipo 1 N-terminale | 6,8 | 18,4 | 3,4 | 4,9 | 10,5 |
| S- | Prolattina (maschi) | 6,9 | 61,2 | 3,5 | 15,4 | 21,1 |
| P- | Prolil-endopeptidasi | 16,8 | 13,9 | 8,4 | 5,5 | 19,3 |
| S- | Properdina fattore B | 9,5 | 11,2 | 4,7 | 3,7 | 11,5 |
| S- | Proteina C | 5,8 | 55,2 | 2,9 | 13,9 | 18,7 |
| S- | Proteina C-reattiva | 42,2 | 76,3 | 21,1 | 21,8 | 56,6 |
| P- | Proteina S | 5,8 | 63,4 | 2,9 | 15,9 | 20,7 |
| S- | Proteine totali glicate | 0,9 | 11,6 | 0,5 | 2,9 | 3,7 |
| U- | Proteine, concentrazione | 39,6 | 17,8 | 19,8 | 10,9 | 43,5 |
| U- | Proteine, escrezione | 35,5 | 23,7 | 17,8 | 10,7 | 40,0 |
| S- | Proteine totali | 2,7 | 4,0 | 1,4 | 1,2 | 3,4 |
| P- | Rame | 8,0 | 19,0 | 4,0 | 5,2 | 11,8 |

| | | CVw | CVg | I(%) | B(%) | ET (%) |
|------------|---|------|-------|------|------|--------|
| S- | Rame | 4,9 | 13,6 | 2,5 | 3,6 | 7,7 |
| S- | Reticulociti alto fluorescenti, conta | 10,0 | 62,0 | 5,0 | 15,7 | 24,0 |
| S- | Reticulociti basso fluorescenti, conta | 1,6 | 4,9 | 0,8 | 1,3 | 2,6 |
| S- | Reticulociti medio fluorescenti, conta | 13,0 | 33,0 | 6,5 | 8,9 | 19,6 |
| S- | Reticulociti, conta | 11,0 | 29,0 | 5,5 | 7,8 | 16,8 |
| S- | Retinolo | 13,6 | 19,0 | 6,8 | 5,8 | 17,1 |
| P- | Selenio | 12,0 | 14,0 | 6,0 | 4,6 | 14,5 |
| B- | Selenio | 12,0 | 12,0 | 6,0 | 4,2 | 14,1 |
| S- | Sex hormone-binding globulin (SHBG) | 12,1 | 42,7 | 6,1 | 11,1 | 21,1 |
| (B)Erythr- | Sodio | 1,8 | 12,4 | 0,9 | 3,1 | 4,6 |
| (B)Leuc- | Sodio | 51,0 | 36,4 | 25,5 | 15,7 | 57,7 |
| S- | Sodio | 0,7 | 1,0 | 0,4 | 0,3 | 0,9 |
| Sudore | Sodio cloruro | 15,0 | 25,0 | 7,5 | 7,3 | 19,7 |
| U- | Sodio escrezione, 24 h | 28,7 | 16,7 | 14,4 | 8,3 | 32,0 |
| U- | Sodio, concentrazione, 24 h | 24,0 | 26,8 | 12,0 | 9,0 | 28,8 |
| Sperma- | Spermatozoi, concentrazione | 26,8 | 56,4 | 13,4 | 15,6 | 37,7 |
| Sperma- | Spermatozoi, morfologia | 19,6 | 44,0 | 9,8 | 12,0 | 28,2 |
| Sperma- | Spermatozoi, motilità progressiva | 15,2 | 32,8 | 7,6 | 9,0 | 21,6 |
| Sperma- | Spermatozoi, motilità progressiva rapida | 18,8 | 51,8 | 9,4 | 13,8 | 29,3 |
| Sperma- | Spermatozoi, motilità totale | 18,4 | 29,8 | 9,2 | 8,8 | 23,9 |
| Sperma- | Spermatozoi, vitalità | 10,3 | 25,8 | 5,2 | 6,9 | 15,4 |
| S- | Superossido dismutasi | 17,1 | 10,5 | 8,6 | 5,0 | 19,1 |
| (B)Erythr- | Superossido dismutasi | 12,3 | 4,9 | 6,2 | 3,3 | 13,5 |
| S- | T3-uptake | 4,5 | 4,5 | 2,3 | 1,6 | 5,3 |
| P- | Tempo di protrombina | 4,0 | 6,8 | 2,0 | 2,0 | 5,3 |
| P- | Tempo di tromboplastina parziale attivato | 2,7 | 8,6 | 1,4 | 2,3 | 4,5 |
| S- | Testosterone | 9,3 | 23,7 | 4,7 | 6,4 | 14,0 |
| Saliva- | Testosterone | 17,3 | 28,8 | 8,7 | 8,4 | 22,7 |
| U- | Testosterone | 25,0 | ND | 12,5 | ND | ND |
| S- | Testosterone libero | 9,3 | ND | 4,7 | ND | ND |
| U- | Testosterone libero | 51,7 | ND | 25,9 | ND | ND |
| S- | Thyroxin-binding globulin (TBG) | 6,0 | 6,0 | 3,0 | 2,1 | 7,1 |
| S- | Tiroglobulina | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| S- | Tiroxina libera (FT4) | 7,6 | 12,2 | 3,8 | 3,6 | 9,9 |
| S- | Tiroxina (T4) | 4,9 | 10,9 | 2,5 | 3,0 | 7,0 |
| S- | Tissue polypeptide antigen (TPA) | 28,7 | 40,4 | 14,4 | 12,4 | 36,1 |
| S- | Tissue polypeptide specific antigen (TPS) | 36,1 | 108,0 | 18,1 | 28,5 | 58,3 |
| S- | Transferrina | 3,0 | 4,3 | 1,5 | 1,3 | 3,8 |
| S- | Transferrina carboidrato carente | 7,1 | 38,7 | 3,6 | 9,8 | 15,7 |
| S- | Trigliceridi | 20,9 | 37,2 | 10,5 | 10,7 | 27,9 |
| S- | Triiodotironina (T3) | 8,7 | 17,2 | 4,4 | 4,8 | 12,0 |
| S- | Triiodotironina libera (FT3) | 7,9 | ND | 4,0 | ND | ND |
| S- | Tumor necrosis factor- α | 43,0 | 29,0 | 21,5 | 13,0 | 48,4 |
| S- | Urato | 8,6 | 17,2 | 4,3 | 4,8 | 11,9 |
| U- | Urato, concentrazione, 24 h | 24,7 | 22,1 | 12,4 | 8,3 | 28,7 |

| | | CVi | CVg | I (%) | B (%) | ET (%) |
|------------|--|------|------|-------|-------|--------|
| U- | Urato, escrezione, 24 h | 18,5 | 14,4 | 9,3 | 5,0 | 21,1 |
| S- | Urea | 12,3 | 18,3 | 6,2 | 5,5 | 15,7 |
| U- | Urea, concentrazione, 24 h | 22,7 | 25,9 | 11,4 | 8,6 | 27,3 |
| U- | Urea, escrezione, 24 h | 17,4 | 25,4 | 8,7 | 7,7 | 22,1 |
| P- | Vitamina B1 | 4,8 | 12,0 | 2,4 | 3,2 | 7,2 |
| (B)Eryth- | Vitamina B12 | 15,0 | 69,0 | 7,5 | 17,7 | 30,0 |
| B- | Vitamina B2 (Riboflavina) | 5,8 | 10,0 | 2,9 | 2,9 | 7,7 |
| (B)Eryth- | Vitamina B2 (Riboflavina) | 6,4 | 11,0 | 3,2 | 3,2 | 8,5 |
| (B)Eryth- | Vitamina B2, stato (attivazione della glutathione reductasi) | 5,2 | 40,0 | 2,6 | 10,1 | 14,4 |
| (B)Eryth- | Vitamina B6 | 14,0 | 24,0 | 7,0 | 6,9 | 18,5 |
| (B)Eryth- | Vitamina B6, stato (attivazione AST) | 1,4 | 44,0 | 0,7 | 11,0 | 12,2 |
| (B)Eryth- | Vitamina K (Fillochinone) | 38,0 | 44,0 | 19,0 | 14,5 | 45,9 |
| (B)Eryth- | Vitamina E (α -Tocoferolo) | 7,6 | 21,0 | 3,8 | 5,6 | 11,9 |
| S- | VLDL colesterolo | 27,6 | ND | 13,8 | ND | ND |
| (B)Erythr- | Volume corpuscolare medio (MCV) | 1,3 | 4,8 | 0,7 | 1,2 | 2,3 |
| (B)Plat- | Volume piastrinico medio (MPV) | 4,3 | 8,1 | 2,2 | 2,3 | 5,8 |
| S- | Zeaxantina | 34,7 | ND | 17,4 | ND | ND |
| S- | Zinco | 9,3 | 9,4 | 4,7 | 3,3 | 11,0 |
| P- | Zinco | 11,0 | 14,0 | 5,5 | 4,5 | 13,5 |

CVi, variabilità biologica intraindividuale; CVg, variabilità biologica interindividuale; I (%), traguardo di imprecisione ($0,5 CVi$); B (%), traguardo di inesattezza [$0,25 (CVi^2 + CVg^2)^{1/2}$]; ET (%), errore totale accettabile ($B + 1,65I$); ND, non disponibile.

APPENDICE 2

SISTEMA DI CONTROLLO A REGOLE MULTIPLE PROPOSTO DA WESTGARD

Lo schema riportato nella Figura 1 esemplifica l'algoritmo (12).

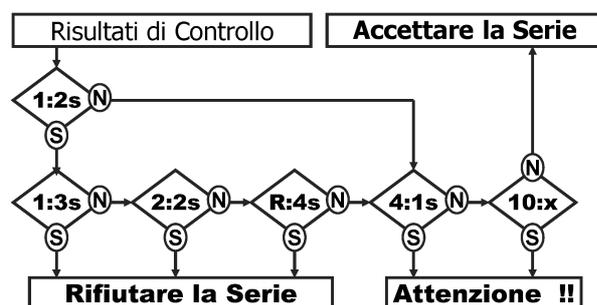


Figura 1

Schematizzazione dell'algoritmo di Westgard. N = non-violazione regola, S = violazione regola. 1:2s = 1 valore oltre ± 2 DS dalla media; 1:3s = 1 valore oltre ± 3 DS dalla media; 2:2s = 2 valori consecutivi oltre 2 DS dalla media, dalla stessa parte rispetto alla media; R:4s = 2 valori consecutivi che distano tra loro più di 4 DS; 4:1s = 4 valori consecutivi, tutti dalla stessa parte rispetto alla media, che distano dalla media più di 1 DS; 10:x = 10 valori consecutivi tutti dalla stessa parte rispetto alla media.

Se il valore del campione di controllo non è al di fuori dell'intervallo media ± 2 DS (e non sono violate le regole 4:1s e 10:x), la serie può essere accettata e il sistema è stabile; se invece è al di fuori di tale intervallo, verificare se è oltre ± 3 DS. In caso positivo, il sistema è fuori controllo; è quindi necessario interrompere la serie analitica ed individuare la causa del problema. In caso negativo, si valuta se vi sono due campioni consecutivi al di fuori dell'intervallo media ± 2 DS, dalla stessa parte rispetto alla media (2:2s) o dalla parte opposta (differenza tra due controlli consecutivi superiore a 4 DS - R:4s); in entrambi i casi il sistema è fuori controllo. Se non è violata la regola 1:2s, potrebbe essere il caso, prima di accettare la serie, di valutare le regole 4:1s e/o 10:x: se queste non sono violate, la serie può essere accettata e il sistema va considerato stabile; se invece sono state violate, necessita valutare l'entità dell'errore e decidere se rifiutare o meno la serie. Queste due regole infatti sono sensibili a piccoli scostamenti sistematici la cui significatività dipende dal margine di sicurezza del sistema (vedi Appendice 3).

Le regole rappresentano lo strumento statistico per giudicare se il risultato ottenuto è accettabile. Con il controllo statistico di qualità rileviamo due tipi di errore principali: casuali e sistematici. Ci sono alcune regole di controllo più sensibili all'errore casuale (1:3s; R:4s), altre più sensibili all'errore sistematico (2:2s, 4:1s, 10:x).

È importante costruire ed interpretare le procedure multiregola in un ordine logico usando le regole adatte al

differenti numero di misure di controllo previste nella serie analitica. Esempi di questo approccio sono:

- (1:3s/2:2s/R:4s/4:1s/10:x) con un numero di misure di controllo per serie pari a 2 oppure a 4;
- (1:3s/2su3:2s/R:4s/3:1s/12:x) con un numero di misure di controllo per serie pari a 3 oppure a 6.

Le regole sono oggettive ma probabilistiche, quindi le conclusioni che esse sottendono sono caratterizzate da un margine più o meno grande di incertezza (vedi Appendice 3).

Importanza del numero di campioni di controllo utilizzati in ogni serie analitica

Aumentando il numero di campioni di controllo, aumenta la sensibilità del sistema, ma anche il numero dei falsi allarmi: ad esempio, nell'utilizzare la regola 1:2s con un solo controllo, per l'effetto del caso, il 4,5% dei risultati fuoriuscirà dai limiti, ma se si utilizzano due osservazioni, la probabilità sarà quasi del 9% e sale al 17% quando si usino 4 misure di controllo, al 24,4% se si usano 6 misure (circa una serie analitica ogni 4 valutate conterrà un falso rigetto).

APPENDICE 3

SCelta DEL SISTEMA DI CONTROLLO E DEFINIZIONE DELLE MODALITÀ OPERATIVE

La definizione delle modalità operative e la scelta del sistema di controllo deve essere specifica per ogni metodo analitico e dipende:

1. dalla qualità necessaria (vedi Appendice 1 e capitolo Pianificazione del CQI),
2. dalle prestazioni caratteristiche di ogni metodo analitico (vedi capitolo Pianificazione del CQI).

In base al rapporto fra i due elementi indicati è possibile calcolare:

1. l'errore sistematico critico e l'errore casuale critico,
2. il margine di sicurezza del processo analitico,
3. la stabilità del processo analitico.

Caratteristiche del programma di controllo

Il sistema di controllo scelto deve riuscire a garantire, con un livello di qualità predefinito, di:

- a. non generare allarmi in assenza di errori,
- b. generare allarmi quando l'errore supera il livello predefinito.

La procedura di CQI dovrà essere quindi valutata in termini di percentuali di falsi e veri allarmi:

- Pfr ("probability of false rejection"): probabilità di scartare serie corrette,
- Ped ("probability of error detection"): probabilità di individuare la presenza di un errore.

L'obiettivo di un programma di controllo è quello di ridurre a meno del 5% la probabilità di un rigetto ingiustificato delle serie valide (Pfr <5%) e di portare oltre il 90% la probabilità di riconoscere le serie non valide (Ped >90%).

Curve di potenza delle regole di controllo

Per potenza di una regola di controllo si intende la sua capacità di individuare la presenza di un errore, sia esso di tipo casuale, sia di tipo sistematico. Le regole di controllo sono basate sulla teoria della distribuzione gaussiana degli errori e su concetti di probabilità statistica, in base ai quali è stato possibile calcolare il comportamento di ogni regola, singola o multipla, al crescere dei due tipi di errore. Una modalità standardizzata di esprimere l'errore è quello di misurarlo in unità di DS del metodo in questione (ad es. se la DS di un metodo è pari a 2 mg/dL e l'errore sistematico che si instaura è pari a 4 mg/dL, esso potrà essere espresso come 2 unità di DS).

La potenza di una regola di controllo dipende, oltre che dalle sue caratteristiche intrinseche, anche dal numero dei campioni di controllo utilizzati.

Le curve di potenza sono grafici che raffigurano, per una determinata regola di controllo, la probabilità di rilevare l'errore (ordinate) in funzione della grandezza dell'errore stesso (ascisse). L'intercetta di questa curva con l'asse y indica la probabilità di scartare serie corrette (Pfr), mentre la probabilità di individuare serie affette da un errore delle dimensioni indicate sull'asse x (Ped) è ottenuta interpolando sulle ordinate il valore corrispondente ad un dato livello di errore. La Figura 2 mostra l'efficacia nella individuazione dell'errore sistematico e casuale della regola 4:1s. La differenza fra le curve disegnate si esplicita nei seguenti aspetti:

- scala dell'asse x espressa in multipli di DS: nel caso dell'errore sistematico inizia da zero DS, nel caso dell'errore casuale inizia da 1 DS (il valore di 1 DS rappresenta l'imprecisione stabile del metodo),
- le curve di potenza per l'errore casuale non sono mai così ripide come quelle per rilevare l'errore sistematico; ciò rende più complessa la rilevazione dell'errore casuale (in altri termini la probabilità di rilevare errori effettivi (Ped) sarà significativamente inferiore rispetto all'errore sistematico). Un esempio è la curva di potenza per rilevare l'errore casuale con 4 misure di controllo, con dimensioni dell'errore tra 2 e 5 multipli di DS, nel quale la Ped ottenuta è sempre inferiore al 7%.

In generale, i grafici in Figura 2 dimostrano che la regola 4:1s rileva con efficienza gli errori sistematici, ma è molto meno efficiente per gli errori casuali.

Nella Figura 3 riportiamo un esempio che mostra le curve di potenza della regola 1:2s con differenti numeri di misure di controllo usate nella stessa serie analitica.

Riportiamo, infine, nella Figura 4, un esempio di confronto fra diverse procedure a regola singola e una procedura di CQI multiregola (1:3s/2:2s/R:4s/4:1s). Possiamo notare l'alta probabilità (Pfr) di scartare serie corrette della procedura 1:2s, mentre le altre regole hanno una Pfr che varia tra il 4% (procedura con regola 1:2,5s) e lo zero (procedura con regola 1:3,5s).

Gli esempi delle diverse combinazioni possibili sono moltissimi e la loro descrizione non fa parte degli scopi di questo documento (per ulteriori esemplificazioni un

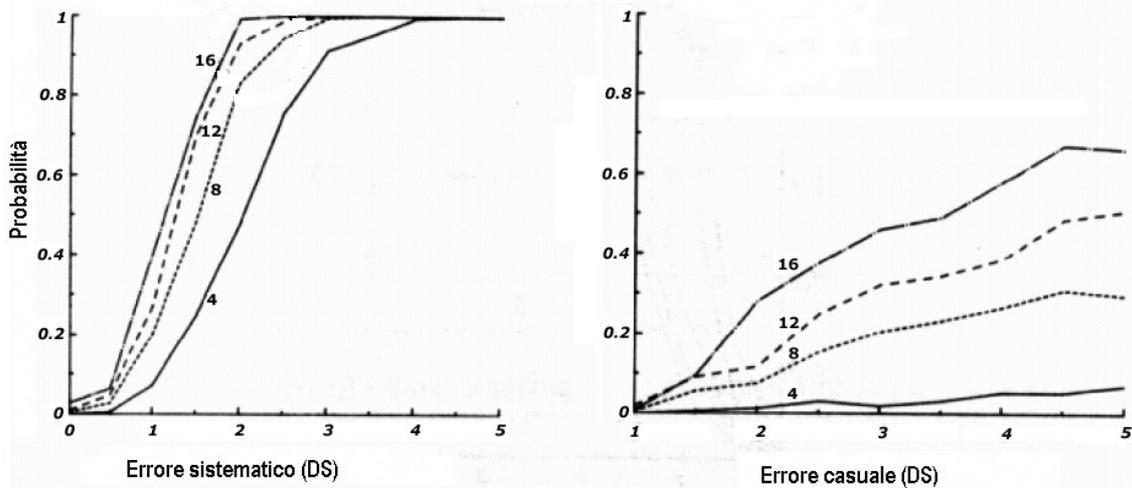


Figura 2
Regola 4:1s, curve di potenza per l'errore sistematico e per l'errore casuale. Le curve si differenziano tra di loro per il diverso numero di misure di controllo utilizzate nella stessa serie analitica (4, 8, 12 o 16). Mod. da rif. 15.

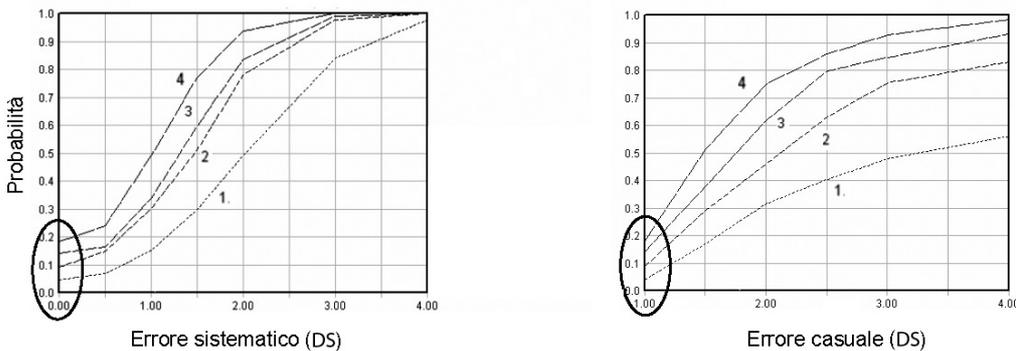


Figura 3
Regola 1:2s, curve di potenza per l'errore sistematico e per l'errore casuale. Con un numero di controlli per serie analitica compresi fra 1 e 4 si può notare come il numero di falsi allarmi (Pfr) sia elevato (dal 5 al 19%); da notare inoltre la diversa pendenza per le curve dell'errore sistematico e casuale.

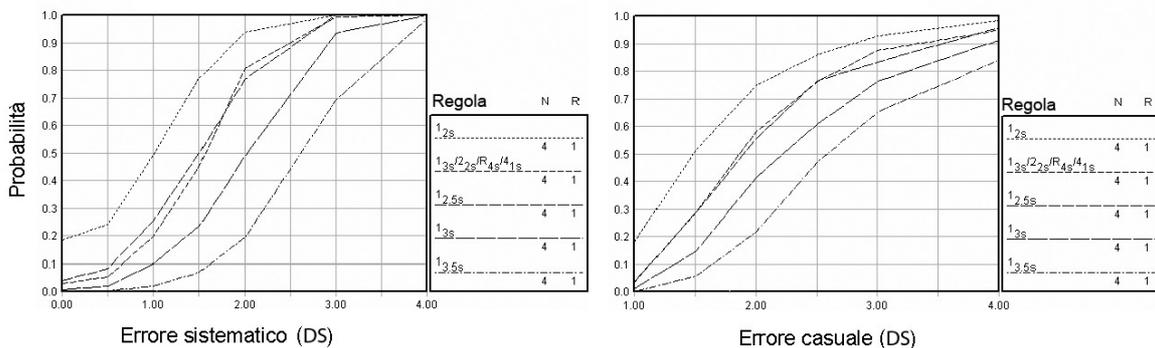


Figura 4
Curve di potenza per l'errore sistematico e casuale. Il numero (N) di misure di controllo è sempre uguale a 4 all'interno di ogni serie analitica (R). L'intercetta di ogni curva di potenza con l'asse y fornisce la probabilità (Pfr) di scartare serie corrette (falso allarme).

testo utile è quello di Cembrowski e Carey (15)). Sono disponibili "software" che visualizzando più grafici con diverse curve di potenza, facilitano la scelta delle regole e del numero dei controlli.

Data la limitata sensibilità di qualsiasi sistema di con-

trollo al modificarsi delle condizioni analitiche (variazione dell'errore casuale o instaurarsi di un errore sistematico), per comprendere se la regola di controllo adottata è adeguata (cioè dotata di una Ped sufficiente), è necessario conoscere qual è il rapporto fra le prestazioni tipiche del

metodo in esame ed il traguardo di qualità analitica: cioè definire l'errore sistematico critico e l'errore casuale critico.

Stima dell'errore sistematico critico e dell'errore casuale critico

In base alla modellizzazione dell'ET analitico (Figura 5) (1), possiamo definire che esso è costituito da una parte costante (prestazioni tipiche del metodo) e da una parte variabile (ΔES e ΔEC), che è quella che vogliamo tenere sotto controllo con il programma di CQI.

L'ET analitico è descritto dall'equazione:

$$ET = \text{bias} + \Delta ES \cdot DS + 1,65 \Delta EC \cdot DS.$$

Se ci limitiamo alla valutazione dell'errore sistematico e quindi supponiamo che l'errore casuale rimanga costan-

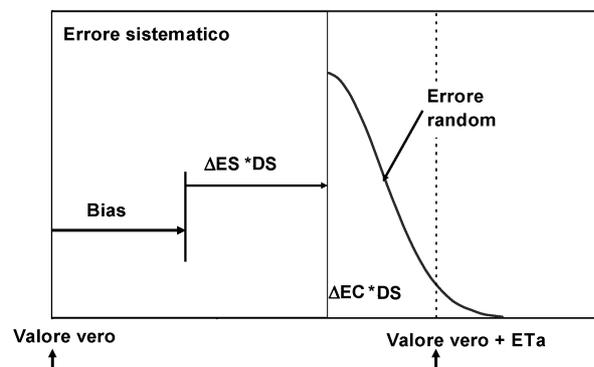


Figura 5

Modellizzazione dell'errore analitico (ETa). L'errore analitico deriva dalla somma del bias (errore sistematico tipico del metodo in questione) più ΔES (parte variabile del bias espressa come multipli della DS) più ΔEC (parte variabile dell'errore casuale (random) espressa come multipli della DS).

te (e quindi lo poniamo = 1), possiamo riformulare l'equazione per l'errore sistematico variabile come segue: $\Delta ES = [(ET - \text{bias})/DS] - 1,65$, da cui si desume che, se misuriamo l'ET e conosciamo le prestazioni tipiche del metodo (bias e DS), possiamo ricavare l'entità dell'errore sistematico variabile di quella specifica misura.

Se invece poniamo come valore di ET il massimo errore accettabile (traguardo analitico), il valore che otterremo da questa equazione sarà l'errore sistematico critico, cioè il livello di errore sistematico superato il quale le nostre misure saranno affette da un errore superiore al massimo accettabile. In altre parole sapremo di quante DS si può spostare la media, prima di superare i limiti del traguardo analitico scelto.

Se, al contrario, supponiamo di non avere errore sistematico variabile (poniamo $\Delta ES = 0$) e riformuliamo l'equazione per l'errore casuale variabile (ΔEC), otterremo la seguente espressione: $\Delta EC = (ET - \text{bias})/1,65DS$.

Anche in questo caso, se al posto dell'ET misurato sostituiamo il massimo ET accettabile, il valore che otterremo sarà l'errore casuale critico, cioè il livello di imprecisione superato il quale il metodo non sarà più in grado di lavorare entro il livello di errore predefinito.

Il programma di CQI dovrebbe essere impostato in modo tale da avere una $P_{ed} > 90\%$ quando l'errore (sistematico o casuale) è uguale all'errore critico. Nell'esempio riportato nella Figura 6, viene evidenziato un errore sistematico critico pari a 2,85 DS (barra nera verticale); questo livello di errore sistematico interseca le diverse curve di potenza con un diverso e significativo livello di probabilità di individuare serie errate (P_{ed}). Ciò permette di scegliere qual è la migliore combinazione di regole e il numero di controlli per serie (18).

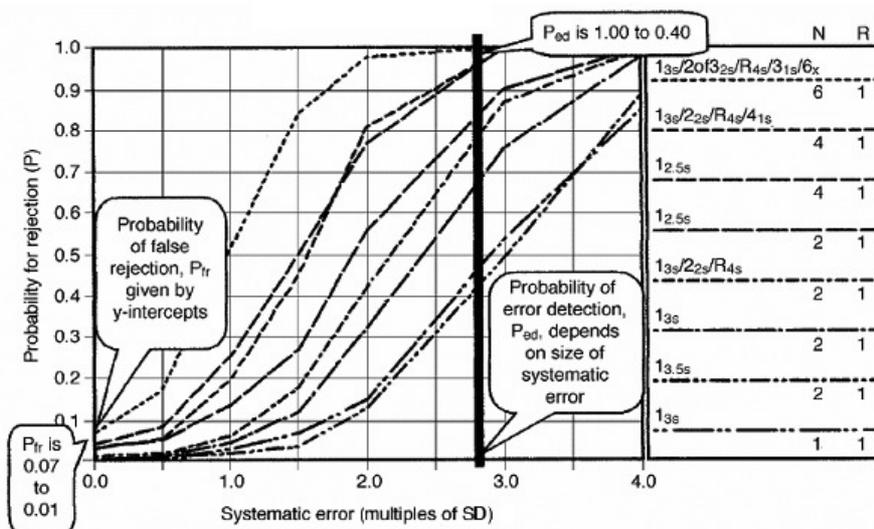


Figura 6

Esempio, tratto dal rif. 18, di un grafico di funzione di potenza utilizzato per valutare la prestazione di un programma di CQI per un metodo per la misura del colesterolo totale in cui l'errore sistematico importante dal punto di vista clinico è pari a 2,85 la DS del metodo. Riprodotto su permesso della Royal Society of Medicine Press. N, numero misure controllo; R, numero serie analitiche.

Margine di sicurezza del processo analitico (metrica 6 sigma)

In termini industriali i processi produttivi sono caratterizzati da una variabilità intrinseca, che rappresenta il limite tecnologico del sistema di produzione e dalla quale non si può prescindere. Ogni processo ha un risultato atteso: il valore centrale (media). Tale risultato è caratterizzato da una certa dispersione (DS) che di seguito indicheremo con il simbolo " σ ". Se la variabilità è più ampia dei limiti di specifica, una parte della produzione non è accettabile e bisogna intervenire sui parametri del processo per stabilizzarlo nel campo dei valori ammissibili.

L'azienda Motorola sviluppò alla fine degli anni '80 il programma "6 sigma", il cui obiettivo era quello di ridurre la variabilità delle caratteristiche dei prodotti ad un livello tale per cui i difetti risultassero pari a zero (estremamente improbabili).

Nella Figura 7 viene mostrata una distribuzione gaussiana di probabilità adottata come un modello di una caratteristica di qualità. La Figura evidenzia i limiti di specifica (superiore ed inferiore, indicati rispettivamente come USL e LSL), posti a ± 3 DS. Questi limiti identificano un'area sotto la curva pari a 0,9973. L'area al di fuori dei limiti risulta quindi di 0,0027, cioè una percentuale di osservazioni fuori dai limiti con probabilità (P) = 0,27%, che equivale a 2700 difetti per milione di osservazioni (DPM). Questo rappresenta il livello di qualità di un processo "3 sigma". Il concetto "6 sigma" di Motorola è stato quello di ridurre la variabilità naturale del processo di ogni componente in modo tale che i limiti di specifica risultassero posti a una distanza della media pari a ± 6 DS. In queste condizioni, come mostrato nella Figura 7a, i DPM diventano pari 0,002.

Potrebbe sembrare insensato mirare ad un livello di difettosità così basso, ma bisogna considerare il fatto che in un processo, oltre agli errori di tipo casuale, può instaurarsi un errore sistematico che porta allo spostamento della media. Se si lavora in condizioni 6 sigma, anche se la media subisce uno scostamento sistematico

pari a 1,5 DS, i DPM salgono solo a 3,4 (Figura 7b).

Questo modello è applicabile alla valutazione dell'affidabilità di un processo analitico di laboratorio calcolando il rapporto fra il CV tipico di un metodo e l'ET massimo accettabile. Il valore di sigma così ottenuto indica il livello di bontà della prestazione del processo stesso. Tale valore indica quanti difetti hanno la probabilità di presentarsi se il processo mantiene le sue prestazioni. Più alto è il valore sigma di un processo, minore è la probabilità che tale processo produca difetti rispetto ad uno standard stabilito.

Un processo caratterizzato da una distribuzione di dati molto dispersa, o da un ET accettabile molto piccolo, ha un basso valore di sigma (processo a scarsa capacità) e presenta una grande probabilità di avere insuccessi. Un processo caratterizzato da una distribuzione di dati poco dispersa e centrata sull'obiettivo (preciso ed esatto), o da un ET accettabile ampio, ha un ottimo valore di sigma (processo con capacità eccellente) e offre una scarsa probabilità di avere insuccessi.

Le prestazioni di tutti i metodi analitici possono essere caratterizzate sulla scala sigma, i valori variando tipicamente tra 2 (minima qualità) e 6 o più (eccellente qualità).

Calcolo del margine di sicurezza di un metodo analitico (metrica). Per calcolare il margine di sicurezza, dobbiamo conoscere il traguardo analitico, espresso come ETa, e le stime di imprecisione e bias del metodo:

$$\text{metrica } \sigma = (\text{ETa } \% - \text{Bias } \%) / \text{CV } \%$$

La metrica (scala) sigma è quindi una misura della capacità del nostro metodo analitico di ottenere la qualità necessaria per gli scopi clinici. Come si vede, la formula contiene tutti gli elementi già presenti in quella per la definizione dell'errore sistematico critico, che infatti possiamo descrivere anche nel modo seguente: $\Delta \text{EScrit} = \text{metrica } \sigma - 1,65$.

Da quanto fin qui indicato possiamo concludere che:

- il margine di sicurezza di ogni metodo con valori di sigma pari o inferiori a 3 è scarso, con valori pari a 6 o maggiori è elevato,

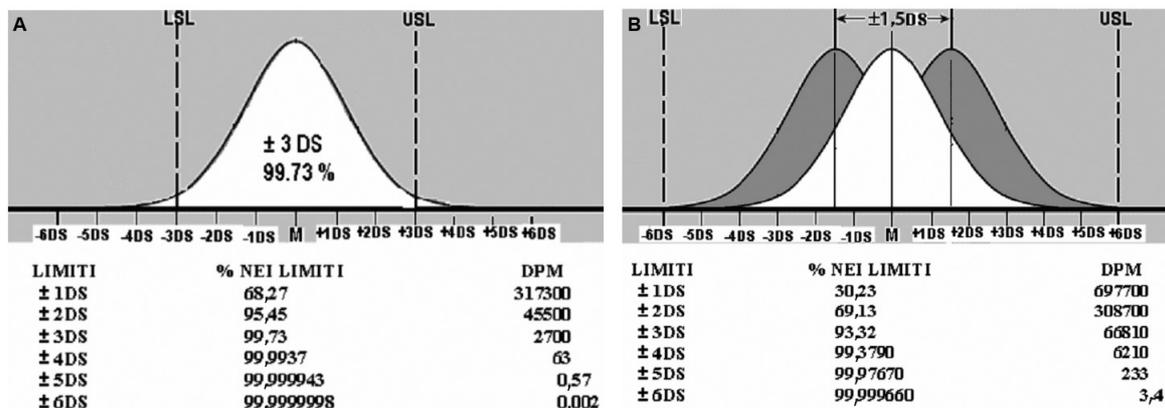


Figura 7

Il modello 6 sigma. A) Distribuzione gaussiana centrata sul target; B) Distribuzione gaussiana con uno spostamento di 1,5 DS (sigma) dalla media. LSL, limite di specifica inferiore; USL, limite di specifica superiore.

- quando il margine di sicurezza è elevato (valore di $\sigma \geq 6$) il ΔE_{Scrit} assumerà valori $\geq 4,35$. Questo significa che perché si instauri un errore clinicamente significativo si deve verificare un errore sistematico pari a 4,35 volte la DS tipica del metodo. Errori di questa entità sono rilevabili facilmente anche con regole semplici (ad es. 1:3s) ed un numero limitato di misure di controllo,
- quando il margine di sicurezza è basso (3 sigma) il ΔE_{Scrit} assumerà valori $\geq 1,35$. Questo significa che già l'instaurarsi di un errore sistematico modesto (pari a 1,35 volte la DS tipica del metodo) comporta il rischio di fornire risultati al di fuori del limite di accettabilità. In questa situazione non c'è alcun tipo di regola di controllo che permetta di rilevare l'eventuale errore con un livello di probabilità elevato per cui, oltre che aumentare il numero di campioni di controllo e utilizzare regole multiple, è necessario intervenire per migliorare le prestazioni del metodo analitico cercando in primo luogo di eliminare qualsiasi tipo di errore sistematico. In questo modo la formula per il calcolo del margine di sicurezza diventa: $\text{metrica } \sigma = \text{ETa\%/CV\%}$.

La Figura 8 illustra come utilizzare il valore stimato della metrica e dell'errore sistematico critico nei grafici con le curve di potenza (20). Sono rappresentate sull'asse delle ordinate la probabilità di rigetto e sull'asse della ascisse in basso e in alto rispettivamente l'errore sistematico critico e la metrica sigma, nella legenda a destra la probabilità di falsi rigetti (Pfr), le regole e il numero di controlli (N) per serie (R) di ogni curva di potenza. Ciò permette di scegliere la curva di potenza che rileva con la maggiore probabilità l'errore sistematico critico (Ped $\geq 90\%$) e la minore probabilità di falsi rigetti (Pfr $\geq 5\%$). La Figura mostra le curve di potenza delle più comuni regole di controllo di qualità con un numero di campioni di controllo da 2 a 6. Come si può osservare anche le rego-

le più complesse non garantiscono di rilevare gli errori nel 90% dei casi in condizioni di 3 sigma, nonostante un consistente numero di falsi positivi (Ped circa 80% e Pfr circa 7%). Al contrario, in situazioni da 5 sigma in su anche regole semplici, con solo 2 misure di controllo, danno sufficiente confidenza di rivelare l'errore quando quest'ultimo supera i limiti. Lo strumento grafico riportato in Figura 8 ci permette quindi di scegliere qual è la migliore combinazione di regole e il numero di controlli per serie in base al valore di sigma del nostro processo analitico.

Come ulteriore sofisticazione di questo processo di scelta delle condizioni ottimali di controllo di qualità, Westgard propone l'impiego delle "carte delle specifiche operative del processo" (OPSspecs) (16,17).

Stabilità del processo

Ulteriore strumento statistico a disposizione è il calcolo della stabilità di ogni processo. La stabilità del processo analitico può essere definita dalla frequenza di errori importanti a livello clinico decisionale, ad esempio con quale frequenza percentuale (f) abbiamo ottenuto uno shift della media $>\Delta E_{\text{Scrit}}$. Dai valori di f ottenuti potremo stabilire una scala della stabilità (buona, sufficiente e scarsa).

Inoltre è possibile con opportuni test statistici e software dedicati verificare periodicamente che:

- la media attuale non sia significativamente diversa dalla media di confronto ottenuta in laboratorio in condizioni stabili (test t di Student per dati non appaiati (15)),
- la DS dei dati attuali non sia significativamente diversa dalla DS di confronto ottenuta in laboratorio in condizioni stabili (test F di Fischer sulle varianze (15)),
- le frequenze sperimentali dei limiti adottati nelle carte

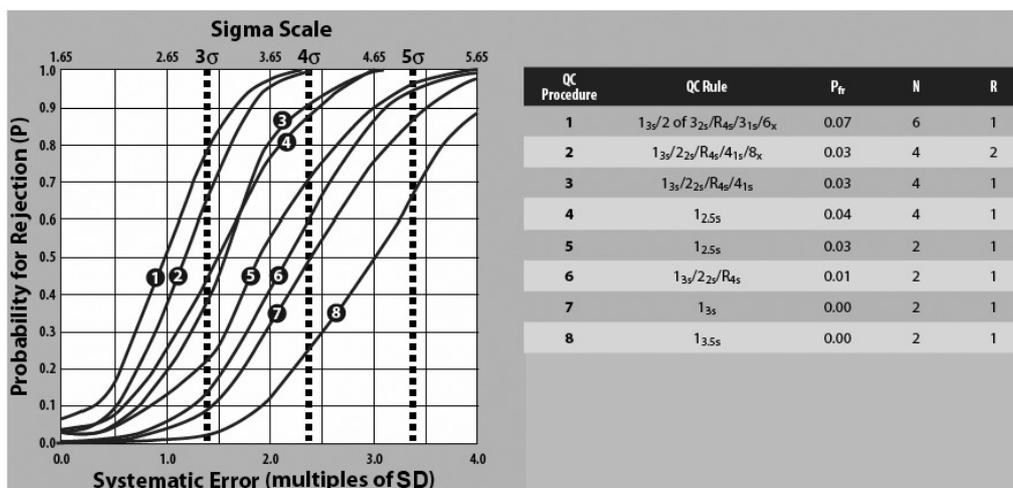


Figura 8

Il grafico, tratto dal rif. 20, mostra le curve di potenza relative a 8 diverse procedure di CQI di cui a destra sono indicate la struttura (QC Rule), le probabilità di fornire un falso allarme (Pfr), il numero di misure di materiali di controllo richieste (N) ed il numero di serie analitiche (R) a cui la procedura si applica. Le linee verticali tratteggiate indicano procedimenti di misura aventi prestazioni di 3, 4 e 5 sigma. Riprodotto su permesso dell'Editore di Clinical Laboratory News.

di controllo siano in linea con il modello teorico. Uno dei test statistici utilizzati per verificare le frequenze trovate dei dati compresi nei limiti di controllo con le frequenze attese è il test Δ^2 di Pearson. Comunque l'attenta osservazione delle carte ci permette di individuare graficamente uno spostamento della distribuzione dei dati (shift della media improvvisi o gradualmente "trend"); inoltre un aumento della dispersione dei dati (incremento dell'errore casuale) provocherà un aumento degli allarmi (superamento frequente dei limiti di controllo).

BIBLIOGRAFIA

- Besozzi M, Bolelli G, Borsotti M, et al. Il controllo qualità in chimica clinica: le basi, gli obiettivi, il disegno. *Biochim Clin* 1995;19:372-400.
- Regione Lombardia Decreto Direzione Generale Sanità n. 32856 del 19.12.2000. Linee guida su "Controllo di Qualità Interno nel Servizio di Medicina di Laboratorio".
- Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Kallner A, et al. Strategies to set global quality specifications in laboratory medicine. *Scan J Clin Lab Invest* 1999;59:474-85.
- Fraser CG. La variabilità biologica: dai principi alla pratica. Milano: Biomedica, 2004.
- Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:491-500.
- Fraser GC, Hyltoft Petersen P, Libeer JC, et al. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. *Ann Clin Biochem* 1997;34:8-12.
- <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- ISO In vitro diagnostic medical devices. Measurement of quantities in biological samples - Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. ISO 17511. Geneva: International Organization for Standardization; 2003.
- Statland BE. Clinical decision levels for laboratory tests, 2nd ed. Oradell NJ: Medical Economics Books, 1987.
- CLSI Document EP5-A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline - 2nd ed. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2004.
- CLSI Document C24-A3. Statistical quality control for quantitative measurement procedures: principles and definitions; Approved guideline - 3rd ed. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2006.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, et al. A multirule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1981;27:493-501.
- Westgard JO, Groth T. Power functions for statistical control rules. *Clin Chem* 1979;25:863-9.
- Westgard JO, Groth T. Performance characteristics of rules for internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. *Clin Chem* 1977;23:1857-67.
- Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management QC QA. Chicago: ASPC Press, 1989.
- Westgard JO. Charts of operational process specifications ("OPSpecs" charts) for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria. *Clin Chem* 1992;38:1226-33.
- Westgard JO. A method evaluation decision chart (MEDchart) for judging method performance. *Clin Lab Science* 1995;8:277-83.
- Westgard JO. Internal quality control planning and implementation strategies. *Ann Clin Biochem* 2003;40:593-611.
- Garber C. Six sigma: its role in the clinical laboratory. *Clin Lab News* 2004;30(April):10-4.
- Westgard JO. How labs can apply six sigma principles to quality control planning. *Clin Lab News* 2006;32(January):10-2.
- Westgard JO, Westgard SA. An assessment of metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance. *Am J Clin Pathol* 2006;125:343-54.
- Ross JW. Evaluation of precision. In: Warner M, ed. *CRC Handbook of clinical chemistry*, vol 1. Boca Raton, FL: CRC Press, 1982;391-422.

GLOSSARIO

Accuratezza

Grado di concordanza tra il risultato della misurazione ed il valore vero del misurando.

Nota 1. L'accuratezza della misura è correlata sia all'esattezza ("trueness") che alla precisione della misura.

Nota 2. L'inaccuratezza è quantificata attraverso la misura dell'errore (totale) definito come "valore - valore vero".

Affidabilità strumentale

Si riferisce di norma alla frequenza dei guasti strumentali.

Aliquota

Porzione misurata di un intero avente la stessa composizione. Termine generale che si riferisce a qualsiasi soluzione, campione, miscela, ecc.

Analita

Componente rappresentato dal nome della grandezza da misurare.

Nota: nel tipo di grandezza: "massa delle proteine in un campione di urina delle 24 ore", "proteine" è l'analita, l'intera definizione rappresenta invece il "misurando".

Attendibilità

Concetto d'insieme che comprende la precisione, l'esattezza, la specificità e la sensibilità di un metodo.

Bias (scostamento)

Differenza tra il risultato (media) della misurazione ed il valore vero (o di consenso) del misurando. Questa differenza può essere espressa sia nelle unità di misura sia come percentuale rispetto al valore vero.

Calibrazione

Procedimento mediante il quale si mette in rapporto il segnale fornito dallo strumento (lettura strumentale) con la grandezza che si intende misurare.

Campione analitico

La parte di un campione ricevuto dal laboratorio che è utilizzata per l'analisi. Occorre evitare confusione con il termine statistico campione casuale da una popolazione.

Campione di controllo

Campione che è analizzato esclusivamente a scopo di controllo di qualità, non per calibrazione.

Campione in esame

Materiale disponibile per le analisi.

Campo analitico

Vedi Intervallo analitico.

Controllo di calibrazione

L'insieme delle procedure di controllo qualità che consentono di verificare la corretta calibrazione di un sistema analitico prima dell'avvio del processo analitico.

Controllo di qualità

L'insieme di tutte le procedure che consentono di garantire la qualità dell'aspetto tecnico del prodotto analisi di laboratorio, cioè la qualità del processo analitico.

E' parte della gestione per la qualità focalizzata sul raggiungimento dei requisiti per la qualità.

Controllo di qualità interno (CQI)

L'insieme delle procedure intraprese per il monitoraggio continuo dell'esecuzione e dei risultati delle analisi di laboratorio.

CQI allargato

Procedura di controllo qualità consistente nella elaborazione complessiva dei risultati del CQI provenienti da laboratori che utilizzano tutti gli stessi materiali di controllo.

Curva di potenza

Una linea su un grafico di funzione di potenza che descrive le prestazioni di una sola procedura di controllo qualità (N misure di controllo per M regole di controllo, dove M può anche essere una singola regola ed N può essere pari a 1,2,3,4,5,6 misure)

Dato aberrante

Vedi Risultato aberrante.

Deviazione standard (DS)

Radice quadrata della varianza; è una stima della dispersione di una serie di misurazioni dello stesso analita.

DS relativa

Misura della imprecisione relativa calcolata come rapporto fra DS e media moltiplicato per 100; viene espressa come percentuale (anche definita coefficiente di variazione (CV%)).

Errore

Differenza tra una singola stima di una grandezza e il suo valore vero. Questa differenza o deviazione ("positiva" o "negativa") può essere espressa o nell'unità in cui è misurata la grandezza o come percentuale del valore vero. Se non si può ottenere una buona stima del valore vero, la differenza può essere espressa come deviazione da un valore assegnato. Per classificare gli errori così definiti come casuali o sistematici è necessario considerare una serie di misure. Vedi Imprecisione, Bias.

Errore casuale (imprecisione)

L'errore per cui, nel caso di misure replicate della stessa grandezza, le singole misure differiscono casualmente, cioè senza nessuna regola apparente al succedersi delle misure stesse, tra di loro. La stima dell'errore casuale è data dall'imprecisione.

Errore casuale critico (ECcrit)

E' un indicatore delle prestazioni del metodo analitico. Indica una imprecisione aggiuntiva rispetto a quella stabile del metodo e rappresenta l'imprecisione massima consentita prima di superare i limiti del traguardo analitico.

Errore grossolano

Vedi Sbaglio.

Errore sistematico

Vedi Bias.

Errore sistematico critico (EScrit)

E' un indicatore delle prestazioni del metodo analitico, il cui valore indica di quante DS la media può spostarsi prima di superare il traguardo analitico per l'ET accettabile.

Errore totale (ET) massimo accettabile

La specifica di qualità (o traguardo analitico) per l'ET.

ET sperimentale (ETs)

La formula generale di calcolo è $ETs = bias + n \cdot DS$; di solito viene definito come $bias + 1,65 \cdot DS$. In realtà esistono altre formule che si differenziano fra loro per il valore assunto dal coefficiente n, il quale stabilisce la porzione dei dati della popolazione inclusi nella stima dell'ET.

Esattezza

Livello di concordanza fra il valore medio, ottenuto da una serie numerosa di risultati analitici, e il valore vero.

Nota: il grado di esattezza di solito è espresso numericamente dal "bias" (scostamento) che è inversamente correlato con l'esattezza.

Imprecisione

Dispersione dei risultati indipendenti di misure ottenute in condizioni definite.

Nota: è espressa numericamente come DS o CV.

Intervallo analitico

Intervallo di concentrazione, o altra grandezza del campione, nel cui ambito il metodo è applicabile senza alcuna modifica.

Livello decisionale

Rappresenta una concentrazione di analita superata la quale l'individuo diviene eleggibile per un intervento medico. In relazione al quesito clinico ed alle caratteristiche dell'individuo possono esserci vari livelli decisionali per lo stesso analita.

Materiale di controllo

Materiale usato a scopo di controllo di qualità.

Materiale standard primario

Vedi Standard.

Precisione

Livello di concordanza fra risultati indipendenti di misure ottenute in condizioni definite.

Nota: è suddivisa in "ripetibilità" (in condizioni immutate - nella serie -) e "riproducibilità" (in base alla variazione delle condizioni: tempo, luogo, operatore, calibrazione, ecc.)

Regola di controllo

Rappresenta un criterio decisionale per interpretare i dati del controllo qualità e fornire un giudizio sullo stato di controllo di una serie analitica.

Risultato aberrante

Risultato ottenuto per un determinato analita nel corso di una serie analitica singola, ovvero da parte di un gruppo di laboratori, che si discosta dagli altri risultati in misura tale da rendere assai improbabile la sua appartenenza all'insieme dei risultati. Termini alternativi: dato aberrante, valore aberrante.

Risultato

Valore finale ottenuto per una grandezza misurata con un metodo; ciò comprende tutte le procedure parziali e le valutazioni del laboratorio.

Sbaglio

Accidente tecnico. Gli sbagli sono legati prevalentemente all'organizzazione del laboratorio (es. errata trascrizione di un dato numerico, errata identificazione del campione, ecc.). Gli sbagli, per definizione, non si devono verificare: una buona organizzazione evita di commettere questo tipo di errori.

Serie analitica

Insieme di misure successive eseguite senza interruzione e per le quali il risultato è calcolato utilizzando la stessa calibrazione e validate sulla base della medesima procedura di CQI.

Intervallo (periodo di tempo o serie di misure) durante il quale ci si attende che l'accuratezza del sistema rimanga stabile; periodi fra cui possono avvenire eventi che rendono il processo più suscettibile ad errori che è importante rilevare.

Specifiche di qualità

Livello di prestazione richiesto perché un esame soddisfi adeguatamente le esigenze cliniche. Vengono utilizzati con lo stesso significato termini come: obiettivi analitici, traguardi analitici, obiettivi di prestazione.

Standard

Realizzazione della definizione di una data grandezza, con un valore e un'incertezza definiti, usato come riferimento.

Materiale o soluzione con cui il campione è confrontato per determinare la concentrazione o altra grandezza. Si raccomanda di impiegare il termine "standard di calibrazione" quando occorre evitare confusione con altri significati tecnici o colloquiali della parola "standard".

Valore aberrante

Vedi Risultato aberrante.

Valutazione esterna della qualità (VEQ)

Procedimento che utilizza, ai fini del controllo di qualità, il risultato di un gruppo di laboratori che analizzano lo stesso o gli stessi campioni. La VEQ consente di ottenere una misura della efficacia delle procedure di controllo di qualità adottate.

Variabilità biologica interindividuale

Variabilità dei valori assunti dal punto omeostatico nei diversi individui.

Variabilità biologica intraindividuale

Ampiezza delle oscillazioni di una grandezza di un individuo attorno al suo punto omeostatico.