

Valutazione dell'esattezza della misura della fosfatasi alcalina sierica in un gruppo di laboratori italiani

Federica Braga¹, Erika Frusciante¹, Ilenia Infusino¹, Elena Aloisio¹, Elena Guerra², Ferruccio Ceriotti², Mauro Panteghini¹

¹Centro di Ricerca per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Università degli Studi, Milano

²Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale San Raffaele, Milano

Questo lavoro è stato in parte presentato al 48° Congresso Nazionale SIBioC, 18-20 ottobre 2016, Torino, sotto forma di poster, ricevendo il "Premio Luigi Spandrio".

ABSTRACT

Evaluation of the trueness of serum alkaline phosphatase (ALP) measurement in a group of Italian laboratories. The reference measurement procedure for ALP published in 2011 by the IFCC allowed to define the metrological traceability chain for the standardization of ALP measurement. This paper reports the results of an EQA experiment conducted to evaluate the level of ALP standardization among different Italian laboratories enrolled for a scientific project with the final aim to derive ALP traceable reference intervals for pediatric population. Three frozen serum pools with a target value assigned by the IFCC reference procedure were distributed to 13 centers and analyzed in triplicates for 3 different days. Only 3 laboratories averagely fulfilled the desirable goal of bias ($\leq \pm 5.5\%$) at all 3 concentrations (59.9 U/L, 186.9 U/L and 401.5 U/L), but only one provided data with a dispersion always within the uncertainty of the target result. The different ability to meet the goal clearly depended on the analytical system used. Focusing on the two most used analytical platforms, the Cobas systems (Roche Diagnostics) underestimated the ALP values, while the AU systems (Beckman Coulter) overestimated them. The regression parameters between the average values obtained by laboratories and the target values indicate that it would be possible to correct the results of all analytical systems and make them unbiased by a simple recalibration approach. The analysis of the commercial calibrator package inserts of the IVD companies involved in this study showed that, with the exception of Roche still aligned to the old Tietz method published in 1983, all companies offer at least two options, sometimes (e.g., Beckman AU) both not in line with the recommended standardization approach.

INTRODUZIONE

La standardizzazione della misura degli enzimi in Medicina di Laboratorio può essere ottenuta attraverso l'implementazione di un sistema di riferimento fondato sui concetti di riferibilità metrologica e di gerarchia delle procedure di misura (1). Dato che in enzimologia i risultati delle misure di attività catalitica dipendono interamente dalle condizioni sperimentali in cui tali misure sono effettuate, la procedura di riferimento, che definisce le condizioni ottimali alle quali una determinata attività enzimatica è misurata, occupa il livello più alto nella catena della riferibilità metrologica (2).

Per quanto riguarda la fosfatasi alcalina (ALP), enzima chiave in una serie di situazioni cliniche (3), un

gruppo di esperti candidò come riferimento nel 1983 una procedura con temperatura di misurazione a 30 °C, basata sull'utilizzo di 2-amino-2-metil-1-propanolo (AMP) come tampone e di 4-para-nitrofenilfosfato come substrato (4). Questa procedura non è però mai stata approvata e raccomandata ufficialmente dall'IFCC come metodo di riferimento. Nel 2011 è stata infine pubblicata dall'IFCC la procedura di riferimento per l'ALP, introducendo alcune modifiche a quella precedentemente proposta da Tietz et al., prima fra tutte una temperatura di misurazione di 37 °C (5). La disponibilità della procedura di riferimento ha permesso di definire la catena di riferibilità metrologica per la standardizzazione della misurazione dell'attività catalitica dell'ALP (Figura 1).

Corrispondenza a: Federica Braga, UOC Patologia Clinica, ASST Fatebenefratelli-Sacco, Via G.B. Grassi 74, 20157 Milano. Tel. 0239042743, Fax 0250319835, E-mail fedebraga83@gmail.com

Ricevuto: 15.06.2016

Revisionato: 08.07.2016

Accettato: 14.07.2016

Pubblicato on-line: 15.02.2017

DOI: 10.19186/BC_2017.005

L'ipofosfatasi familiare è una rara malattia ereditaria del metabolismo osseo e minerale, causata da mutazioni a carico del gene che codifica l'isoenzima ALP tessuto-specifico, con conseguente marcata riduzione della concentrazione sierica dell'ALP, quasi del tutto costituita dall'attività di questo isoenzima, che dà origine alle isoforme ossea ed epatica (6). Tale malattia si manifesta tipicamente in età pediatrica e il principale strumento diagnostico per la sua identificazione è la determinazione dell'attività catalitica dell'ALP sierica, che risulta ben diminuita al di sotto del limite inferiore di riferimento (7). La corretta definizione degli intervalli di riferimento per l'ALP in età pediatrica costituisce, tuttavia, una vera e propria sfida dato che le concentrazioni di questo enzima sono fisiologicamente elevate a causa della crescita, in particolare durante la pubertà, tendendo a raggiungere i livelli dell'adulto solo dopo i 18 anni nelle femmine e i 20 anni nei maschi (3). Il limite inferiore di riferimento in età pediatrica è quindi più alto dello stesso limite in età adulta. Inoltre, i laboratori clinici tendono frequentemente a riportare per i soggetti in età pediatrica solo il limite superiore di riferimento, rendendo impossibile un'identificazione altrimenti facile di un'ipofosfatasi (8).

La definizione accurata di limiti di riferimento pediatrici per l'ALP, che siano riferibili e globalmente utilizzabili quando la misura dell'enzima è effettuata con metodi standardizzati, è quindi di vitale importanza (9). Questo obiettivo è alla base di uno studio svolto sotto l'egida di SIBioC, che prevede nel suo disegno sperimentale due fasi: la prima, di carattere propedeutico, volta a verificare il livello di standardizzazione della misurazione della ALP, e quindi di equivalenza nei risultati forniti, tra i centri selezionati per l'ottenimento dei dati, e la seconda, che consiste nell'elaborazione statistica dei risultati di ALP ottenuti da diversi centri, relativi a un'ampia popolazione

pediatrica non selezionata, ma con una bassa prevalenza di soggetti ammalati, per la determinazione degli intervalli di riferimento riferibili dell'ALP.

Il presente lavoro riporta i risultati relativi alla fase 1. Nello studio sono stati distribuiti ai laboratori partecipanti 3 pool di sieri congelati con valore ALP assegnato mediante la procedura di riferimento IFCC, valutandone i risultati ottenuti con i diversi sistemi analitici commerciali. Per cercare di approfondire le problematiche evidenziate, sono state anche raccolte e discusse le informazioni di riferibilità metrologica e incertezza dichiarate nelle specifiche di calibrazione delle ditte i cui sistemi sono stati utilizzati durante lo studio.

MATERIALI E METODI

Preparazione dei campioni e spedizione

Sono stati preparati 3 pool di sieri di ~80 mL ciascuno, utilizzando i residui di campioni della routine giornaliera, con attività di ALP, che, in base alle informazioni disponibili (10), corrispondessero approssimativamente al limite inferiore, alla media e al limite superiore di una popolazione pediatrica di riferimento (pool L, M e H, rispettivamente). Da ogni pool sono state preparate varie aliquote di 0,4 mL ciascuna, conservate a -80 °C fino al momento della spedizione. Ai 13 centri partecipanti sono state distribuite 12 aliquote di ogni pool, conservate e spedite in ghiaccio secco.

Assegnazione dei valori di ALP

Il valore di ALP dei 3 pool è stato assegnato con la procedura di riferimento IFCC (5) dal laboratorio di riferimento del Centro di Ricerca per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME),

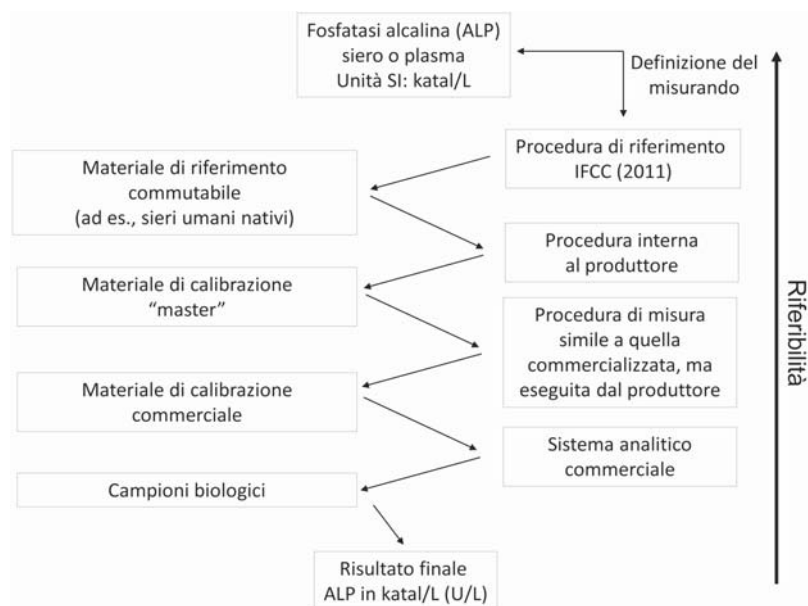


Figura 1

Catena di riferibilità metrologica per la misura della fosfatasi alcalina (ALP). Le frecce verso destra indicano "calibrazione", quelle verso sinistra indicano "assegnazione dei valori".

accreditato secondo gli standard ISO 17025 e ISO 15195 dall'Ente Italiano di Accreditamento (Accredia) (accreditamento LAT no. 217) e approvato dal "Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine" (JCTLM) (11). In particolare, la concentrazione di attività catalitica dell'ALP di ciascun pool è stata misurata in triplicato per 3 giorni consecutivi e il valore "target" è stato calcolato come media delle medie di 3 risultati. Per quanto riguarda l'incertezza, questa è stata calcolata come incertezza tipo composta, tenendo conto dell'incertezza standard relativa del dato di ripetibilità delle misurazioni (CV delle misure diviso la radice quadrata del numero di misure) e dell'incertezza della misura dell'ALP con metodo di riferimento presente sul certificato di accreditamento del CIRME (1,25%). Dall'incertezza composta è stata calcolata l'incertezza espansa usando un fattore di copertura di 2 (per un livello di confidenza del 95%).

Esperimento di VEQ

In ognuno dei 13 laboratori coinvolti, un'aliquota di ciascun pool è stata gradualmente scongelata e poi misurata in triplicato, ripetendo la procedura in 3 giorni differenti. Per le determinazioni era chiaramente specificato di utilizzare il sistema analitico esattamente come raccomandato dal produttore. Per ogni centro partecipante è stato calcolato il "bias" ottenuto dalla differenza tra la media delle medie dei 3 replicati e il valore "target" assegnato a ogni pool. Gli scostamenti in percentuale così ottenuti sono stati confrontati con i traguardi di qualità desiderabile ($\leq \pm 5,5\%$) e minima ($\leq \pm 8,3\%$) ricavati dai dati di variabilità biologica

dell'analita (12, 13). Infine, utilizzando i valori "target" e quelli medi sperimentali dei tre pool sono stati calcolati per ogni centro partecipante i parametri della regressione lineare semplice mediante il "software" statistico MedCalc versione 16.4.3.

Informazioni su riferibilità metrologica e incertezza dei sistemi analitici

Per la raccolta delle informazioni relative a riferibilità metrologica e incertezza dei sistemi analitici utilizzati per la determinazione dell'ALP sono stati consultati gli inserti dei calibratori commerciali delle aziende i cui sistemi analitici sono stati utilizzati nello studio (Abbott Diagnostics, Beckman Coulter, Roche Diagnostics e Siemens Healthcare Diagnostics). Il produttore è stato inoltre direttamente contattato per l'acquisizione di informazioni inizialmente non reperibili.

RISULTATI

I valori "target" di ALP ottenuti per ciascuno dei 3 pool distribuiti erano 59,9 U/L, 186,9 U/L e 401,5 U/L, rispettivamente per il campione L, M e H. Le relative incertezze espansive erano 3,7%, 2,8% e 2,5%.

All'esperimento di valutazione dell'allineamento delle misure al sistema metrologico di riferimento dell'ALP hanno partecipato 13 laboratori operanti in ospedali di medio-grandi dimensioni di varie regioni italiane. I risultati in valore assoluto ottenuti dai diversi centri per i pool L, M e H rispetto al valore assegnato con la procedura di riferimento (e l'associata incertezza espansa) sono riportati in dettaglio nella Figura 2, mentre la Tabella 1

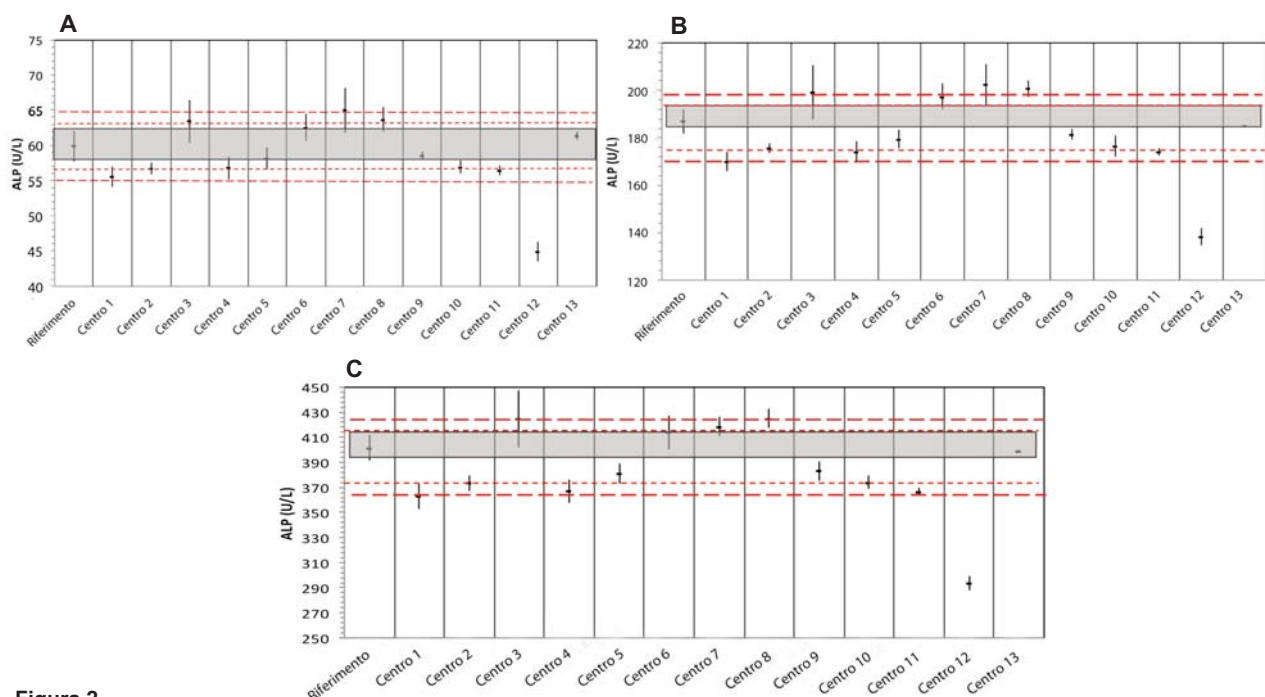


Figura 2

Risultati ottenuti dai centri partecipanti confrontati con i valori "target" dei pool di sieri analizzati. Per ciascun centro sono rappresentate la media (trattino orizzontale) e DS (barretta verticale). L'area grigia indica l'incertezza espansa attorno al valore bersaglio e le linee tratteggiate indicano lo scostamento massimo desiderabile ($\pm 5,5\%$) e quello di livello qualitativo minimo ($\pm 8,3\%$). A) pool L; B) pool M; C) pool H.

Tabella 1
Risultati di fosfatasi alcalina, bias corrispondente e parametri della retta di regressione tra le medie ottenute dal laboratorio e i valori attesi, ottenuti dai centri partecipanti allo studio

Laboratorio	Sistema analitico	Media dei replicati (U/L)				Bias ^a			Parametri di regressione			R ²
		Pool L	Pool M	Pool H	Pool L	Pool M	Pool H	Pendenza [Intervallo di confidenza al 95% (IC)]	Intercetta (U/L) [IC]			
CIRME	Procedura di riferimento IFCC	59,9	186,9	401,5	-	-	-	-	-	-	-	-
1	Roche Cobas 6000	55,6	170,1	363,0	-7,2%	-9,0%	-9,6%	0,8998 [0,8907-0,9088] (P=0,0005)	1,8 [-0,5/4,1] (P=0,065)	1,0000		
2	Roche Cobas 6000	56,7	175,8	373,6	-5,4%	-5,9%	-7,0%	0,9271 [0,8731-0,9810] (P=0,0029)	1,7 [-12,2/15,6] (P=0,37)	1,0000		
3	Beckman AU5822	63,4	199,2	424,8	5,9%	6,6%	5,8%	1,0573 [0,9968-1,1177] (P=0,0029)	0,7 [-14,9/16,3] (P=0,69)	1,0000		
4	Roche Cobas 8000	56,8	174,2	367,1	-5,2%	-6,8%	-8,6%	0,9074 [0,8218-0,9930] (P=0,0047)	3,3 [-18,8/25,4] (P=0,31)	0,9999		
5	Roche Cobas 6000/8000	58,1	179,5	381,2	-3,0%	-4,0%	-5,1%	0,9452 [0,8915-0,9989] (P=0,0028)	2,0 [-11,9/15,9] (P=0,32)	1,0000		
6	Beckman AU680	62,6	197,4	413,9	4,4%	5,6%	3,1%	1,0263 [0,8501-1,2026] (P=0,0086)	2,8 [-42,6/48,3] (P=0,57)	0,9998		
7	Beckman AU6800	65,1	202,4	418,6	8,6%	8,3%	4,3%	1,0320 [0,7850-1,2789] (P=0,012)	5,7 [-58,0/69,4] (P=0,46)	0,9996		
8	Beckman AU5800	63,7	200,8	425,1	6,3%	7,4%	5,9%	1,0566 [0,9415-1,1717] (P=0,0055)	1,5 [-28,2/31,2] (P=0,63)	0,9999		
9	Siemens Advia	58,5	181,5	383,4	-2,3%	-2,9%	-4,5%	0,9500 [0,8572-1,0429] (P=0,0049)	2,5 [-21,5/26,5] (P=0,41)	0,9999		
10	Roche Cobas 8000	56,9	176,4	374,0	-5,0%	-5,6%	-6,8%	0,9275 [0,8599-0,9951] (P=0,0037)	2,0 [-15,4/19,4] (P=0,38)	1,0000		
11	Roche Cobas 8000	56,4	174,2	366,8	-5,8%	-6,8%	-8,6%	0,9075 [0,8066-1,0083] (P=0,0056)	3,0 [-23,0/29,0] (P=0,38)	0,9999		
12	Beckman DxC 600	44,9	138,3	293,7	-25,1%	-26,0%	-26,9%	0,7279 [0,6900-0,7658] (P=0,0026)	1,7 [-8,1/11,4] (P=0,28)	1,0000		
13	Abbott Architect c16000	61,3	185,0	399,0	2,3%	-1,0%	-0,6%	0,9895 [0,9117-1,0672] (P=0,0039)	1,3 [-18,8/21,3] (P=0,57)	1,0000		

^aIn corsivo, valori di bias > del livello di qualità desiderabile; in grassetto, valori di bias > del livello di qualità minimo.

riporta i risultati ottenuti da tutti i centri coinvolti e le strumentazioni utilizzate per la misurazione dell'ALP, così come lo scostamento in percentuale riscontrato nei confronti della procedura di riferimento confrontato con l'obiettivo di qualità dello stesso. Sono riportati inoltre i parametri della retta di regressione tra le medie ottenute da ciascun laboratorio e i valori attesi.

Applicando il traguardo di massimo "bias" accettabile a un livello di qualità desiderabile ($\pm 5,5\%$), solo 3 centri (23%) erano mediamente in grado di rispettarlo a tutte e 3 le concentrazioni valutate, ma solo uno (centro no. 13) forniva dati con dispersione sempre all'interno dell'incertezza del risultato "target" e quindi virtualmente senza "bias". I centri con prestazioni accettabili diventavano 8 (61,5%) se si considerava il traguardo di qualità di livello minimo ($\pm 8,3\%$). Analizzando infine i parametri di regressione tra le medie ottenute dai laboratori e i valori "target", è possibile notare che i valori di intercetta erano sempre non significativamente diversi da 0, mentre quelli di pendenza risultavano sempre significativamente diversi da 1. Questo indica che in teoria sarebbe possibile correggere i risultati di tutti i sistemi di misura utilizzati e renderli "unbiased" sulla base delle regressioni ottenute mediante semplice ricalibrazione degli stessi.

La Figura 3 presenta i risultati riportati dai partecipanti (con l'esclusione del centro no. 12, evidente "outlier" rispetto agli altri) per i pool M e H sotto forma di Youden plot. Da quest'analisi si evidenzia come vi sia differenza nella capacità di rispettare il limite di prestazione desiderabile per entrambi i campioni in base a differenti sistemi analitici. Concentrandoci sulle due piattaforme analitiche più utilizzate, è possibile notare che i sistemi Cobas (Roche Diagnostics) tendono a sottostimare i valori di ALP, mentre i sistemi AU (Beckman Coulter) tendono a sovrastimarli.

Nella Tabella 2 sono riportate le informazioni relative alla riferibilità metrologica e all'incertezza dei calibratori commerciali dei sistemi analitici per la determinazione dell'ALP delle aziende i cui sistemi analitici sono stati utilizzati dai laboratori partecipanti allo studio. E' innanzitutto evidente come, a eccezione di Roche, tutte le ditte offrano almeno due opzioni ai loro utilizzatori, a volte (Beckman AU) nessuna in linea con l'attuale approccio di standardizzazione, riportato nella Figura 1. D'altro canto, Roche dichiara ancora di allinearsi al vecchio metodo di Tietz et al. del 1983 (4), oggi chiaramente e definitivamente superato e reso obsoleto dalla procedura raccomandata da IFCC nel 2011. Questo spiega bene il problema di allineamento riscontrato nei centri che hanno partecipato all'esercizio di VEQ che utilizzano sistemi Beckman AU e Roche (Figura 3).

Analizzando gli inserti dei calibratori commerciali delle 4 ditte di diagnostici è emerso che le incertezze riportate sono tutte estese per un fattore di copertura (k) = 2. L'informazione che viene spesso omessa riguarda invece l'origine dell'incertezza dichiarata. Infatti, solo Siemens fornisce chiaramente questo dato per entrambe le piattaforme analizzate: l'incertezza

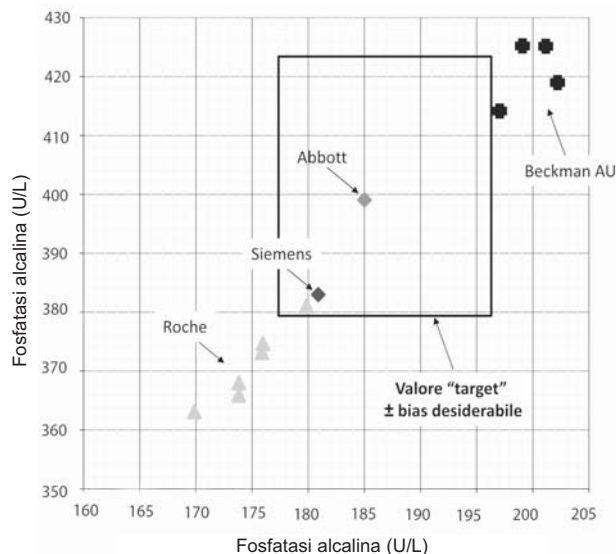


Figura 3

Youden plot: i risultati di fosfatasi alcalina per i pool M (asse x) e H (asse y) ottenuti dai partecipanti con i diversi sistemi analitici sono rappresentati con colori diversi. Il quadrato rappresenta l'area nella quale devono cadere i simboli per indicare il rispetto dell'obiettivo di "bias" desiderabile.

associata al calibratore in uso su Dimension Vista è composta, comprendendo correttamente anche i valori di incertezza associati ai livelli superiori della catena di riferibilità metrologica impiegata, mentre quella associata al calibratore in uso su Advia combina solo le incertezze del materiale di calibrazione "master" e del calibratore commerciale, non tenendo conto quindi di quella relativa ai livelli più alti della catena di riferibilità metrologica. Per quanto riguarda le altre ditte, nonostante non sia esplicitamente dichiarato, si può dedurre che quando il valore di incertezza dichiarato per il calibratore è inferiore all'incertezza associata ai riferimenti di ordine superiore (che, come abbiamo visto in questo studio, è compresa tra 2,5% e 3,7% a seconda del livello di concentrazione enzimatica) si tratta senz'altro di un valore relativo alla sola incertezza tipo dello stesso.

DISCUSSIONE

In questo lavoro abbiamo voluto riportare i risultati ottenuti nella prima fase di un progetto scientifico supportato da SIBioC, avente lo scopo di derivare gli intervalli di riferimento riferibili dell'ALP per la popolazione italiana in età pediatrica. Questa prima fase era volta a valutare il livello di standardizzazione della misurazione dell'ALP tra i potenziali centri partecipanti alla raccolta dei dati, in modo da garantire l'equivalenza dei risultati indipendentemente dai sistemi di misura utilizzati. A tal proposito, è stato allestito un esperimento di VEQ con la distribuzione a 13 laboratori di 3 pool di siero congelati, ai quali era stato in precedenza assegnato un valore "target" mediante la procedura di riferimento IFCC.

Tabella 2
 Informazioni relative alla riferibilità dei calibratori (e relativa incertezza) dei metodi per la misura della fosfatasi alcalina offerti dalle ditte produttrici delle strumentazioni utilizzate dai laboratori partecipanti allo studio

Ditta	Piattaforma analitica	Principio del metodo	Calibratore	Incertezza tipo dichiarata ^a	Riferimento di ordine superiore utilizzato
Abbott	Architect	p-NPP	Fattore di calibrazione	ND	Procedura di riferimento IFCC (2011)
		p-NPPP	Fattore di calibrazione	ND	Coefficiente di estinzione molare
Beckman	AU	IFCC (1983)	System calibrator	6,00%	Calibratore Master Beckman Coulter
		DEA	System calibrator	ND	Calibratore Master Beckman Coulter
	Synchron	AMP	Enzyme Validator Level 1	6,22%	Procedura di riferimento IFCC (2011)
			Enzyme Validator Level 2	1,86%	Procedura di riferimento IFCC (2011)
Roche	Cobas c	AMP	Enzyme Validator Level 1	3,64%	Metodo standard DGKC
			Enzyme Validator Level 2	1,27%	Metodo standard DGKC
	Integra	IFCC gen.2	C.f.a.s.	0,59%	Procedura di riferimento IFCC (1983)
			C.f.a.s	1,22%	Procedura di riferimento IFCC (1983)
	Modular	IFCC liquido	C.f.a.s	1,65%	Procedura di riferimento IFCC (1983)
Siemens	Dimension Vista	AMP	ALPI calibrator	4,51% ^b	Procedura di riferimento IFCC (2011)
	Advia	AMP	Chemistry calibrator control 1	3,70% ^c	Procedura di riferimento IFCC (2011)
			Chemistry calibrator control 2	1,00% ^c	Procedura di riferimento IFCC (2011)
	DEA		Chemistry calibrator control 1	1,40% ^c	Coefficiente di estinzione molare
			Chemistry calibrator control 2	1,30% ^c	Coefficiente di estinzione molare

^aEsiste con fattore di copertura (k) = 2.

^bIncertezza composta, comprendente anche i valori di incertezza associati ai livelli superiori della catena di riferibilità metrologica impiegata.

^cInclude le incertezze del materiale di calibrazione "master" e del calibratore commerciale.

p-NPP, para-nitrofenil-fosfato; ND, non disponibile; DEA, dietanolamina; AMP, 2-amino-2-metil-1-propanolo; DGKC, Società Tedesca di Chimica Clinica.

La scelta dei laboratori è stata fatta essenzialmente sulla base delle dimensioni del laboratorio e quindi del numero di risultati di ALP in soggetti pediatrici che avrebbe potuto fornire, senza considerare la strumentazione in uso. Analizzando i risultati ottenuti dai laboratori, si è tuttavia evidenziata una chiara dipendenza dal sistema analitico utilizzato. Sebbene sia evidente la (non voluta) disparità numerica tra i laboratori arruolati per il progetto utilizzando sistemi Roche Cobas (n=6) o Beckman AU (n=4) e i rimanenti 3 laboratori che usano Abbott Architect, Siemens Advia e Beckman DxC, appare chiara l'omogeneità di comportamento in termini di prestazione se si considerano i gruppi strumentali, con i "cluster" Roche e Beckman AU posizionati fuori dal traguardo di "bias" desiderabile (Figura 3). In generale, i dati ottenuti mettono in evidenza una scarsa comparabilità tra laboratori utilizzando sistemi differenti e una metodo-dipendenza persistente della misura dell'ALP, nonostante sia disponibile ormai da 5 anni una procedura di riferimento IFCC.

Per cercare di capire meglio le cause di questa poco soddisfacente situazione, abbiamo indagato quanto i produttori dei sistemi di misura utilizzati dai laboratori partecipanti a questo studio attualmente dichiarano riguardo alla riferibilità della misura dell'ALP. Sono apparsi evidenti alcuni aspetti che possono ampiamente spiegare i risultati ottenuti. Innanzitutto, la disponibilità di un sistema metrologico di riferimento, descritto nella Figura 1 di questo lavoro, non significa che automaticamente la riferibilità verso lo stesso sia implementata. Il caso di Roche è emblematico, per la scelta di rimanere ancora oggi ancorata a un metodo obsoleto. Decisione curiosa se si considera che questa ditta è stata l'unica che ha ufficialmente partecipato e contribuito alla messa a punto della procedura di riferimento pubblicata nel 2011 (5). D'altro canto, nonostante la Direttiva Europea 98/79 sia chiara nel richiedere la riferibilità dei prodotti diagnostici a riferimenti di ordine più elevato, una verifica di sorveglianza "post-marketing" è inesistente, cosicché possono rimanere disponibili sul mercato opzioni come quella relativa al sistema Beckman AU, che, dichiarando la riferibilità a un calibratore "master" interno al produttore (materiale certamente di ordine metrologico non elevato), non rispetta di fatto le indicazioni comunitarie. Infine, alcuni produttori continuano a offrire sulla stessa piattaforma analitica e impiegando lo stesso calibratore, metodiche con principi analitici (ad es., impiego del tampone dietanolamina) e riferibilità differenti (ad es., al metodo della Società Tedesca di Chimica Clinica (14)).

A parte la responsabilità dell'industria nel fornire prodotti che rispettino la qualità necessaria per l'applicazione clinica delle misure di laboratorio, i risultati di questo lavoro evidenziano anche le importanti responsabilità professionali che dovrebbero essere alla base dei meccanismi di controllo dei prodotti disponibili. Non è la prima volta che sottolineiamo, anche su questa rivista, come la mancanza di VEQ adeguatamente strutturate privi la nostra professione della possibilità di

oggettivamente valutare la qualità delle misure analitiche fornite (1, 15-18). Quanto riportato nel nostro lavoro rende del tutto evidente che un sistema di VEQ basato su qualsivoglia valore di consenso (ad es., sistema di misura dipendente), e non sul valore "vero", e che manchi di applicare specifiche analitiche di prestazione derivate da modelli oggettivi (ad es., dati robusti di variabilità biologica dell'analita), aspetti che purtroppo invece caratterizzano i programmi comunemente offerti dagli enti organizzatori in Italia, non possiede il potere di evidenziare le problematiche rilevate in questo studio o addirittura può portare a false sicurezze relative al servizio fornito. Si può portare qui ad esempio la fuorviante conclusione relativa a uno studio recentemente pubblicato, in cui è emerso, attraverso un esperimento di VEQ, che la maggior parte dei sistemi analitici commerciali per la misura dell'ALP (con la sola eccezione del Beckman DxC – talmente sottostimante che anche in quello studio mostrava una prestazione inaccettabile) può presentare una prestazione accettabile, se come riferimento viene utilizzata la media di tutti i metodi e come obiettivo viene concesso un "bias" troppo grande ($\pm 12\%$) (19). Rammarica soprattutto il fatto che, nonostante come detto le misure enzimatiche siano fortemente influenzabili dalle condizioni sperimentali in cui la misurazione è eseguita, per l'ALP i parametri delle rette di regressione ottenute dal confronto tra i valori ottenuti dai laboratori e quelli attesi indicano che un'attenta, ma tutto sommato semplice, ricalibrazione dei sistemi possa completamente correggere gli scostamenti rilevati e standardizzare facilmente le misure ottenute con i differenti sistemi.

RINGRAZIAMENTI

Questo studio è stato parzialmente finanziato da SIBioC. Si ringraziano i seguenti colleghi che hanno partecipato fornendo le misure dei campioni inviati: G. Lippi, G. Salvagno, G. Brocco (Verona); R. Aloe (Parma); R. Dorizzi, P. Maltoni (Pievesestina di Cesena, FC); C. Zuppi, M. Antenucci (Roma); M. Boffardi (Cava dei Tirreni, NA); D. Patrono (Bologna); M. Zaninotto (Padova); T. Trenti (Modena); C. Grillo, G. Mengozzi (Torino); M. Mussap, L. Delfino, G.B. Oliveri (Genova); L. Germagnoli (Castenedolo, BS).

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Infusino I, Ceriotti F, Panteghini M. Standardizzazione in enzimologia clinica: una sfida per la teoria della riferibilità metrologica. *Biochim Clin* 2010;34:96-102.
2. Panteghini M, Ceriotti F. Establishing a reference system in clinical enzymology. *Biochim Clin* 2000;24:499-508.
3. Panteghini M, Bais R. Serum enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 5th ed. St. Louis:

- Elsevier Saunders, 2012:565-98.
4. Tietz N, Rinker AD, Shaw LM. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:731-48.
 5. Schumann G, Klauke R, Canalias F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1439-46.
 6. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr Rev* 1994;15:439-61.
 7. Bianchi ML. Hypophosphatasia: an overview of the disease and its treatment. *Osteoporos Int* 2015;26:2743-57.
 8. Cattozzo G. Indagine sui metodi di determinazione e sulle modalità di refertazione dell'attività catalitica degli enzimi nel siero. *Biochim Clin* 2015;39:575-84.
 9. Ceriotti F, Infusino I, Panteghini M. Teoria e pratica degli intervalli di riferimento riferibili. *Biochim Clin* 2012;36:171-6.
 10. Panteghini M, Pagani F. Reference intervals for two bone-derived enzyme activities in serum: bone isoenzyme of alkaline phosphatase (ALP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TR-ACP). *Clin Chem* 1989;35:180-1.
 11. Infusino I, Braga F, Paleari R, et al. Il "Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine" (JCTLM): una cooperazione internazionale per promuovere la standardizzazione dei risultati in Medicina di Laboratorio. *Biochim Clin* 2011;35:377-81.
 12. Panteghini M, Pagani F. Biological variation in bone-derived biochemical markers in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1995;55:609-16.
 13. Pagani F, Panteghini M. Biological variation in serum activities of three hepatic enzymes. *Clin Chem* 2001;47:355-6.
 14. Bergmeyer HU, Büttner H, Hillmann G, et al. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardisation of methods for the estimation of enzyme activity in biological fluids. *J Clin Chem Clin Biochem* 1970;6:659-60.
 15. Infusino I, Panteghini M. Stima dell'incertezza di una misurazione: la riferibilità metrologica ci salverà? *Biochim Clin* 2010;34:245-6.
 16. Carobene A, Ceriotti F, Infusino I, et al. Valutazione dell'impatto del processo di standardizzazione sulla qualità della misura della creatinemia nei laboratori italiani. *Biochim Clin* 2012;36:414-24.
 17. Braga F, Panteghini M. Verifica della riferibilità metrologica dei dispositivi medico-diagnostici in vitro: responsabilità e strategie. *Biochim Clin* 2013;37:470-8.
 18. Braga F, Panteghini M. Riferibilità metrologica come strumento per la standardizzazione delle misure in Medicina di Laboratorio. *Biochim Clin* 2015;39:551-8.
 19. Goossens K, van Uytvanghe K, Thienpont LM. Trueness and comparability assessment of widely used assays for 5 common enzymes and 3 electrolytes. *Clin Chim Acta* 2015;442:44-5.