

M. Patriarca<sup>1</sup>, A. Menditto<sup>1</sup>, M. Bettinelli<sup>2</sup>, C. Minoia<sup>2</sup>

## Stima dell'incertezza di misura nel laboratorio clinico e in medicina ambientale, occupazionale e preventiva

<sup>1</sup> Laboratorio di Biochimica Clinica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

<sup>2</sup> Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale, Fondazione S. Maugeri, Pavia, IRCCS

**RIASSUNTO.** Tutti i laboratori di prova e i laboratori clinici, in accordo alle norme emanate di recente (UNI CEI EN ISO/IEC 17025, UNI CEI ENV 13005 e prEN ISO 15189), al fine di assicurare la qualità dei risultati e la loro confrontabilità in tempi e luoghi diversi, debbono dimostrare di utilizzare metodi di prova, ove possibile, validati, garantire la riferibilità delle proprie misurazioni e indicare l'incertezza di misura associata a ciascuno dei risultati prodotti. Mentre per quanto riguarda alcune grandezze del SI, quali la massa, esistono metodologie consolidate per assicurarne la riferibilità e stimare l'incertezza di misura, nel laboratorio clinico, e, in particolare, nel settore della medicina preventiva, ambientale e occupazionale, si incontrano difficoltà peculiari per garantire la riferibilità delle misurazioni alla mole (grandezza di riferimento del SI). Queste difficoltà sono sia di tipo culturale, per la novità del concetto stesso di incertezza di misura applicato alla medicina di laboratorio, sia di carattere pratico, per l'ampiezza e la complessità del repertorio analitico, la carenza di metodologie validate a livello ufficiale e di materiali di riferimento specifici per ogni matrice. Nel lavoro viene brevemente illustrato il significato del parametro incertezza di misura, nel contesto di altri elementi utili a definire le prestazioni di metodi analitici. Vengono inoltre riassunte le indicazioni delle organizzazioni internazionali in merito ai procedimenti da utilizzare per la stima dell'incertezza di misura e di come confrontare tali risultati con valori limite (di legge o di specifica).

**Parole chiave:** incertezza di misura, riferibilità, medicina di laboratorio.

**ABSTRACT.** [www.gimle.fsm.it](http://www.gimle.fsm.it)

*According to recently issued (UNI CEI EN ISO/IEC 17025, UNI CEI ENV 13005 and prEN ISO 15189) standards, to assure the quality of analytical results and their comparability in time and in different places, testing and clinical laboratories must demonstrate to use validated methods, guarantee the traceability of their measurements and state the measurement uncertainty associated with each result. For some SI quantities, such as the mass, the traceability to SI and the estimate of measurement uncertainty are warranted by established methods. In the clinical laboratory and especially in preventive, environmental and occupational laboratory medicine, specific difficulties arise to warrant the traceability to the mole. On one hand, the whole concept of measurement uncertainty is new in laboratory medicine, on the other hand, its application faces practical difficulties, because of the wideness and the complexity of the analytical repertory, the lack of officially validated methods and matrix-specific reference materials traceable to SI. In this paper we discuss briefly the concept of measurement uncertainty and its meaning in comparison with other parameters used to define the performance of analytical methods. In addition, we describe the procedures recommended by international organisations for estimating measurement uncertainty and interpreting analytical results with an associated measurement uncertainty in comparison with limit values.*

**Key words:** measurement uncertainty, traceability, laboratory medicine.

### Introduzione

La garanzia della qualità dei risultati analitici, e quindi della loro comparabilità in tempi e luoghi diversi, è un requisito indispensabile in tutti i settori dell'attività umana. In medicina di laboratorio, i risultati delle misurazioni possono essere determinanti sia per il percorso decisionale in ambito diagnostico sia nel campo della prevenzione delle malattie, il principale obiettivo sanitario oggi. In quest'ultimo settore, la medicina di laboratorio fornisce, attraverso il dosaggio di indicatori biologici, inclusi i fattori protettivi e gli indicatori preclinici e precoci di malattia, un contributo essenziale per la valutazione del rischio. L'efficacia, ai fini della protezione della salute, degli interventi basati in tutto o in parte su misurazioni di laboratorio dipende in larga misura dall'affidabilità dei risultati analitici, che deve essere inequivocabilmente documentata. A questo scopo, il laboratorio deve adottare e tradurre in pratica le norme emanate dall'International Organization for Standardization (ISO), organizzazione internazionale di normazione, in merito al sistema di gestione per la qualità e ai requisiti per i laboratori di prova, e i laboratori clinici (1-3), e ottenere il riconoscimento della propria competenza attraverso l'accreditamento e la partecipazione continua, con esito positivo, a programmi di valutazione esterna della qualità.

Le norme UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2000 "Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura" (2) e ISO 15189:2003 "Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence" (3) prescrivono, tra gli altri requisiti, che il laboratorio utilizzi soltanto metodi di prova validati, metta in atto misure per garantire la riferibilità dei risultati analitici e sia in grado di fornire una stima dell'incertezza di misura associata con i risultati che rilascia. La definizione di requisiti il cui fine ultimo è quello di produrre un obiettivo miglioramento della confrontabilità delle misurazioni in tempi e luoghi diversi, in tutti i settori delle attività umane, è stata possibile solo sulla base di un ampio consenso internazionale sostenuto da solide basi scientifiche. Il processo di standardizzazione ha richiesto in primo luogo l'adozione di un linguaggio comune, attraverso la definizione in alcune norme e linee guida della terminologia in ambito metrologico (4-8), tra cui l'International vocabulary of basic and general terms in metrology (VIM). La stesura di questo documen-

to è stata curata dal Gruppo Tecnico Consultivo sulla Metrologia dell'ISO (Technical Advisory Group on Metrology, TAG 4), a cui partecipano le organizzazioni metrologiche internazionali (Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) e Organisation Internationale de Métrologie Légale (OIML)), le organizzazioni internazionali di normazione (International Electrotechnical Commission (IEC) e International Organization for Standardization (ISO)) e le associazioni scientifiche internazionali (International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), International Union of Pure and Applied Physics (IUPAP) e International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)). In questo processo, è stato talvolta modificato o ridefinito il significato di termini già utilizzati da lungo tempo nel settore chimico-analitico: pertanto è necessario porre molta attenzione nell'uso corretto di questi termini. La Tabella I presenta una sintesi del significato di alcuni termini cruciali nel presente contesto e la Fig. 1 rappresenta le relazioni tra i suddetti termini.

Un ulteriore, importante passo per garantire il mutuo riconoscimento dei risultati analitici è stato compiuto con la pubblicazione, da parte dell'ISO, della "Guide to the expression of uncertainty of measurement" (GUM) che definisce un modello generale per la stima dell'incertezza di misura. La GUM è stata elaborata a partire da un documento prodotto dal BIPM nel 1980, su richiesta del Comité International des Poids et Mesures (CIPM), organo esecutivo della Conferenza Generale dei Pesi e Misure (CGPM). Lo stesso CIPM ha successivamente richiesto all'ISO di emanare un documento in materia, attraverso una discussione che vedesse coinvolte tutte le parti interessate. Del compito si è occupato il TAG 4, che ha istituito uno

specifico gruppo di lavoro (Working Group 3) composto di esperti designati da BIPM, IEC, ISO ed OIML e nominati dal Coordinatore del TAG 4. La GUM è stata tradotta in italiano dall'UNI e pubblicata una prima volta come norma UNI CEI 9 nel 1997 e poi nel 2000 come UNI CEI ENV 13005 (9), in seguito al recepimento della guida ISO come norma europea sperimentale.

La comprensione del significato dell'incertezza di misura e del procedimento per la sua stima è ovviamente di fondamentale importanza per tutti coloro che operano nel settore analitico. Tuttavia l'adozione di queste indicazioni è destinata ad avere una grande influenza anche sull'interpretazione dei risultati analitici, in particolare per quanto riguarda la compatibilità o meno con limiti di legge o livelli di intervento clinici, con implicazioni che si estendono ben oltre il solo settore analitico.

### Definizione e significato di incertezza di misura

Nella UNI CEI ENV 13005 (9) l'incertezza di misura è definita come "un parametro, associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando". In altri termini, l'incertezza di misura può essere definita come la "stima legata ad un risultato di prova che caratterizza l'escursione dei valori entro cui si suppone che cada il valore vero del misurando" (5).

Il concetto di incertezza di misura è strettamente legato a quello di riferibilità. La riferibilità è definita come la "proprietà del risultato di una misurazione, o del valore di un campione tale che esso possa essere collegato a riferimenti-

**Tabella I. Significato di termini relativi alle prestazioni di procedimenti di misurazione.**

<b>Tipi di errore</b>	
Errore casuale	Risultato di una misurazione meno la media che risulterebbe da un numero infinito di misurazioni dello stesso misurando (ovvero una grandezza in senso determinato sottoposta a misurazione, es. concentrazione di piombo nel sangue) effettuate sotto condizioni di ripetibilità (9)
Errore sistematico	Media che risulterebbe da un numero infinito di misurazioni dello stesso misurando, effettuate sotto condizioni di ripetibilità, meno un valore vero del misurando (9)
Errore (di misura)	Risultato di una misurazione meno un valore vero del misurando (9)
<b>Attributo della misurazione</b>	
Precisione	Grado di concordanza tra risultati di prova indipendenti ottenuti nelle condizioni stabilite (5)
Esattezza	Grado di concordanza tra il valore medio ottenuto a partire da un grande insieme di risultati di prova e un valore di riferimento accettato (5)
Accuratezza di misura	Grado di concordanza tra il risultato di una misurazione e un valore vero del misurando (9)
<b>Misura dell'attributo</b>	
Scarto tipo sperimentale	Il parametro $s(q_k)$ che per una serie di $n$ misurazioni dello stesso misurando caratterizza la dispersione dei risultati ed è dato dalla formula: $s(q_k) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (q_{ki} - \bar{q})^2}{n-1}}$ dove $q_k$ è il risultato della $k$ -esima misurazione e $\bar{q}$ è la media aritmetica degli $n$ risultati considerati (9)
Scostamento sistematico (vizio)	Differenza tra la speranza matematica dei risultati di prova e un valore di riferimento accettato (5)
Incetezza (di misura)	Parametro, associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando (9)

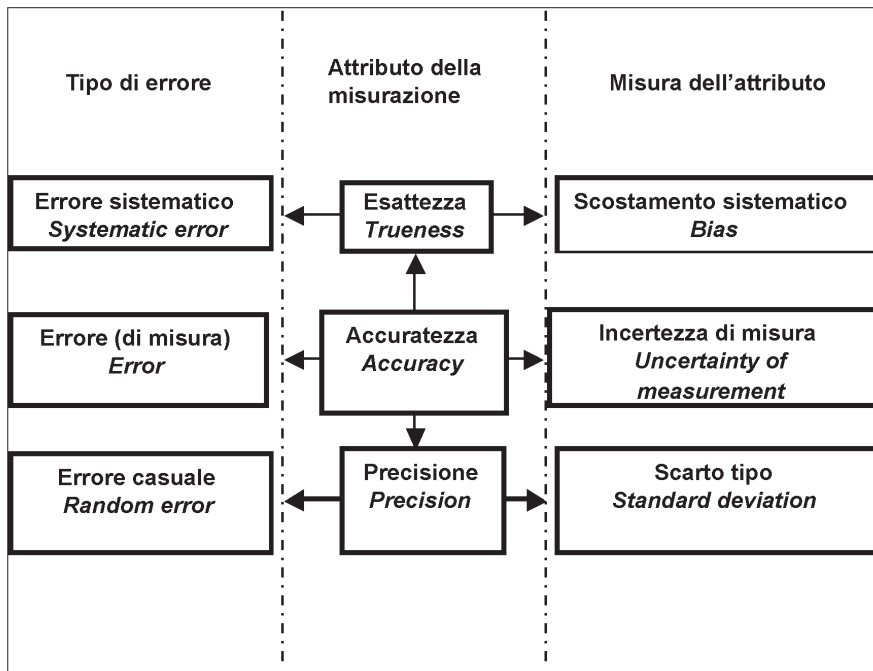


Figura 1. Relazioni tra tipi di errore, attributi delle misurazioni e misure degli attributi

determinati, di solito campioni nazionali o internazionali, attraverso una catena ininterrotta di confronti" tutti con incertezza dichiarata. Un risultato di misurazione è riferibile quando è ottenuto attraverso una catena ininterrotta di confronti, tutti aventi un'incertezza documentata, che permette di risalire a campioni dichiarati, generalmente nazionali od internazionali. Il termine italiano 'campione' (in inglese, *measurement standard*), non deve essere confuso con l'accezione corrente del termine "campione" (*sample*) come porzione di materiale biologico prelevato da un paziente e da sottoporre ad analisi, e si riferisce a un "campione materiale, strumento per misurazione, materiale di riferimento o sistema per misurazione inteso a definire, realizzare, conservare o riprodurre una unità ovvero uno o più valori noti di una grandezza da utilizzare come riferimento" (4). Per es. la riferibilità delle misure di peso effettuate con una bilancia è garantita mediante la verifica periodica delle misurazioni effettuate usando pesi campione direttamente riferibili ai campioni nazionali primari. In questo modo viene garantita la riferibilità delle misurazioni, entro un intervallo definito dall'incertezza di misura ad esse associata, al Sistema Internazionale di Unità (SI). (10). In accordo con la Direttiva CEE 80/181, recepita in Italia dal DPR 802 del 12 agosto 1982 (11), nell'Unione europea, il SI costituisce il sistema legale di unità in cui esprimere i valori di grandezza.

Le misurazioni in chimica e nelle biotecnologie consistono, nella maggior parte dei casi, di misure di quantità di sostanza o di concentrazione, sua grandezza derivata, in miscele complesse di altre sostanze. I procedimenti di misurazione comprendono in genere un pretrattamento più o meno articolato del campione da analizzare, in genere per separare l'analita di interesse dalla matrice e limitare l'effetto di altre sostanze interferenti sulla risposta del sistema di misurazione adottato. Stabilire la catena della riferibilità documentando l'incertezza di misura per queste misurazioni è quindi un procedimento più complesso, che richie-

de nella maggior parte dei casi la disponibilità di materiali di riferimento certificati e/o di procedimenti di misurazione di livello metrologico superiore. Per questo motivo, nella sua ultima riunione tenutasi nell'ottobre del 1999, la CGPM ha emanato due risoluzioni relative alla necessità di iniziative per sviluppare e migliorare la riferibilità delle misurazioni in chimica e nelle biotecnologie (12).

L'incertezza di misura viene indicata con la lettera - *u* - minuscola ed ha le dimensioni di uno scarto tipo (9). Il valore dell'incertezza di misura definisce l'intervallo di valori che possono essere ragionevolmente attribuiti al misurando con un livello di probabilità pari al 68.27%. Generalmente, è preferibile fornire un intervallo di valori con un livello di probabilità superiore (di solito il 95%): in questo caso,

l'incertezza può essere espressa come incertezza estesa, indicata con la lettera - *U* - maiuscola, che si ottiene moltiplicando l'incertezza *u* per un fattore di copertura *k*, che deve essere sempre dichiarato. Per un numero di gradi di libertà effettivi almeno pari a 10, il fattore di copertura per un livello di probabilità approssimativamente del 95.4% è generalmente considerato pari a 2.

È importante distinguere tra scarto tipo delle misure e incertezza di misura. Se, per esempio, viene effettuata una misurazione di piombo in un dato campione di sangue, lo scarto tipo delle misure ottenute in condizioni stabilite è una misura della precisione (ripetibilità, precisione intermedia, riproducibilità) e fornisce l'intervallo entro cui possono trovarsi i risultati di misure effettuate con quel dato procedimento sperimentale. L'incertezza di misura invece indica il grado di accuratezza del risultato fornito e definisce l'intervallo di valori entro cui è compreso, con un livello di probabilità definito, il valore vero della concentrazione di piombo nel campione di sangue sottoposto a misurazione.

La conoscenza dell'incertezza associata con un risultato di misurazione fornisce quindi un'informazione essenziale per valutare l'affidabilità di un risultato analitico, stabilire la sua idoneità per lo scopo prefisso e confrontarlo con intervalli di riferimento, soglie di intervento e valori limite. In altri termini, la conoscenza dell'incertezza associata con un risultato permette di determinare il grado di confidenza che può essere riposto nelle decisioni prese sulla base del risultato.

#### Stima dell'incertezza di misura

Lo scopo della norma UNI CEI ENV 13005:2000 è quello di fornire regole generali per la valutazione e l'espressione dell'incertezza di misura, applicabili ad un ampio spettro di misurazioni. I campi di applicazione di tali

regole includono le misurazioni effettuate per il controllo e la garanzia della qualità nella produzione, le misurazioni richieste per dimostrare la conformità a leggi e regolamenti, le misurazioni effettuate in qualsiasi settore scientifico o tecnologico a fini di ricerca e di sviluppo, le misurazioni richieste al fine di mantenere e sviluppare il sistema metrologico internazionale attraverso lo sviluppo, la conservazione e il confronto dei campioni nazionali ed internazionali delle unità di misura.

Il concetto di misurazione viene definito nella norma UNI CEI ENV 13005:2000 come "insieme delle operazioni che ha lo scopo di determinare un valore di una grandezza" e la grandezza è un "attributo di un fenomeno, corpo o sostanza, che può essere distinto qualitativamente e determinato quantitativamente" (9).

Il tipo più semplice di misurazione è quella in cui il risultato viene conseguito per confronto diretto di due grandezze omogenee, una delle quali corrisponde all'unità di misura (o a suoi multipli o sottomultipli). Le misure di lunghezza sono un esempio di misurazioni per confronto diretto. In molti altri casi e, in particolare, per la quasi totalità delle misurazioni effettuate in medicina di laboratorio, le misurazioni sono effettuate per confronto indiretto, attraverso la misurazione di grandezze di natura diversa da quella da quantificare, ma ad essa legate tramite una relazione nota e definita. Il procedimento di stima dell'incertezza delineato nella norma UNI CEI ENV 13005:2000 è applicabile ad entrambe queste situazioni. Esso parte dal concetto che per ciascun tipo di misurazione è possibile definire un modello matematico, del tipo  $y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$ , che descrive la relazione funzionale tra la grandezza da quantificare e le grandezze effettivamente misurate (grandezze d'ingresso). In generale, la misurazione di ogni grandezza d'ingresso  $x_i$  sarà affetta da un'incertezza,  $u(x_i)$ . Nel caso più semplice di grandezze tra loro non correlate, l'incertezza sulla grandezza  $y$ ,  $u_c(y)$ , può essere stimata combinando le incertezze sulle grandezze di ingresso in base alla legge della propagazione delle incertezze, secondo la formula:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left( \frac{\partial f(x_i)}{\partial x_i} \right)^2 u(x_i)^2}$$

che, nella maggior parte dei casi si riduce a combinazioni algebriche semplici dei valori assoluti o relativi delle incertezze. Partendo da questo assunto, la stima dell'incertezza procede attraverso la sequenza riportata in Tabella II.

**Tabella II. Il procedimento di stima dell'incertezza di misura**

1. Specificare il misurando
2. Definire la relazione che lo lega al procedimento di misura scelto
3. Identificare per ogni stadio del processo i fattori che possono contribuire all'incertezza della misura
4. Quantificare le singole componenti dell'incertezza $u(x_i)$ , esprimendole come varianze o scarti tipo
5. Combinare i valori ottenuti secondo le regole matematiche per ottenere l'incertezza composta $u_c(y)$
6. Trasformare l'incertezza ottenuta in incertezza estesa $U(y)$ moltiplicando per il fattore di copertura $k$

In primo luogo è necessaria una chiara comprensione di cosa si sta misurando e della relazione che lega la grandezza da stimare a quelle effettivamente misurate. Successivamente dovrebbero essere elencate tutte le fonti che possono contribuire all'incertezza. È importante compilare una lista quanto più possibile completa, tenendo conto del maggior numero di fattori, anche se considerati di minore importanza. In questa fase, l'obiettivo è quello di assicurarsi di avere un quadro quanto più possibile chiaro della situazione, prima di fare qualsiasi valutazione quantitativa.

In genere, si comincia considerando le fonti che possono influenzare i valori delle singole grandezze di ingresso, tuttavia debbono essere considerati anche altri fattori che non appaiono esplicitamente nell'equazione matematica, per es. la temperatura, il tempo di estrazione, il tempo necessario per il completamento di una reazione colorimetrica, ecc. Tra le fonti più comuni di incertezza vi sono: la definizione del misurando; la rappresentatività del campionamento; l'incertezza sulla taratura di strumenti; la variabilità delle condizioni di misura; il grado di purezza dei reagenti; l'incertezza dei valori assegnati a materiali di riferimento; la natura del campione; gli effetti dovuti al calcolo (taratura non lineare, arrotondamenti, valore di costanti, etc.); la correzione del bianco (incertezza sul valore del bianco e/o sulla validità della correzione); l'influenza dell'operatore (piccole variazioni nell'applicazione della procedura; le diverse interpretazioni nella lettura di una scala); altri possibili effetti casuali. Un metodo comunemente usato per rappresentare le fonti di incertezza che insistono su ciascuna grandezza di ingresso è quello di rappresentarle graficamente in un diagramma di causa - effetto (Fig. 2).

Il passo successivo è quello di quantificare il contributo all'incertezza di tutte le fonti identificate. Tuttavia, potrebbe non essere possibile, praticabile o utile quantificare il contributo di tutte le fonti, tenuto conto che componenti inferiori a un terzo della componente maggiore non contribuiscono in maniera significativa all'incertezza composta. Queste componenti possono essere escluse dalla valutazione rigorosa dell'incertezza, in base ad un esame preliminare.

Il contributo di ciascuna fonte può essere quantificato con metodi statistici utilizzando i risultati di esperimenti specifici eseguiti in laboratorio (incertezze di categoria A), o con altri metodi, quali specifiche del produttore, esperienza e/o dati della letteratura scientifica, risultati di esercizi collaborativi, calcoli (incertezze di categoria B). Tutte le incertezze, comunque stimate, devono essere espresse come scarti tipo. Le incertezze di categoria A sono calcolate come scarti tipo da distribuzioni di dati sperimentali; le incertezze di categoria B, comunque ottenute, devono essere trasformate in scarti tipo prima di essere utilizzate. A questo scopo devono essere fatte delle ipotesi sul tipo di distribuzione descritta dal dato originale. Per esempio, se, per un matraccio tarato da 1 litro, il produttore dichiara un intervallo di tolleranza di  $\pm 0,4$  mL, senza altre indicazioni, si può assumere che la distribuzione originale dei dati avesse almeno una distribuzione triangolare e lo scarto tipo ad essa associato può essere stimato, in base a note regole statistiche, dividendo il semiintervallo di tolleranza per la radice quadrata di 3. Altri esempi di questo genere sono riportati nella norma UNI CEI ENV 13005:2000 (9).

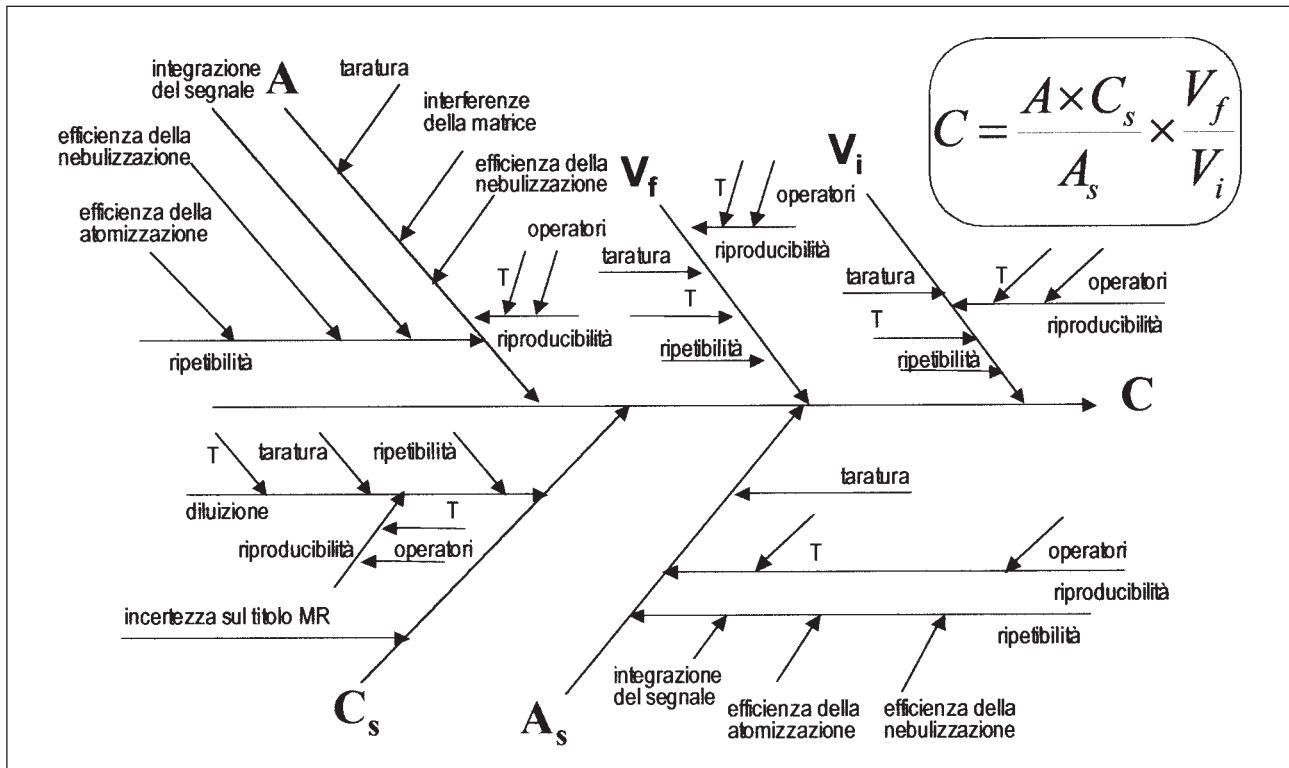


Figura 2. Esempio di diagramma di causa - effetto per una misura mediante spettrometria di assorbimento atomico in fiamma

Le incertezze stimate per ciascuna grandezza di ingresso devono essere combinate in accordo alle relazioni che le lega al misurando secondo la legge di propagazione delle incertezze. Nella maggior parte delle misurazioni in chimica, questo può essere ottenuto attraverso combinazioni aritmetiche semplici dei valori assoluti o relativi delle incertezze delle singole componenti.

Il passo finale consiste nella trasformazione dell'incertezza composta stimata  $u_c(y)$  in incertezza estesa  $U_c(y)$  moltiplicando per un idoneo fattore di copertura, che deve essere sempre dichiarato.

#### Stima dell'incertezza di misura dai dati di prestazione del metodo

Le misurazioni chimiche, e in particolar modo le misurazioni in medicina di laboratorio, vengono eseguite attraverso metodi analitici complessi, per i quali non è sempre possibile stabilire la riferibilità delle singole operazioni attraverso l'applicazione di un modello matematico rigoroso. Tuttavia, proprio in questo settore, secondo quanto previsto dalle norme relative ai requisiti tecnici per i laboratori di prova e i laboratori clinici, è necessario un rapido adeguamento delle procedure correntemente usate dagli operatori per caratterizzare i metodi analitici impiegati e riportare i risultati.

Il problema è stato affrontato da EURACHEM e da CI-TAC (*Co-operation on International Traceability in Analytical Chemistry*) che hanno prodotto una propria guida (13), disponibile sul sito Internet dell'EURACHEM, che illustra come applicare la GUM alle misurazioni in chimica attraverso esempi specifici basati su due approcci diversi, ma equivalenti: a) l'identificazione e quantificazione delle singole fonti di incertezza b) la valutazione globale dell'incer-

tezza di misura stimata da dati di prestazioni del metodo ottenuti nel corso di studi di validazione. In entrambi i procedimenti, è comunque utile predisporre un diagramma di causa-effetto, che ha la funzione di mettere in evidenza le possibili fonti di incertezza e costituisce uno strumento di lavoro per eventuali azioni correttive e di miglioramento.

Una stima rigorosa dell'incertezza di misura secondo il metodo a) può presentare notevoli difficoltà, legate alla complessità dei metodi analitici, in particolar modo per le analisi meno frequenti, quali quelle effettuate dai laboratori clinici specializzati che operano nel settore della medicina ambientale, occupazionale e preventiva, collocati in Italia perlopiù presso gli Istituti di igiene, gli Istituti di medicina occupazionale e ambientale, i Dipartimenti di prevenzione, le Agenzie regionali per la protezione e l'ambiente e gli Enti di ricovero e cura.

Per la maggior parte dei laboratori, la valutazione dell'incertezza di misura dai dati di validazione del metodo rappresenta il metodo più semplice ed immediato. Il modello generale di stima dell'incertezza dai dati ottenuti in studi di validazione comprende: la valutazione cumulativa di tutte le fonti che contribuiscono all'imprecisione attraverso la valutazione della ripetibilità o della precisione intermedia,  $u(r)$ ; la valutazione cumulativa di tutte le fonti che contribuiscono all'inesattezza attraverso la valutazione dell'incertezza sulla stima di un valore atteso  $u(R_m)$ , (attraverso uno o più dei seguenti procedimenti: analisi di materiale di riferimento certificato, recupero di quantità note di analita aggiunte, confronto con metodi di livello metrologico superiore); la valutazione dell'incertezza associata con altre fonti,  $u(x_n)$ , (per es. la taratura degli strumenti utilizzati, l'omogeneità del campione, la variabilità biologica intraindividuale o altro). Lo studio di

validazione deve avere dimostrato che il metodo non è affetto da errori sistematici significativi o è stato integrato con le appropriate correzioni. Le incertezze stimate per ciascuno di questi parametri devono essere combinate secondo la legge della propagazione delle incertezze, ovvero l'incertezza composta relativa sulla grandezza concentrazione,  $u_c(C)/C$  o, con altra notazione,  $\hat{u}_c(C)$ , viene ottenuta come radice quadrata della somma dei quadrati delle singole incertezze relative.

$$u_c(C) = \sqrt{u(r)^2 + u(R_m)^2 + u(x_i)^2 \dots + u(x_n)^2}$$

Condizione indispensabile per l'applicazione di questa metodologia di stima dell'incertezza di misura è che il laboratorio operi in un sistema di qualità efficiente e che tutte le principali fonti di variabilità siano state prese in considerazione nello studio di validazione.

### Interpretazione dei dati

L'incertezza estesa di misura deve essere riportata con non più di due cifre significative; i risultati di misurazione vanno perciò arrotondati in modo da essere coerenti con l'incertezza specificata.

L'interpretazione dei dati accompagnati da incertezza di misura può presentare qualche difficoltà, specialmente quando i risultati analitici debbano essere confrontati con limiti di legge, soglie di intervento o valori di riferimento, il cui superamento richiede azioni correttive.

È stata pubblicata dall'ILAC una linea guida per l'interpretazione del confronto tra dati analitici e specifiche tecniche (2). Quando i dati analitici a disposizione sono accompagnati dalla relativa stima dell'incertezza di misura estesa, con un livello di probabilità del 95%, si possono presentare quattro casi per il superamento o meno di un limite superiore:

- 1) il risultato e la sua incertezza estesa si trovano al di sopra del limite;
- 2) il risultato, ma non la sua incertezza estesa, si trova al di sopra del limite;
- 3) il risultato, ma non la sua incertezza estesa, si trova al di sotto del limite;
- 4) il risultato e la sua incertezza estesa si trovano al di sotto del limite.

L'interpretazione è ovvia per i casi 1) e 4), rispettivamente di superamento e di non superamento del limite. Nei casi 2) e 3) il superamento o meno del limite deve essere interpretato alla luce di considerazioni specifiche che ten-

gono anche conto del livello di probabilità associato con l'incertezza estesa.

### Conclusioni

I concetti di riferibilità e di incertezza di misura sono relativamente nuovi in medicina di laboratorio e sarà perciò necessaria sia una fase di acquisizione teorica sia una fase di graduale applicazione nella pratica quotidiana. L'introduzione di questi concetti nella medicina di laboratorio costituisce un aspetto indispensabile e inderogabile per garantire l'affidabilità e la confrontabilità dei risultati analitici.

### Bibliografia

- 1) Ente Nazionale Italiano di Unificazione (UNI). UNI EN ISO 9000:2000 "Sistemi di gestione per la qualità - Fondamenti e terminologia". Milano, UNI, 2000.
- 2) Ente Nazionale Italiano di Unificazione (UNI). UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2000 "Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura". Milano, UNI, 2000.
- 3) International Organization for Standardization (ISO). "Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence". Ginevra, 2003.
- 4) BIMP, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML. International vocabulary of basic and general terms in metrology, 2a edizione. Ginevra, ISO, 1993.
- 5) Ente Nazionale Italiano di Unificazione (UNI). UNI ISO 3534-1 "Statistica - Vocabolario e simboli. Probabilità e termini statistici generali". Milano, UNI, 2000.
- 6) Ente Nazionale Italiano di Unificazione (UNI). UNI ISO 3534-2 "Statistica - Vocabolario e simboli. Controllo statistico della qualità". Milano, UNI, 2000.
- 7) International Organization for Standardization (ISO). ISO 5725-1 "Accuracy (Trueness and Precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions". Ginevra, ISO, 1994.
- 8) ISO. "Guide 30. Terms and definitions used in connection with reference materials", 2a edizione. ISO, Ginevra, 1992.
- 9) Ente Nazionale Italiano di Unificazione (UNI). UNI CEI ENV 13005 "Guida all'espressione dell'incertezza di misura". Milano, UNI, 2000.
- 10) Ente Nazionale Italiano di Unificazione (UNI). UNI CEI ISO 31-0 "Grandezze ed unità di misura - Principi generali". Milano, UNI, 1996.
- 11) Decreto del Presidente della Repubblica n. 802 del 12 agosto 1982. Attuazione della direttiva (CEE) n. 80/181 relativa alle unità di misura. Suppl. ord. alla G.U. n. 302, 3 novembre 1982.
- 12) Resolutions adopted by the 21st Conference generale des Poids et Mesures, 11-15 Ottobre 1999.
- 13) EURACHEM/CITAC. "EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying uncertainty in analytical measurement". Second Edition. Final Draft. EURACHEM, 2000.
- 14) International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC). ILAC G8:1996 "Guidelines on assessment and reporting of compliance with specifications". www.ilac.org, ILAC, 1996.

**Richiesta estratti:** Dott. C. Minoia - Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale, Fondazione "S. Maugeri", Clinica del Lavoro e della Riabilitazione, IRCCS - Via Ferrata 4, 27100 Pavia, Italy