

Il controllo di qualità dei dati prodotti nelle indagini per la sorveglianza biologica della popolazione contro il rischio dell'inquinamento ambientale da piombo

Gino MORISI, Ferdinando CHIODO, Marina PATRIARCA e Antonio MENDITTO

Laboratorio di Biochimica Clinica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - Le campagne di sorveglianza biologica della popolazione generale contro il rischio di saturnismo (basate sull'analisi della piombemia) condotte in Italia - sia in ottemperanza della direttiva CEE 77/312, sia del DPR 496 del 1982 - hanno avuto sin dall'inizio il carattere di indagini multicentriche. Anche per questo motivo fin dalla prima campagna, condotta nel 1979, è stata prevista l'adozione di adeguate procedure di controllo della qualità dei dati. Fondamentalmente esse sono consistite nell'esame di campioni per il controllo di qualità interno, nella partecipazione a programmi per il controllo di qualità esterno e nell'analisi incrociata di una parte (circa il 10%) dei campioni di sangue raccolti durante le campagne sia da parte dei vari centri periferici, sia di un laboratorio designato come di riferimento. In questo lavoro vengono presentate in dettaglio le caratteristiche delle varie procedure di controllo di qualità nonché la qualità dei risultati ottenuti.

Parole chiave: piombo nel sangue, sorveglianza biologica, controllo di qualità, valutazione esterna di qualità.

Summary (*Quality control in biological monitoring of the general population against the risk of lead intoxication*). - The biological surveys of the general population against the risk of lead intoxication carried out in Italy - in accomplishment both of the EEC directive EEC 77/312 and the Presidential Decree 496/1982 - have been always conceived as multicentric activities. Therefore, starting from the first campaign carried out in 1979, strict quality control procedures have been adopted. In brief, each participant laboratory used internal quality control samples and took part in external quality assessment exercises. In addition, ten percent of the blood samples collected during the campaign were analyzed as blind duplicate by both participating laboratories and a reference laboratory. In this paper the quality control procedures adopted will be presented and discussed in detail together with the quality of results obtained in each campaign.

Key words: blood lead, biological surveillance, quality control, external quality assessment programme.

Introduzione

Nella seconda metà degli anni settanta, l'esposizione all'inquinamento ambientale da Pb nei paesi industrializzati si prospettava come problema di primaria importanza per la salute dell'uomo. La Commissione delle Comunità Europee (CCE) al fine di valutarne l'esatta dimensione e con l'intento di arginarne il pericolo, adottò una direttiva (direttiva 77/312/CEE sulla sorveglianza biologica della popolazione contro il rischio da saturnismo [1]) che di fatto proponeva la realizzazione di una indagine epidemiologica multicentrica che interessava tutti i paesi membri della Comunità. Come variabile dipendente veniva scelta la concentrazione ematica del Pb misurata in determinati gruppi di popolazioni. Per assicurare l'affidabilità del dato analitico e rendere possibile il confronto dei risultati dei vari laboratori, la Commissione stabilì opportuni provvedi-

menti indicati in diversi articoli della direttiva stessa. Infatti, nell'art. 7 si riportava "Per la determinazione della piombemia: gli stati membri comunicano alla Commissione i nomi dei laboratori che partecipano al programma di sorveglianza biologica; la Commissione, in collegamento con gli stati membri, organizza programmi di mutuo confronto cui partecipano detti laboratori; la Commissione in collegamento con gli stati membri esamina i risultati di tali programmi allo scopo di migliorare la comparabilità dei metodi di analisi". Nell'art. 10 veniva stabilito che: "La Commissione riunisce almeno due volte l'anno i rappresentanti dei governi degli stati membri, segnatamente al fine di: assicurare l'esecuzione armonizzata della sorveglianza biologica...; controllare la comparabilità delle analisi effettuate; esaminare le informazioni e facilitare lo scambio di informazione tra gli stati membri sui risultati ottenuti...".

I responsabili tecnici, nominati dalla Commissione, decisero di adottare uno schema di controllo di qualità (CQ), articolato su tre livelli, particolarmente diretto al controllo della accuratezza dei dati prodotti dai laboratori partecipanti all'indagine comunitaria.

Il primo livello (controllo di qualità interno, CQI) consisteva nell'analizzare - per ogni serie analitica relativa ai campioni di sangue prelevati durante la campagna dai soggetti arruolati (campioni reali) - campioni di controllo comuni a titolo noto, rispettivamente di concentrazione bassa e medio-alta; il secondo livello (controllo di qualità esterno, CQE) era basato su analisi di campioni - preparati e inviati da una organizzazione designata dalla Comunità ai laboratori partecipanti - durante il periodo preliminare e lo svolgimento della campagna di screening; il terzo livello consisteva nell'analisi incrociata di campioni reali (circa il 10% dei campioni esaminati durante la campagna di screening), tra ogni singolo laboratorio (centro operativo) e il laboratorio di riferimento (CR) comunitario.

Il laboratorio designato per la preparazione dei campioni di controllo e l'organizzazione dello schema di valutazione esterna di qualità fu il Regional Toxicology Laboratory al Dudley Road Hospital di Birmingham (UK). Come CR comunitario fu scelto il laboratorio del Joint Research Centre di Ispra.

Schema per la verifica dell'accettabilità dei risultati: direttiva 77/312/CEE

I campioni di CQI venivano utilizzati per l'allestimento di carte di controllo idonee per una verifica preventiva, nell'intervallo di concentrazioni di interesse di Pb ematico (PbE), della qualità dei dati di laboratorio. Tali campioni erano costituiti da sangue bovino e appartenevano a due preparazioni a concentrazione di piombo bassa e medio-alta, con valore bersaglio, rispettivamente, 7 e 37 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ [2].

L'accettabilità dei risultati globali di un laboratorio - e quindi l'abilitazione del laboratorio stesso ad eseguire le misure per la determinazione del PbE nell'ambito delle campagne di sorveglianza - veniva determinata sulla base della valutazione dei risultati ottenuti dal laboratorio nell'analisi dei campioni di CQE secondo uno schema indicato di seguito.

In un sistema di assi cartesiani con $x =$ concentrazione mediana di tutti i laboratori per un dato campione (concentrazione mediana) e $y =$ scostamento relativo del risultato dell'analisi per un dato campione (scostamento relativo) venivano individuati tre spazi: 1) spazio A, delimitato dalle rette a e b ; la retta a , passante per i punti con scostamento relativo (y) di $+1,5$ e $+2,5$ $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ e concentrazioni mediane (x) rispetti-

vamente di 10 e 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$; la retta b , passante per i punti con scostamento relativo (y) di $-1,5$ e $-2,5$ $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ e concentrazioni mediane (x) rispettivamente di 10 e 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$; 2) spazio B: delimitato dalle rette a e c (retta c passante per i punti con valori di x pari a $+3$ e $+5$ $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ e rispettivi valori di y pari a 10 e 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$); 3) spazio C: delimitato dalle rette b e d (retta d passante per i punti con valori di x pari a -3 e -5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ e rispettivi valori di y pari a 10 e 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) (Fig. 1).

Un laboratorio otteneva l'abilitazione ad eseguire le analisi della PbE nell'ambito delle indagini (centro operativo) previste dalla direttiva quando: il 66% dei risultati del CQE si trovava nello spazio A + B + C; il rapporto tra la somma dei risultati che cadevano nello spazio B e C e la somma dei dati aberranti con distorsione positiva o negativa (rispettivamente spazio D ed E) era compreso tra 0,5 e 2.

I campioni utilizzati per il CQE nel corso delle indagini per l'attuazione della direttiva provenivano da 15 preparazioni a concentrazioni di Pb comprese fra 9 e 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, ottenute a partire da una base di sangue umano (4 preparazioni) e da una base di sangue bovino (11 preparazioni) attraverso l'aggiunta di appropriate quantità di soluzione a titolo noto di nitrato di piombo [2].

Per la valutazione dei dati ottenuti dall'analisi incrociata di campioni reali tra i singoli centri operativi dei paesi europei e il CR di Ispra fu deciso di utilizzare un sistema di valutazione semplificato basato sulla valutazione della frequenza di risultati con scostamento superiore ad un limite prestabilito: ad esempio la percentuale dei risultati con uno scostamento rispetto al valore trovato dal laboratorio di Ispra maggiore di 4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ [2-4].

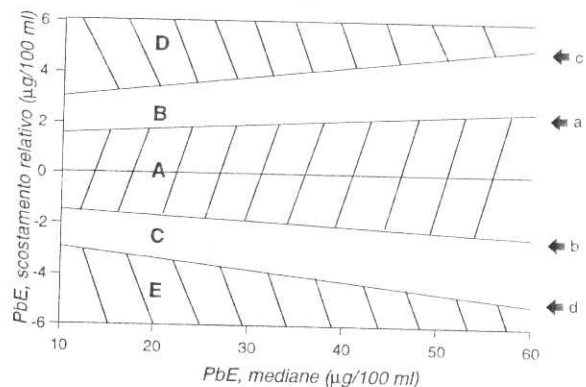


Fig. 1. - Criterio grafico per la valutazione delle prestazioni di un laboratorio nel controllo di qualità interlaboratoriale stabilito dalla Commissione delle Comunità Europee per le indagini della direttiva 77/312/CEE. Il 66% dei risultati deve cadere nelle zone A + B + C. Il rapporto fra il numero dei risultati rispettivamente nelle zone B e C e rispettivamente nelle zone D ed E deve essere compreso nell'intervallo 0,5 - 2.

**Risultati dei laboratori italiani partecipanti
alle indagini previste dalla direttiva 77/312/CEE:
anni 1979 e 1981**

Nelle Tab. 1-5 sono riportati alcuni risultati riassuntivi che possono dare buone indicazioni sulla qualità dei dati analitici prodotti dai centri operativi italiani che presero parte alle due campagne di attuazione della direttiva europea [2, 5]. Alla prima campagna di screening parteciparono 4 laboratori: l'Istituto di Igiene dell'Università di Modena, il Laboratorio Provinciale di Igiene e Profilassi (LPIP) di Milano, il LPIP di Roma e il LPIP di Venezia. Uno dei centri operativi eseguì le analisi con due metodi diversi: spettrofotometria ad assorbimento atomico (AAS), con Delves cup ed AAS con fornetto di grafite. Gli altri centri operativi eseguirono le analisi mediante AAS con fornetto di grafite. Ad ogni laboratorio, al fine di garantire l'anonimato, era assegnato un codice.

La Tab. 1 riporta la valutazione dei risultati ottenuti nell'analisi di campioni di CQE durante il periodo di svolgimento della prima campagna di screening nel

1979. La valutazione è stata effettuata sia secondo la procedura europea (schema CCE), basata sugli scostamenti, che in base all'analisi della regressione.

Nella Tab. 2 è riportato il confronto dei risultati ottenuti dai laboratori italiani e dal CR europeo di Ispra nell'analisi incrociata di campioni reali. Come si osserva, i coefficienti di correlazione sono generalmente buoni. L'esame delle pendenze mostra un buon accordo delle coppie dei dati.

Come si evince dalla Tab. 3, i risultati cumulativi italiani, relativi alla percentuale di risultati con scostamento > 4 µg/100 ml, appaiono confrontabili con i risultati cumulativi degli altri paesi europei.

Al CQE europeo in occasione della seconda campagna di screening parteciparono, oltre quelli della prima campagna europea, alcuni altri centri operativi italiani tra i quali il laboratorio di un gruppo di lavoro dell'ISS con la funzione di CR nazionale. Nelle Tab. 4 e 5 sono presentate le valutazioni relative ai dati forniti dai centri operativi italiani nella seconda campagna della direttiva confrontati rispettivamente con i dati globali europei per quanto riguarda l'analisi dei cam-

Tabella 1. - Valutazione dei risultati ottenuti per le concentrazioni di Pb (µg/100 ml) dai centri operativi italiani durante la prima campagna prevista dalla direttiva europea 77/312 nell'ambito del controllo di qualità esterno

Cod. lab.	n. risultati	Schema CCE			Analisi della regressione			
		A + B + C (%)	B/D	C/E	Intercetta (µg/100 ml)	ES(a)	Pendenza	r
20	22	68	1/2	6/1	2,0	4,6	0,94	0,96
30	25	61	1/4	3/6	0,4	4,9	0,94	0,95
31	27	100	4/3	0/0	0,6	1,5	0,98	0,99
41 a	27	96	3/8	1/1	0,3	2,1	0,97	0,99
41 b	27	92,5	2/8	0/1	0,3	2,3	0,97	0,99

La valutazione è stata effettuata secondo lo schema di verifica della Commissione delle Comunità Europee (schema CCE) e mediante l'analisi della regressione. Errore standard della stima dell'intercetta: ES(a)

Tabella 2. - Prima indagine europea. Confronto tra i risultati della PbE (µg/100 ml) dei singoli centri operativi italiani (y) e del centro di riferimento di Ispra (x) ottenuti nell'analisi incrociata di campioni reali. Alcuni centri hanno effettuato analisi su campioni provenienti da diverse città

Cod. lab.	n. campioni	Intercetta (µg/100 ml)	ES(a)	Pendenza	r	% dei risultati con scostamento > 4 µg/100 ml
41	80	0,7	2,8	1,05	0,95	4,5
41	22	3,0	2,5	0,77	0,86	13
30	49	-0,1	1,8	1,01	0,98	0
30	22	-3,0	1,9	1,11	0,98	10
31	24	-6,3	1,5	1,30	0,92	12
20	49	2,2	2,4	0,99	0,91	0
41	23	2,1	2,5	1,01	0,96	0

Valutazione effettuata con l'analisi della regressione e col calcolo della percentuale degli scostamenti > 4 µg/100 ml. La regressione cumulativa era $y = 0,6 + 10,3x$: Errore standard della stima dell'intercetta: ES(a) = 2,7; r = 0,94

pioni del CQE e con i dati del laboratorio di Ispra per quanto riguarda le analisi incrociate effettuate sui campioni reali. Il laboratorio contraddistinto dal codice 58 (Tab. 4), i cui risultati del CQE erano al di fuori dei limiti di accettabilità, non prese parte alle attività analitiche dell'indagine.

Un'idea complessiva della concordanza dei risultati italiani con le corrispondenti mediane europee, relativamente a tutte le analisi eseguite sui campioni di con-

trollo durante la seconda indagine è indicata dalla regressione: $y = 1,4 + 0,97x$, $r = 0,96$ ES(a) = 4,3, mentre la concordanza fra i dati dei laboratori italiani e quelli del CR di Ispra può essere evidenziata dalla regressione: $y = 0,3 + 1,05x$, $r = 0,94$; ES(a) = 3,4. Si può affermare che in complesso, i risultati indicano un buon accordo tra i dati italiani e quelli europei.

Garanzia di qualità dei dati ottenuti nel corso dell'attuazione del DPR 496/82

Nel 1982 fu emanato un Decreto del Presidente della Repubblica (DPR 496/82) [6] che recepiva in ritardo la direttiva 312/77/CEE.

Lo schema di controllo di qualità applicato nel corso delle due campagne di screening previste dal DPR 496 appare come sviluppo dello schema di controllo adottato dalla CCE per la direttiva 312/77, opportunamente integrato dall'utilizzo dell'analisi della regressione. Questo schema può essere proposto come modello di controllo di assicurazione di qualità interlaboratoriale per l'attuazione di indagini multicentriche di interesse sanitario in genere [7-22].

Tabella 3. - Prima indagine europea. Percentuale dei risultati della PbE ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) con scostamento $> 4 \mu\text{g}/100\text{ ml}$ nelle analisi incrociate: confronto fra le medie dei risultati di tutti i laboratori di ciascun paese europeo, per un totale complessivo di 1300 campioni esaminati

Paesi membri	% dei risultati con scostamento $> 4 \mu\text{g}/100\text{ ml}$
Belgio	12
Germania	11
Irlanda	9
Italia	6
Lussemburgo	0
Regno Unito	3

Tabella 4. - Seconda indagine europea. Valutazione esterna di qualità secondo lo schema CCE e mediante analisi della regressione fra i risultati della PbE ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) dei laboratori italiani e le corrispondenti mediane europee

Cod. lab.	n. campioni	Schema CCE			Analisi della regressione			
		A+B+C (%)	B/D	C/E	Intercetta ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	ES(a)	Pendenza	r
20	40	72,5	6/4	8/3	3,6	4,1	0,91	0,96
09	32	62	3/6	2/10	-0,3	4,5	0,96	0,96
31	28	78,6	0/1	3/3	-2,2	2,2	1,08	0,99
41 a	31	90,5	3/0	3/0	0,4	2,5	1,02	0,99
41 b	31	87,5	1/1	4/0	0,4	2,7	1,01	0,98
08	32	59	4/3	11/2	0,6	4,9	1,08	0,96
58	32	53	4/3	7/7	3,9	4,4	0,86	0,95
30	28	75	4/5	4/3	3,1	2,5	0,87	0,98

Errore standard della stima dell'intercetta: ES(a).

Tabella 5. - Seconda indagine europea. Analisi della regressione tra i valori della PbE ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$) ottenuti per i campioni reali da ciascun laboratorio italiano e i corrispondenti valori ottenuti dal Centro Comunitario di Ispra

Cod. lab.	n. campioni	Intercetta ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	ES(a)	Pendenza	r
30	71	-2,9	3,3	1,19	0,89
31	31	-4,6	2,8	1,30	0,96
20	39	5,6	3,1	0,79	0,82
09	60	2,1	3,7	1,08	0,90
09	7	1,8	1,0	1,05	0,98
08	77	-3,0	2,4	1,13	0,98
41	34	1,1	3,2	0,98	0,90

Errore standard della stima dell'intercetta: ES(a).

A partire da questa indagine, le concentrazioni del PbE saranno espresse in $\mu\text{g/l}$, come raccomandato dal sistema internazionale di misure.

I campioni di controllo venivano preparati a partire dal sangue bovino con aggiunte di quantità note di Pb. Per il CQI vennero preparati due lotti di campioni, rispettivamente a circa 100 e 350 $\mu\text{g/l}$ di Pb. Per il CQE vennero utilizzate 15 preparazioni in cui al sangue bovino base erano state fatte aggiunte di Pb comprese fra circa 50 e 800 $\mu\text{g/l}$. Al programma di CQ per la determinazione del Pb, avviato all'inizio del 1984, alla fine del primo anno di attività partecipavano circa 40 laboratori fra cui i centri operativi che avrebbero preso parte alle indagini previste dal DPR 496/82. Ai laboratori partecipanti venivano distribuiti all'incirca una volta l'anno due gruppi campioni a titolo noto per il CQI e quattro volte l'anno, un gruppo di 8 campioni a titolo non noto, distribuiti con procedimento randomizzato, da analizzare per il CQE.

I risultati di ciascun laboratorio venivano confrontati con la mediana dei risultati di tutti i laboratori e lo scostamento valutato in base a prefissati criteri di accettabilità. I limiti di accettabilità erano fissati, per concentrazioni di 100 $\mu\text{g/l}$ e 800 $\mu\text{g/l}$ rispettivamente a $\pm 20 \mu\text{g/l}$ e $\pm 80 \mu\text{g/l}$ (Fig. 2). La prestazione di un laboratorio viene considerata "buona" quando almeno l'80% dei risultati cadevano nello spazio di accettabilità (Fig. 2). L'analisi della regressione tra i risultati di ciascun laboratorio e la mediana di tutti i laboratori permetteva una valutazione più completa dell'accordo analitico fra i risultati dei singoli laboratori partecipanti alle indagini multicentriche.

Inoltre nell'ambito delle campagne di sorveglianza, per valutare il comportamento analitico di ciascun centro operativo sui campioni reali, veniva effettuata una analisi della regressione dei risultati ottenuti nelle analisi sui duplicati su circa il 10% dei campioni analizzati sia dal singolo centro operativo che dal CR presso l'ISS.

Risultati relativi alla prima indagine italiana: DPR 496/82

Alle attività di screening della prima indagine organizzata negli anni 1985-86 per l'attuazione del DPR 496/82 parteciparono 12 centri operativi (Tab. 6) che erano compresi nel gruppo di oltre 60 laboratori che partecipavano al programma di CQ interlaboratoriale per la determinazione del piombo e del cadmio nel sangue. La maggior parte dei centri operativi erano Presidi Multizonali di Igiene e Prevenzioni (PMIP). Il laboratorio dell'ISS aveva la funzione di centro di riferimento nazionale.

La Tab. 7 illustra il comportamento dei centri operativi e del CR durante le fasi del programma di CQ precedenti e contemporanee alla campagna di sorveglianza [9, 10].

Nella Tab. 8 sono riassunti gli elementi per una valutazione di insieme della qualità delle prestazioni analitiche dei centri operativi nel corso delle determinazio-

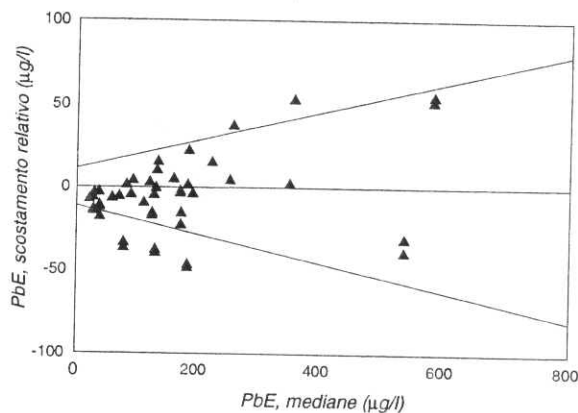


Fig. 2. - Criterio grafico per la valutazione delle prestazioni di un laboratorio nel controllo di qualità interlaboratoriale stabilito per il Progetto METOS. L'80% dei risultati doveva cadere nello spazio delimitato dalle due rette tracciate in base ai prefissati limiti di accettabilità; per concentrazioni di 100 $\mu\text{g/l}$ errore massimo accettabile = $\pm 20 \mu\text{g/l}$; per concentrazioni di 800 $\mu\text{g/l}$ errore massimo accettabile = $\pm 80 \mu\text{g/l}$.

Tabella 6. - Prima indagine italiana (DPR 496/82) 1985-86. Elenco dei centri operativi

Venezia	Presidio Multizonale di Prevenzione di Venezia
Scandiano	Laboratorio Tossicologico, USL Scandiano e Sassuolo
Milano	Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione di Milano
Bologna	Presidio Multizonale di Prevenzione di Bologna
Ravenna	Presidio Multizonale di Prevenzione di Ravenna
Pavia	Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione di Pavia
Perugia	Laboratorio Istituto di Medicina del Lavoro, Perugia
Cagliari	Laboratorio di Igiene e Profilassi di Cagliari
Roma	Laboratorio di Igiene e Profilassi di Roma
Verona	Presidio Multizonale di Prevenzione di Verona
Trieste	Laboratorio di Tossicologia di Trieste
Bolzano	Laboratorio Chimico Provinciale di Bolzano

Tabella 7. - Prima indagine italiana (DPR 496/82). Parametri delle regressioni tra le concentrazioni di PbE ($\mu\text{g/l}$) misurate nei campioni di controllo dai centri operativi e del CR e le mediane dei risultati di tutti i laboratori partecipanti nel corso del controllo di qualità interlaboratoriale

Cod. lab.	n. campioni	Pendenza	Intercetta ($\mu\text{g/l}$)	ES(a)	R ²
CR	86	1,0877	-19,14	10,12	0,9909
1	87	0,9863	3,68	23,50	0,9496
2	77	0,9727	6,66	20,35	0,9626
3	44	1,1017	-20,54	42,60	0,8551
4	78	1,0112	-3,77	14,57	0,9729
5	90	0,9852	7,18	23,49	0,9389
6	56	1,0926	8,83	35,40	0,8986
7	66	0,9592	8,42	16,52	0,9674
8	92	1,0256	7,45	12,23	0,9866
9	84	0,9682	6,74	26,86	0,9252
10	54	1,0399	0,09	17,43	0,9711
11	58	0,9567	12,03	16,01	0,9726
12	48	1,0410	-2,87	40,87	0,9760

Errore standard della stima dell'intercetta: ES(a).

Tabella 8. - Prima indagine italiana (DPR 496/82): dosaggio della PbE ($\mu\text{g/l}$). Intervallo di concentrazione e medie ottenute da ciascun laboratorio e dal laboratorio di riferimento

Cod. lab.	Tipo di campioni	n. di campioni	Intervallo di concentrazione ($\mu\text{g/l}$)	Media ($\mu\text{g/l}$)		a ($\mu\text{g/l}$)	ES(a) ($\mu\text{g/l}$)	b	R ²	% ris > 40 $\mu\text{g/l}$
				Laboratori	ISS					
1	H	97	50 - 400	113	98	24,44	18,23	0,9168	0,8674	8,0
	C	64	20 - 350			30,06	29,07	0,8477	0,9190	
2	H	21	90 - 500	180	165	20,27	18,94	0,9675	0,9612	9,5
	C	46	20 - 350			30,95	20,10	0,8656	0,9583	
3	H	130	50 - 330	119	123	15,24	17,48	0,8440	0,8565	5,0
	C	28	50 - 350			-5,85	30,58	1,0574	0,9276	
4	H	68	50 - 300	140	120	18,71	25,36	1,0141	0,8165	23,5
	C	48	20 - 350			17,07	16,61	0,9338	0,9640	
5	H	49	50 - 350	127	116	17,33	24,99	0,9495	0,8815	4,1
	C	52	20 - 350			24,24	24,83	0,9201	0,9394	
6	H	38	50 - 250	141	132	32,50	23,02	0,8221	0,7482	7,9
	C	38	20 - 370			12,92	38,16	0,9882	0,8871	
7	H	150	50 - 200	93	78	22,76	16,27	0,8995	0,7110	7,5
	C	46	20 - 370			15,37	12,73	0,9160	0,9850	
8	H	32	50 - 300	165	157	15,28	17,34	0,9413	0,9170	6,0
	C	66	20 - 350			11,44	14,53	0,9446	0,9824	
9	H	263	50 - 500	126	116	15,49	26,34	0,9559	0,7974	13,0
	C	54	20 - 370			24,57	27,18	0,9146	0,9294	
10	H	97	50 - 350	101	99	4,22	10,49	0,9856	0,9608	2,1
	C	37	20 - 320			7,95	11,13	0,9864	0,9892	
11	H	106	50 - 350	120	103	2,95	11,65	1,1319	0,9545	5,7
	C	34	20 - 350			26,09	17,15	0,9305	0,9683	

Parametri della regressione (a: intercetta; ES(a): errore standard della stima di a; b: pendenza; R²: coefficiente di determinazione) ottenuti comparando i risultati ottenuti da ciascun centro operativo (y) e dal CR presso l'ISS (x) analizzando i medesimi campioni di controllo (C) e reali (H). Viene riportata la percentuale di risultati con scostamento > di 40 $\mu\text{g/l}$ (% ris).

ni delle PbE dei soggetti arruolati in questa prima campagna italiana. Vengono indicati i parametri delle regressioni tra i dati ottenuti da ciascun laboratorio e quelli ottenuti dal CR analizzando gli stessi campioni del programma di CQE e gli stessi campioni reali. Per quanto riguarda il gruppo di campioni reali analizzati, nella tabella vengono indicati, per ciascun centro opera-

tivo e corrispondentemente per il CR, i valori medi nonché le percentuali degli scostamenti maggiori di 40 $\mu\text{g/l}$ (procedura di valutazione analoga a quella adottata nelle due campagne della direttiva comunitaria).

Da una prima considerazione sui parametri delle regressioni riportati nella Tab. 8, veniva confermato un giudizio di buona comparabilità sui livelli di prestazio-

ni laboratoriali dei centri operativi, giudizio che poteva essere esteso alla qualità di tutte le misure sui campioni reali effettuate in questa prima indagine italiana. Tuttavia un dubbio sull'accuratezza di queste misure, nel senso di una distorsione di segno positivo, poteva sorgere da un esame più approfondito dei risultati del CQE riportati nella Tab. 7. Infatti, questa tabella, che riporta i parametri della regressione ricavata confrontando i risultati ottenuti da ciascun centro operativo e del CR con le mediane di tutti i laboratori partecipanti al controllo di qualità, mette in evidenza l'esistenza di una differenza costante fra i valori del CR e la mediana dei valori di tutti i laboratori (intercetta = -19,4 µg/l). Fu poi dimostrato, attraverso un appropriato confronto di misure fra il CR italiano e il CR di Ispra e con la verifica delle misure del CR italiano in un confronto con misure effettuate con metodo assoluto *isotopic dilution mass spectrometry* (IDMS), che questa differenza era da attribuire esclusivamente alla tendenza della maggior parte dei laboratori partecipanti al CQ a sovrastimare. Ad analoga sovrastima, quindi, potevano essere attribuite anche le differenze fra le medie dei risultati ottenuti dal CR italiano e dai diversi centri operativi nell'analisi incrociata di campioni reali (Tab. 8).

Risultati relativi alla seconda campagna prevista dal DPR 496/82

Alle operazioni effettuate nella seconda indagine prevista dal DPR 496/82, condotta negli anni 1992-94, hanno partecipato 15 centri operativi, elencati nella Tab. 9, oltre al laboratorio dell'ISS con la funzione di CR nazionale [11-13]. Anche in questa occasione furono predisposte le opportune misure per assicurare la qualità del dato analitico nella misurazione del PbE in modo analogo a quanto avvenuto nella precedente campagna

1985-86. Inoltre era stata fatta viva raccomandazione a tutti i laboratori partecipanti al CQ, e in particolare ai centri operativi, di avvalersi dell'uso di campioni di riferimento possibilmente a titolo certificato per la messa a punto dei metodi di misura. I dati relativi al controllo incrociato su campioni reali risultarono essere disponibili solamente per 12 dei 15 centri operativi. Le analisi statistiche, relative alla seconda campagna italiana, riportate nel presente lavoro riguardano solamente questi 12 laboratori.

Nella Tab. 10 sono riportati i parametri delle regressioni ottenuti confrontando i risultati dei singoli centri operativi sui campioni di CQE con le mediane di tutti i laboratori (circa 90 laboratori). I coefficienti di determinazione molto vicini all'unità e le intercette prossime allo zero evidenziano un netto miglioramento delle prestazioni dei laboratori in questa campagna rispetto a quelle della campagna precedente.

Nella Tab. 11 vengono indicati per ciascun centro operativo i parametri delle regressioni risultanti dal confronto dei dati di ciascun centro operativo con i dati del CR analizzando gli stessi campioni del programma di CQE e campioni reali. Per quanto riguarda il gruppo di campioni reali analizzati, nella tabella vengono inoltre indicati i valori medi ottenuti da ciascun centro operativo e corrispondentemente dal CR, nonché le percentuali degli scostamenti maggiori di 40 µg/l (procedura di valutazione europea). Le pendenze calcolate per i campioni di controllo e per i campioni reali non risultano significativamente diverse tra loro. Le differenze fra le coppie di intercette non mostrano tendenze sistematiche. Le differenze tra i coefficienti di determinazione appaiono piuttosto piccole, tanto da poter confermare che i risultati di un appropriato schema di assicurazione di qualità servono a monitorare l'effettiva affidabilità delle prestazioni dei laboratori nella determinazione del piombo in campioni biologici.

Tabella 9. - Seconda indagine italiana (1992-94, DPR 496/82). Elenco dei centri operativi

Città	Laboratorio
Venezia	Presidio Multizonale di Prevenzione USL 12 Terraferma Veneziana
Torino	Laboratorio Sanità Pubblica
Torino	Servizio di Tossicologia ed Epidemiologia Industriale Dipartimento Ortopedia e Medicina del Lavoro
Vercelli	Laboratorio Sanità Pubblica. Reparto Chimico
Alessandria	Laboratorio Analisi, Ospedale Civile
Asti	Laboratorio Sanità Pubblica USL 38
La Spezia	Laboratorio Medico-Biotossicologico. Azienda USL 5 Spezzino
Firenze	Unità Operativa Tossicologia Industriale, USL 10A
Lucca	Unità Operativa Biochimica Clinica e Tossicologica
Piombino	Servizio Multizonale di Prevenzione
Livorno	ARPAT ^(a) Sezione Biotossicologica
Pisa	Servizio Multizonale di Prevenzione
Pistoia	Servizio Multizonale di Prevenzione
Arezzo	ARPAT ^(a) Dipartimento Provinciale Arezzo
Perugia	Istituto di Medicina del Lavoro, Università di Perugia

(a) ARPAT: Azienda Regionale Prevenzione e Ambiente della Toscana.

Tabella 10. - Seconda indagine italiana (1992-94, DPR 496/82). Parametri delle regressioni ottenute comparando i risultati delle concentrazioni di PbE ($\mu\text{g/l}$) forniti da ciascuno dei 12 laboratori e dal CR su campioni di controllo e le corrispondenti mediane (x)

Cod. lab.	n. di campioni	Intercetta $\mu\text{g/l}$	ES(a) $\mu\text{g/l}$	Pendenza	R ²
1	64	8,51	18,62	1,0185	0,9851
2	64	-2,86	24,84	1,0054	0,9691
3	63	-7,84	28,37	1,0028	0,9413
4	63	5,84	28,62	0,8896	0,9644
5	62	-13,07	36,8	1,0265	0,9473
6	64	-0,58	9,61	1,0369	0,9968
7	58	2,57	22,67	1,0716	0,9781
8	62	-4,36	26,9	1,1281	0,9762
9	56	14,26	28,53	0,9039	0,9632
10	64	-12,38	19,27	1,0577	0,9826
11	64	-2,01	15,71	1,0120	0,9898
12	40	12,19	11,48	0,8796	0,9844
CR	64	-4,94	10,19	0,9948	0,9948

Tabella 11. - Seconda indagine italiana (DPR 496/82): dosaggio della PbE ($\mu\text{g/l}$). Intervallo di concentrazione e medie ottenute da ciascun laboratorio e dal laboratorio di riferimento

Cod. lab.	Tipi di campioni	n. di campioni	Media lab.	Media CR	Intervallo	Intercetta	ES(a)	Pendenza	R ²	% ris > 40 $\mu\text{g/l}$
1	H	35	70,5	67,7	23 - 203	12,14	11,09	0,86	0,8907	0,0
	C	52			17 - 380	19,04	17,17	0,97	0,9607	
2	H	262	69,7	54,5	22 - 250	12,41	16,45	1,05	0,6703	4,6
	C	57			17 - 380	4,98	17,17	0,98	0,9665	
3	H	78	53,6	53,8	21 - 188	12,89	12,47	0,76	0,6563	0,0
	C	51			17 - 240	3,64	29,08	0,92	0,8002	
4	H	29	54,1	50,4	24 - 98	7,57	7,40	0,92	0,8220	0,0
	C	45			17 - 204	10,74	13,79	0,86	0,9296	
5	H	37	87,8	103,1	33 - 477	16,8	15,99	0,98	0,9535	5,4
	C	54			17 - 506	0,83	19,7	0,96	0,9626	
6	H	55	81,0	70,9	30 - 258	3,37	9,09	1,09	0,9576	7,0
	C	51			17 - 380	1,47	11,75	1,06	0,9849	
7	H	50	86,2	77,1	31 - 164	5,31	18,64	1,05	0,7266	6,0
	C	41			26 - 240	7,32	19,78	1,06	0,9160	
8	H	28	68,1	70,2	30 - 190	-1,84	18,22	1,00	0,8041	7,1
	C	48			18 - 240	3,44	28,13	1,10	0,8641	
9	H	11	107,6	114,1	50 - 158	-9,89	16,16	1,15	0,8596	0,0
	C	42			18 - 240	20,3	29,33	0,91	0,8071	
10	H	92	100,6	106,4	30 - 277	-7,03	8,48	-1,13	0,9781	2,2
	C	57			17 - 380	-11,03	18,58	-1,10	0,9681	
11	H	50	87,3	89,3	22 - 296	0,19	10,11	1,02	0,9682	4,0
	C	55			17 - 380	4,04	17,96	1,00	0,9772	
12	H	35	70,2	65,8	23 - 203	11,79	10,88	0,86	0,8949	14,1
	C	59			17 - 380	11,29	14,73	0,91	0,9748	

Parametri della regressione (a: intercetta; ES(a): errore standard della stima di a; b: pendenza; R²: coefficiente di determinazione) ottenuti comparando i risultati ottenuti da ciascun centro operativo (y) e dal CR (x) analizzando i medesimi campioni di controllo (C) e reali (H). Viene riportata la percentuale di risultati con scostamento > di 40 $\mu\text{g/l}$ (% ris).

Conclusioni

Un programma di CQ interlaboratoriale ha i seguenti obiettivi: a) portare i laboratori che vi partecipano, con lo svolgimento di appropriati esercizi su campioni di controllo, al miglioramento continuo delle loro prestazioni; b) valutare l'affidabilità delle prestazioni ottenute nella pratica quotidiana, attraverso l'analisi dei risultati ottenuti nei predetti esercizi.

Per raggiungere queste finalità, occorre una applicazione generalizzata di valide procedure di CQ in esercizi che coinvolgano la partecipazione di un numero sufficientemente alto di laboratori per un tempo sufficientemente lungo e la disponibilità di adeguati materiali di controllo.

Lo schema di CQ proposto dalla Commissione delle Comunità Europee, il cui scopo era quello di convalidare i dati dell'indagine sulla sorveglianza biologica per il

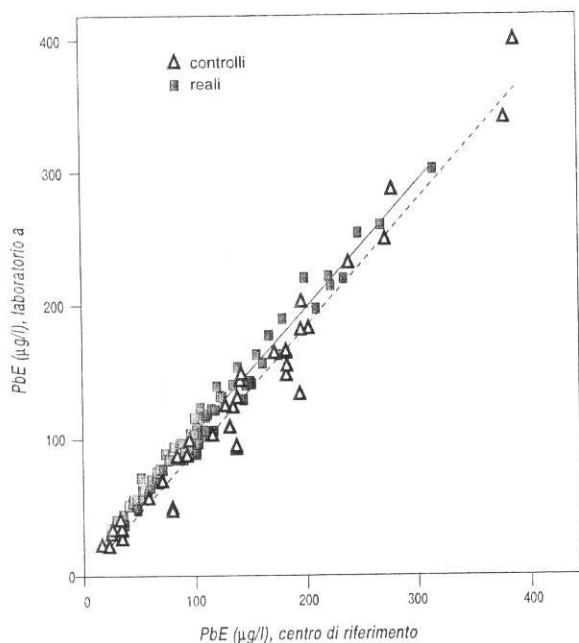


Fig. 3. - Tipica rappresentazione grafica dei risultati ottenuti da un centro operativo, confrontati con i risultati ottenuti sugli stessi campioni (reali e di controllo) dal centro di riferimento nella seconda indagine italiana condotta in attuazione al DPR 496/82.

Pb, forniva, in relazione ai tempi in cui veniva attuato, requisiti di sicurezza appropriati per lo sviluppo di un programma interlaboratorio che consentiva il monitoraggio delle prestazioni di un laboratorio paragonandolo al comportamento generale di tutti i laboratori partecipanti, permettendo di rapportare la globalità dei risultati ottenuti ad un laboratorio di riferimento. L'esame dei risultati ottenuti nel CQ dai laboratori italiani mostrava come le indagini per l'attuazione della direttiva comunitaria potevano contare su fondate garanzie di affidabilità, anche se la non disponibilità per quell'epoca di materiali di riferimento certificati per il PbE, non permetteva di escludere la presenza di errori sistematici, anche di consistenza non trascurabile per le basse concentrazioni.

Lo schema di CQ messo in atto nell'ambito dell'attuazione della direttiva comunitaria è stato poi preso come modello per lo sviluppo di un programma di controllo di assicurazione di qualità italiano per la determinazione dei metalli tossici nei liquidi biologici (Progetto METOS) o per lo sviluppo di indagini multicentriche di interesse sanitario [14-22].

Il Progetto METOS ha esordito nel 1984 come programma di CQ per la determinazione del piombo (e del cadmio) nel sangue per essere utilizzato successivamente, dopo un debito collaudo, a supporto dell'attuazione delle indagini relative al DPR 496/82.

Dall'analisi dei risultati riportati dai centri operativi che hanno partecipato alle attività previste dal DPR 496/82, di cui è stata presentata nel testo una breve sintesi, si può confermare un giudizio di buona comparabilità sui livelli di prestazione laboratoriale fra tutti i centri e si può ritenere che esistano sufficienti garanzie di affidabilità dei dati raccolti nelle indagini.

Tuttavia, un esame approfondito dei risultati del CQ relativo alla prima indagine italiana [10] poteva giustificare l'ipotesi della presenza di una possibile distorsione di segno positivo, modesta ma non trascurabile, per le misure delle piombemie ai livelli più bassi.

Successivamente, l'integrazione dello schema di CQ italiano con la raccomandazione di verifiche sistematiche mediante l'analisi di campioni di riferimento certificati per il loro contenuto di Pb e l'aiuto con interventi diretti per la soluzione dei problemi più complessi, portò un notevole miglioramento nelle prestazioni dei laboratori partecipanti, come dimostrato dai risultati ottenuti dai centri operativi (di cui viene presentato un esempio nella Fig. 3) nella seconda indagine per il DPR 496/82.

Lavoro presentato su invito.

Accettato il 2 febbraio 1998.

BIBLIOGRAFIA

1. ITALIA. 1977. Direttiva del Consiglio, 29 marzo 1977 concernente la sorveglianza biologica della popolazione contro il rischio di saturnismo (77/312/CEE). *GU delle Comunità Europee* NL 105/10, 28 aprile 1977.
2. MORISI, G., PATRIARCA, M., BORTOLI, A., MATTIELLO, G., GELOSA, L., FORTUNA, E., VIVOLI, G., BORELLA, P., BERGOMI, M., PIOVANO, V., RAMPÀ, P., PALLOTTI, G., CONSOLINO, A., ALESSIO, L., GILLI, G., BASTON, W., LEYENDECKER, W., CHIAROTTI, F. & TAGGI, F. 1983. Risultati italiani ottenuti in un programma di sicurezza di qualità per la determinazione del piombo nel sangue. Direttiva CEE 312, 29 marzo 1977. *Ann. Ist. Super. Sanità* **19**: 323-334.
3. LEYENDECKER, W., MORISI, G. & YEOMAN, B. 1983. Quality maintenance programme for lead and cadmium monitoring in blood by atomic absorption spectrometry in the framework of biological survey of population. *Ann. Ist. Super. Sanità* **19**: 589-596.
4. LEYENDECKER, W. 1985. Esperienza del laboratorio di riferimento del centro comune di ricerca di Ispra nel controllo di qualità per la determinazione del piombo nel sangue. *Ann. Ist. Super. Sanità* **21**: 85-96.
5. MORISI, G., TAGGI, F., MARTINI, F., MAGLIOLA, E., MATTIELLO, G., BORTOLI, A., GELOSA, L., FORTUNA, E., ALESSIO, L., VIVOLI, G., BORELLA, P., BERGOMI, M., PALLOTTI, G., CONSOLINO, A., PORROZZI, G., PIOVANO, V. & PIOMBINO, O. 1980. Programma comunitario sulla sorveglianza biologica della popolazione contro il rischio di saturnismo. *Ann. Ist. Super. Sanità* **16**: 537-644.
6. ITALIA. 1982. Decreto del Presidente della Repubblica n. 496, 8 giugno 1982. Attuazione della direttiva (CEE) n. 77/312 relativa alla sorveglianza biologica della popolazione contro il rischio di saturnismo. *GU* n. 212, 4 agosto 1982. p. 5492-5493.

7. MORISI, G., MACCHIA, T., PATRIARCA, M. & TAGGI, F. 1985. Articolazione del Programma italiano per il controllo di qualità nella determinazione del piombo e del cadmio nel sangue. *Ann. Ist. Super. Sanità* **21**: 97-110.
8. TAGGI, F. & MORISI, G. 1985. Un nuovo schema di sicurezza di qualità per valutazioni tra laboratori. *Ann. Ist. Super. Sanità* **21**: 111-116.
9. MORISI, G., PATRIARCA, M. & TAGGI, F. 1989. The interlaboratorial quality assurance program for blood lead determination. An evaluation of methods and results. *Ann. Ist. Super. Sanità* **25**: 405-416.
10. MORISI, G., PATRIARCA, M. & TAGGI, F. 1989. Comparable laboratory performances in the analysis of lead in control samples and in fresh human blood. *Ann. Ist. Super. Sanità* **25**: 417-422.
11. MORISI, G., PATRIARCA, M., CHIODO, F., MINOPRIO, A. & MENDITTO, A. 1996. Blood lead monitoring in Italy: assessment of the quality of results obtained between 1992 and 1994. *Mikrochim. Acta* **123**: 281-289.
12. MORISI, G., MENDITTO, A., CHIODO, F. & SPAGNOLO, A. 1995. Blood lead monitoring in the general Italian population. *Microchem. J.* **51**: 256-265.
13. MENDITTO, A., PATRIARCA, M., CHIODO, F. & MORISI, G. 1996. Blood lead and cadmium determination: results of the Italian external quality assessment scheme. *Mikrochim. Acta* **123**: 291-302.
14. MORISI, G., BONGIORNO, M., CAPOCACCIA, R., MANCINELLI, R., MENOTTI, A. & GRUPPO MICOL. 1990. Risultati di un controllo di qualità per la determinazione di alcuni parametri biochimici in uno studio multicentrico sulla epidemiologia della colelitiasi. *G. It. Chim. Clin.* **15**: 275-288.
15. MORISI, G., LEONETTI, G., PALOMBELLA, D., PATRIARCA, M. & MENDITTO, A. 1995. Organization and results of a pilot scheme for external quality assessment in clinical chemistry carried out in the Latium Region, Italy. *Ann. Ist. Super. Sanità* **31**: 113-122.
16. MENDITTO, A., PATRIARCA, M. & MORISI, G. 1992. Organization of interlaboratorial quality assurance programmes for the analysis of trace elements in blood: evaluation of procedures and analysis of data. *Microchemical J.* **46**: 137-146.
17. PATRIARCA, M., MENDITTO, A., MURAN, A. & MORISI, G. 1993. The quality of analytical determination of copper and zinc in serum. A collaborative study in a sample of Italian laboratories. *J. Trace Elem. Electrolytes Healths Dis.* **7**: 257-259.
18. PATRIARCA, M., MENDITTO, A. & MORISI, G. 1995. Quality assurance in the determination of metals in clinical chemistry and toxicology: the METOS Project. *Ann. Ist. Super. Sanità* **31**: 141-148.
19. MORISI, G., PATRIARCA, M. & MENDITTO, A. 1995. Controllo di qualità per gli elementi in traccia in medicina occupazionale ed ambientale. *Ann. Ist. Super. Sanità* **31**: 245-254.
20. European external quality assessment schemes in occupational and environmental laboratory medicine. 1996. G. Morisi, A. Menditto, M. Patriarca & A. Taylor (Eds). *Ann. Ist. Super. Sanità* **32**: 191-316.
21. MENDITTO, A., PATRIARCA, M., CHIODO, F. & MORISI, G. 1996. The Italian external quality assessment scheme for trace elements in body fluids. *Ann. Ist. Super. Sanità* **32**: 261-270.
22. TAYLOR, A., PATRIARCA, M., MENDITTO, A. & MORISI, G. 1996. Prospects of armonization of European EQAS in occupational and environmental laboratory medicine. *Ann. Ist. Super. Sanità* **32**: 295-307.