

RACCOMANDAZIONI E LINEE GUIDA

Le raccomandazioni SIPMeL per l'accreditamento ISO del monitoraggio di validità dei risultati degli esami

The SIPMeL recommendations for ISO accreditation of validity monitoring of examination results

Marco PRADELLA * a nome della Commissione Nazionale Qualità e Accreditamento

Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio, Commissione Nazionale Qualità e Accreditamento, Castelfranco Veneto, Treviso, Italia

*Autore di contatto: Marco Pradella, Piazza Duomo 18, 45026 Lendinara, Rovigo, Italia. E-mail: labmedico@labmedico.it

RIASSUNTO

La norma ISO 15189 revisionata è stata pubblicata il 6 dicembre 2022, quasi un anno dopo il termine previsto. SIPMeL, dopo aver partecipato attivamente al processo di revisione, mette a disposizione una serie di documenti di Raccomandazioni, con i principali contenuti della norma ISO in lingua italiana, qualche riflessione critica, e le indicazioni per applicare i requisiti della norma. Le Raccomandazioni SIPMeL Q19 concernono i requisiti di UNI EN ISO 15189:2023 su validità dei risultati degli esami, con il controllo di qualità interno (CQI), la valutazione esterna della qualità (VEQ) e la comparabilità dei risultati degli esami. I requisiti di ISO 15189 per il CQI non scendono in dettagli, ma le Raccomandazioni Q19 richiamano almeno ISO 15198 (compiti dei produttori) e CLSI C24 (statistica del CQI), oltre al Vocabolario Internazionale di Metrologia (VIM). Pubblicando il documento ISO 20914, è stato stabilito che il CQI non serve solo per il monitoraggio dei risultati, ma fornisce la base per la stima dell'incertezza. Il documento Q19 raccoglie elementi da vari documenti CLSI, come le guide per l'immunometria, quelle per la microbiologia, quelle per i metodi molecolari e quelle per gli esami POCT. CLSI poi fornisce indicazioni sulle alternative per i materiali di controllo. Q19 introduce infine la tematica del monitoraggio dei risultati qualitativi. ISO 15189 fornisce più dettagli sulla partecipazione a VEQ, ma la Raccomandazione Q19 aggiunge i riferimenti a guide CLSI come QMS24 e MM14. I requisiti per VEQ di ISO 15189 hanno grande importanza per l'esito delle verifiche di accreditamento. ISO 15189 affianca infine nella stessa clausola CQI, VEQ e comparabilità dei risultati degli esami. Le Raccomandazioni Q19 correggono la terminologia in base al VIM, richiamano le guide CLSI EP31 e CLSI EP09, nonché le proprie Raccomandazioni sulla stessa materia del 2016. Secondo Q19, le procedure di comparazione hanno caratteristiche più vicine alle attività di validazione e verifica dei metodi, diverse da CQI e VEQ, da cui dovrebbero essere distinte. Q19 propone ai laboratori un approccio semplice, poco oneroso e con statistiche non troppo sofisticate.

(Per citare questo articolo: Pradella M; Commissione Nazionale Qualità e Accreditamento. Le raccomandazioni SIPMeL per l'accreditamento ISO del monitoraggio di validità dei risultati degli esami. Riv Ital Med Lab 2024;20:209-19. DOI: 10.23736/S1825-859X.24.00244-5)

ABSTRACT

The revised ISO 15189 was published on 6 December 2022, almost one year after the deadline. SIPMeL, after having actively participated in the revision process, provides a series of Recommendations documents, with the main contents of the ISO standard in Italian language, some critical reflections, and indications for applying the requirements of the standard. The SIPMeL Recommendations Q19 concern the requirements of UNI EN ISO 15189:2023 on validity of examination results, with internal quality assurance (IQC), external quality assessment (EQA) and comparability of examination results. The requirements of ISO 15189

for IQC do not go into detail, but Recommendations Q19 at least refer to ISO 15198 (manufacturers' tasks) and CLSI C24 (IQC statistics), as well as the International Vocabulary of Metrology (VIM). By publishing ISO document 20914, it was established that the IQC not only serves for monitoring results, but also provides the basis for estimating uncertainty. The Q19 document gathers elements from various CLSI documents, such as the guides for immunometry, those for microbiology, those for molecular methods and those for POCT examinations. CLSI then provides guidance on alternatives for control materials. Q19 finally introduces the topic of monitoring qualitative results. ISO 15189 provides more detail on participation in VEQ, but Recommendation Q19 adds references to CLSI guides such as QMS24 and MM14. The VEQ requirements of ISO 15189 are of great importance for the outcome of accreditation audits. Finally, ISO 15189 puts CQI, VEQ and comparability of examination results side by side in the same clause. The Q19 Recommendations correct the terminology according to VIM, recall the CLSI EP31 and CLSI EP09 guides, as well as its own 2016 Recommendations on the same subject. According to Q19, comparison procedures have characteristics that are closer to method validation and verification activities, different from IQC and VEQ, from which they should be distinguished. Q19 proposes to the laboratories a simple, inexpensive approach with not too sophisticated statistics.

Key words: Reference standards; Medical laboratory personnel; Medical laboratory science.

La nuova ISO 15189, norma per i laboratori

La norma ISO 15189 revisionata è stata pubblicata il 6 dicembre 2022, quasi un anno dopo il termine previsto, e recepita da UNI in Italia poco tempo dopo.¹ Il processo di revisione è stato lungo e faticoso, iniziato già in ottobre 2018² ha attraversato molteplici versioni della bozza e altrettante votazioni. Dai vertici ISO e del Comitato tecnico competente (ISO/TC 212) sono state ricevute, tra le altre, alcune importanti direttive, tra cui quelle di usare ISO/IEC 17025:2017 come modello, incorporare ISO 22870 (la norma per i Point-of-care, POCT), prendere in considerazione altri documenti ISO pubblicati pertinenti, con l'obiettivo di evitare anche ripetizioni ridondanti, stabilire collegamenti con ISO 22367 (gestione dei rischi)³ la serie di standard diagnostici molecolari sviluppato da ISO TC 212 WG4, infine di ridurre i requisiti prescrittivi per privilegiare invece il rischio per il paziente.

SIPMeL, dopo aver partecipato attivamente al processo di revisione, mette a disposizione dei laboratori medici italiani una serie di documenti di Raccomandazioni, che contengono la rappresentazione dei principali contenuti della norma ISO in lingua italiana, qualche riflessione critica sulla loro natura e i loro obiettivi, le indicazioni per realizzare nel contesto nazionale la qualità delle prestazioni secondo i requisiti della norma.⁴⁻⁷

Nelle Raccomandazioni SIPMeL Q19 vengono presentati tra i requisiti di UNI EN ISO 15189:2023 nel capitolo 7 (Requisiti di processo), clausola 7.3 (processi di esame), quelli del punto 7.3.7 (validità dei risultati degli esami), che contiene Controllo di qualità interno (CQI), Valutazione esterna della qualità (VEQ) e Comparabilità dei risultati degli esami.⁸

Le Raccomandazioni Q19 hanno visto la collaborazio-

ne tra la Commissione Qualità e Accreditamento con il Gruppo di Studio Informatica e il Gruppo di Studio per il Management Sanitario. Qui ne viene data una sintetica presentazione, rimandando ai documenti ufficiali delle Raccomandazioni per i riferimenti precisi ai punti della norma ISO e di quelle collegate, nonché alla bibliografia completa.

Il punto 7.3.7 di ISO 15189:2022 porta il titolo "Garantire la validità dei risultati degli esami", diverso dal punto corrispondente della versione 2012 (5.6 *Ensuring quality of examination results*) per due ragioni. Innanzitutto perché nel modello ISO 17025 il punto corrispondente 7.7 ha come titolo "*Ensuring the validity of results*". Ma soprattutto perché "qualità" (secondo ISO 9000 3.6.2 "grado in cui un insieme di caratteristiche intrinseche [3.10.1] di un oggetto [3.6.1] soddisfa dei requisiti [3.6.4]")⁹ è un concetto troppo ampio e generale per attribuirlo alle procedure dedicate solo al monitoraggio di alcune proprietà dei risultati degli esami. Per la nostra visione "olistica" nella qualità si devono comprendere sia misure preventive che quelle di monitoraggio, con indicatori che coprono anche processi come taratura, standardizzazione, presentazione dei risultati.^{10, 11} Nonostante il rischio di ambiguità, il termine "qualità" rimane nei titoli dei punti norma ISO 15189 "controllo interno" e "valutazione esterna", forse per non creare troppe difficoltà agli operatori che vi sono abituati, forse in attesa che si facciano spazio espressioni più appropriate.

Monitoraggio dei risultati con il controllo di qualità interno (CQI)

UNI EN ISO 15189:2023 chiede perentoriamente che il laboratorio disponga di una procedura per monitorare la va-

lidità dei risultati, dove rilevare tendenze e cambiamenti, applicando tecniche statistiche. La validità dei risultati per ISO 15189 poggia quindi su quattro pilastri: monitoraggio, documentazione, statistica, pianificazione e revisione.

Rispettando in questo caso le direttive ricevute, ISO 15189 enuncia alcuni principi sulla procedura del CQI, senza però specificarne dettagli e riferimenti. I laboratori medici hanno invece almeno due riferimenti principali da considerare: ISO 15198¹² e CLSI C24.¹³ Adeguandosi inoltre alla terminologia del vocabolario internazionale di metrologia VIM.¹⁴

ISO 15198 ci dice che sebbene i direttori dei laboratori abbiano la responsabilità ultima delle procedure, il controllo di qualità è una responsabilità condivisa tra produttori e utilizzatori di dispositivi medici IVD.¹⁵⁻¹⁷ Il fabbricante deve stabilire la necessità della validazione del CQI, in base ai risultati dell'analisi dei rischi per i pazienti. Per i dispositivi IVD esistenti, le procedure di controllo statistico della qualità, come quelle di CLSI C24, sono adeguate. ISO 15198 prevede che si stabiliscano lo scostamento da rilevare, i materiali da utilizzare, le concentrazioni da misurare, le linee guida per i limiti da rispettare, le limitazioni della procedura.

Per ISO 15189 la frequenza del CQI deve basarsi sulla stabilità e sulla solidità del metodo di esame e sul rischio di danni al paziente. I dati risultanti devono essere registrati in modo tale da poter individuare tendenze e variazioni e, se del caso, devono essere applicate tecniche statistiche per esaminare i risultati. I dati del CQI devono essere rivisti a intervalli regolari, con criteri di accettabilità definiti e in un arco di tempo che consenta una valutazione significativa delle prestazioni attuali.

Su frequenza e statistiche, in mancanza di indicazioni puntuali ISO, SIPMeL raccomanda il documento CLSI C24,¹³ dove si trova la metrica Sigma, ovvero il quoziente tra variabilità accettabile e imprecisione della misura,¹⁸ e la distinzione tra schemi operativi del tipo a lotti (ad esempio, una micropiastra o una sequenza predefinita di campioni) rispetto a quelli in modalità continua, (intervallo di un gruppo di campioni, in base al tempo o al numero).

Per ISO 15189 le regole del CQI per lo stesso esame dipendono dai diversi contesti clinici. ISO 15189 ammette l'uso di materiale CQI fornito dal produttore del reagente o dello strumento, ma raccomanda in alternativa o in aggiunta quello di terze parti. Il CQI non si limita ai risultati delle misurazioni: se si esprimono interpretazioni e opinioni, vanno sottoposte a una regolare revisione tra pari.

SIPMeL Q19 osserva che da quando ISO 15189 richiama il documento ISO 20914 a proposito di incertezza,¹⁹

il CQI non è più solo un monitoraggio quotidiano della validità dei risultati.

CLSI C24 contiene un collegamento a ISO 15189 e vorrebbe guidare i laboratori medici a soddisfare i requisiti delle autorità e/o delle organizzazioni di accreditamento. Si occupa del CQ statistico per le misure quantitative, ne descrive la pianificazione, l'uso del materiale e dei risultati di CQ, fornisce infine esempi che descrivono praticamente la pianificazione del CQ. CLSI C24 non tratta i risultati qualitativi, CQI con i dati dei pazienti, la variabilità pre-esame, caratteristiche intrinseche del campione come viscosità, trascinamento, influenze di interferenti.

La Raccomandazione Q19 raccoglie in una apposita tabella le indicazioni per i materiali di controllo da documenti ISO, CLSI e WHO.

Anche per i materiali, in ossequio alle direttive ISO, la norma 15189 enuncia alcuni principi, senza specificarne dettagli e riferimenti. La Raccomandazione SIPMeL Q19 perciò aggiunge le indicazioni da diverse guide CLSI.

Innanzitutto, CLSI C24 ammette sia materiali di controllo del fabbricante del sistema IVD, che prodotti da terzi, per lo stesso fabbricante o indipendenti, che prodotti mescolando campioni di pazienti o altri materiali preparati in laboratorio, addirittura gli stessi calibratori, purché con numero di lotto diverso. CLSI include nel C24 i risultati finali nominali qualitativi (ad esempio, positivo o negativo) che derivano da una misura numerica quantitativa. Invece esclude il valore assegnato e la sua dispersione ottenuti con l'inserimento informativo del produttore.

Altri spunti derivano dalle guide per l'immunometria. Nel documento CLSI I/LA02 (immunofluorescenza e immunoenzimatica),²⁰ si usano controlli negativi e positivi a titolo basso, unitamente a campioni conservati di pazienti. In questi casi i confronti dei risultati nominali diventano concordanza o discordanza. Inoltre, ha un valore per il controllo di qualità anche la frequenza di alcuni risultati (negativo, dubbio o positivo). Nella guida CLSI I/LA23 (radioimmunologia e immunoenzimatica),²¹ si affiancano parametri della curva di taratura, come avverrà per la genomica. La guida CLSI I/LA28 (immunoistochimica)²² prevede il conteggio dei valori ordinali, oppure nominali se viene applicata una soglia, a cui viene applicata la stima di precisione.

Utili indicazioni vengono dalle guide CLSI per la microbiologia. CLSI M27/M44S²³ e CLSI M27²⁴ per la misura di concentrazione minima inibitoria (MIC). CLSI M22 (terreni di coltura) non prevede una statistica dei risultati dei controlli. Analogamente, in CLSI M35 (identificazione di batteri e lieviti) il risultato è del tipo "passa/non

passa". Mancano quindi le caratteristiche essenziali per il monitoraggio. Lo stesso dicasi per CLSI M40 (sistemi di trasporto microbiologico) e per CLSI M50 per il controllo dei sistemi commerciali di identificazione.²⁵ CLSI M58 (MALDI-TOF) non fa eccezione.²⁶ La letteratura scientifica, tuttavia, descrive diverse caratteristiche strumentali utili per la metrologia di MALDI-TOF.²⁷

Si differenzia lo schema proposto dal documento Q2 di *UK Standards for Microbiology Investigations*,²⁸ dove si prevede di esaminare in parallelo due aliquote di campione, in cieco, da cui ottenere frequenze per la stima degli errori di identificazione microbiologica.

ISO 15189, CLSI C24 e le Raccomandazioni SIPMeL Q19 non trattano un tema recentemente salito nell'interesse dei ricercatori: la gestione del CQI nei grandi laboratori consolidati, dotati di molteplici strumentazioni per gli stessi esami. In queste situazioni qualcuno propone un CQI in cui valore atteso, scarti e regole dei singoli strumenti siano sostituiti dagli stessi parametri derivati dall'insieme degli strumenti utilizzati. Non esistono regole di controllo qualità attualmente riconosciute per più strumenti che eseguono lo stesso esame in un laboratorio o in una rete. Le simulazioni da più parti pubblicate negli anni possono essere suggestive, ma hanno importanti limiti.²⁹ A partire dalle differenze sistematiche tra strumenti, di cui si occupa il successivo punto sui confronti. Ma anche lascia perplessi il mescolare indici di dispersione (varianza e scarto tipo) di strumenti diversi, per il rischio di aumentare falsi negativi e falsi positivi.³⁰ In questo momento, non pare siano proponibili alternative migliori del CQI per ogni singolo strumento.³¹

Alternative ai materiali di controllo per CQI

ISO 15189 chiede al laboratorio di usare altri metodi se non è disponibile materiale adatto al CQI, omettendone però dettagli o riferimenti. ISO cita l'andamento dei risultati dei pazienti, ad esempio con una media mobile o una percentuale di campioni con risultati inferiori o superiori a valori soglia, oppure il confronto con i risultati di un metodo con la stessa taratura, come specificato nella norma ISO 17511,^{32, 33} o infine con la ripetizione dell'esame dei campioni conservati di pazienti.

Le Raccomandazioni SIPMeL cercano di colmare questa carenza. Per la media mobile, si tratta di calcoli sui risultati di pazienti, non su quelli di materiali di CQ, talvolta erroneamente proposti.³⁴⁻³⁷ La media mobile può richiedere notevole impegno di lavoro, ma ha il vantaggio di un monitoraggio continuo, soprattutto negli intervalli tra le misurazioni CQI con i materiali.

La ripetizione di esami su campioni di pazienti (RPT-CQ) ha riscosso un certo successo in ambito veterinario.³⁸ In questo caso la differenza tra misure ripetute è il risultato del controllo, a cui si usano le stesse regole statistiche del CQ, a partire per esempio da 1-3s.³⁹

Il caso del monitoraggio dei risultati molecolari

Il laboratorio medico si trova sempre più di fronte alla sfida dei metodi molecolari. ISO 15189 non fornisce direttive specifiche, ma CLSI mette a disposizione molti documenti guida. Mentre una buona fonte sugli esami su acidi nucleici è il documento ISO 17822.^{40, 41} ISO nota che in tutto il mondo il controllo di qualità nei laboratori medici spesso non viene eseguito correttamente. I costi della qualità rappresentano il 22% dei costi diretti del laboratorio. ISO 17822 prescrive l'uso di materiali di controllo e ne descrive i diversi tipi. Il laboratorio deve decidere il tipo e la frequenza appropriati di utilizzo dei controlli interni ed esterni, i cui risultati devono rimanere entro i limiti pre-stabiliti.

La Tabella I mostra la quantità e varietà di guide disponibili per i metodi molecolari, di cui purtroppo ISO 15189 non fa menzione.

Ad esempio, CLSI MM01 di fronte alla varietà di sistemi per esami molecolari per la genetica ereditaria consiglia al laboratorio di adeguarsi al proprio⁴² e raccoglie in una esaustiva tabella i diversi tipi di controlli utilizzabili. Per il controllo di quantità e qualità degli acidi nucleici isolati MM01 fa riferimento ai documenti CLSI MM13 e MM23. CLSI MM03 per le malattie infettive⁴³ descrive sia controlli con aggiunta di marcatore bersaglio, che bersagli modificati, che controlli eterologhi, vicini al limite di rilevazione (LoD). Ma aggiunge la prassi di confrontare su base mensile la percentuale di risultati positivi con i dati storici.

TABELLA I.—*Selezione di documenti CLSI per i metodi molecolari.*

CLSI MM01 (genetica ereditaria): controllo estrazione acido nucleico
CLSI MM03 (malattie infettive): bersagli controllo, frequenza positivi
CLSI MM07 (ibridazione in situ a fluorescenza, FISH): numero cellule positive
CLSI MM09 (NGS e simili): sistema complesso di metriche
CLSI MM22 (micromatrice per malattie infettive): controlli specifici per metodo
CLSI MM20 (genetica): controllo umano o sintetico, segnale numerico, tasso positivi
CLSI MM23 (tumori solidi): controllo estrazione DNA
CLSI MM24 (microorganismi infettivi): precisione, ripetibilità (nella serie) e riproducibilità (tra le serie)

CLSI MM23 riguarda invece i tumori solidi.⁴⁴ La versione di MM23 in preparazione proprio in questi giorni parla diffusamente dei controlli di qualità, considerando sia l'eterogeneità delle tecniche che la loro rapida evoluzione. Descrive i possibili materiali di controllo, partendo proprio dalla fase di estrazione. Per sequenziamento genetico di nuova generazione (*Next generation sequencing*, NGS) prevede controlli di contaminazione, di rilevanza, di selettività. Ma anche una serie di parametri (metriche) dei campioni e delle varianti, ispirata da CLSI MM09 e da ISO 20397-2.

CLSI MM09 (sequenziamento anche NGS)⁴⁵ rappresenta un complesso sistema di metriche di controllo, dall'estrazione dell'acido nucleico e fino all'analisi bioinformatica dei dati. MM09 fornisce un elenco di sistemi di misura con molti esempi. Queste metriche vanno analizzate ogni mese come monitoraggio. Le Raccomandazioni Q19 rappresentano in sintesi graficamente in una figura l'approccio descritto da MM09 e MM23. Si prevede un controllo positivo vicino a LoD con i tipi di varianti comuni e quelle difficili. Molti dettagli sul tema specifico si trovano nel documento ISO 20397-2:2021 e in letteratura.⁴⁶⁻⁴⁸

CLSI MM07 (per ibridazione in situ a fluorescenza, FISH) consiglia il conteggio di cellule con un segnale anormale in un vetrino di riferimento.⁴⁹

CLSI MM20 per esami genetici molecolari⁵⁰ prevede controlli con sequenze del genoma umano o controlli sintetici positivo (a livello basso, vicino al LoD, o medio) e negativo, i cui risultati sono analizzati con grafici e statistiche. Sconsiglia l'uso di un forte positivo perché un rischio di contaminazione. Per i risultati finali qualitativi va registrato un segnale numerico, ad esempio uno spostamento nel rapporto genotipico, accanto al tasso di positività nei risultati.

CLSI MM22, per esami a micromatrice (*Microarray*) delle malattie infettive⁵¹ prevede controlli esogeni o endogeni, con livello vicino a LoD, l'uso di assorbanza a 260 e 280 nm, della fluorescenza alla lunghezza d'onda appropriata, di elettroforesi su gel o metodi su colonna, di PCR, persino di analisi d'immagine sulla micromatrice. MM22 cita linee guida standard nonché aziende e istituzioni da cui avere reagenti per il controllo qualità. Anche per le micromatrici in formato chiuso, MM22 raccomanda l'uso di controlli positivi e negativi. Infine, MM22 comprende il controllo di qualità individualizzato, basato su analisi dei rischi.

CLSI MM24 (genotipizzazione e la tipizzazione dei microrganismi infettivi)⁵² non è indirizzato alla diagnostica,

ma è interessante per i laboratori medici dove descrive ripetibilità (precisione nella serie) e riproducibilità (precisione tra le serie). Si misurano da cinque a dieci repliche a tre diverse concentrazioni (alta, media e bassa). Per NGS, la ripetibilità deriva dalla concordanza tra sequenza di più librerie (almeno tre secondo le linee guida del Wadsworth Center⁵³) dallo stesso acido nucleico estratto. La riproducibilità di NGS richiede secondo le stesse linee guida almeno tre corse di sequenziamento in giorni diversi.

Il caso del monitoraggio dei risultati POCT

ISO 15189 include oggi i requisiti degli esami POCT prima fissati da ISO 22870. Però nel monitoraggio con CQI, ISO 15189 non menziona gli esami POCT, né riporta linee guida in proposito.

Le guide CLSI richiamate dalle Raccomandazioni Q19 invece non ignorano il problema. CLSI POCT07, per la mitigazione degli errori al punto di cura⁵⁴ cita molte volte come scontati i controlli di qualità, senza però entrare in dettagli. CLSI POCT08, che riguarda esami non strumentali al punto di cura, come strisce reattive per l'urina, esami per il sangue occulto nelle feci ed esami rapidi per l'influenza a lettura visuale, prevede sia controlli incorporati che controlli esterni a imitazione dei campioni dei pazienti.

CLSI POCT14 concerne esami della coagulazione al punto di cura.⁵⁵ Cita sia sistemi di controllo interni (cioè "a bordo"), che soluzioni di controllo o cartucce elettroniche. Viene costantemente fatto riferimento alle istruzioni del fabbricante, come già faceva il documento ISO 15198.

In definitiva, l'eterogeneità e la particolarità dei dispositivi POCT costringono a non poter prescindere dalle istruzioni specifiche del fabbricante, utilizzando il più possibile procedure analoghe agli altri esami di laboratorio.

Il monitoraggio di risultati qualitativi

Gli esami qualitativi sono quelli che misurano la presenza o l'assenza di una sostanza o valutano caratteristiche cellulari come la morfologia. I risultati non sono espressi in termini numerici, ma in termini descrittivi o qualitativi come "positivo," "negativo," "reattivo," "non reattivo," "normale" o "anormale." ISO 15189 prende in considerazione in diversi punti i metodi con risultati qualitativi: 3.8 esame, 3.29 esattezza, 6.5 taratura, 6.5.3 tracciabilità, 7.3.4 incertezza. Non fornisce indicazioni nel punto 7.3.7 per il monitoraggio dei risultati di questi esami, ma le Raccomandazioni Q19 segnalano che i laboratori hanno a disposizione molte altre fonti.

Ad esempio, WHO fornisce buone indicazioni per i risultati qualitativi.⁵⁶ Prevede controlli positivi e negativi per esami con colorazioni o reagenti speciali e misure con punti finali quali agglutinazione, cambiamento di colore o altri risultati non numerici. I controlli incorporati nel dispositivo non sono sufficienti, ma vanno affiancati a materiali di controllo che imitano i campioni dei pazienti, quelli positivi devono essere vicini al valore soglia dell'esame. Vanno eseguiti preferibilmente una volta al giorno o con la frequenza raccomandata dal produttore e registrati ogni volta. Tuttavia, WHO non fornisce istruzioni sulle modalità per raccogliere e presentare i risultati o sulle statistiche da utilizzare. Molti dei controlli proposti vengono utilizzati nella modalità "passa/non passa", quindi senza dare informazioni sulla precisione del metodo.

ISO 15189 ancora non scioglie il nodo dei risultati qualitativi, ma stiamo assistendo all'evoluzione delle conoscenze. Tra queste, quelle illustrate da EURACHEM⁵⁷ e da ISO 27877⁵⁸ nonché ISO 16393,⁵⁹ che sviluppano il concetto di "probabilità" dei risultati qualitativi.⁶⁰ Da queste stanno derivando proposte semplici per i risultati puramente qualitativi, non derivanti da soglie, in termini di precisione e incertezza.^{61, 62}

Il monitoraggio con la valutazione esterna della qualità (VEQ)

ISO 15189 chiede al laboratorio, compresi i servizi POCT, l'iscrizione, la partecipazione a VEQ, quando disponibili, e la valutazione dei loro risultati. Per Accredia la partecipazione a VEQ è decisiva per la concessione o il mantenimento dell'accreditamento.⁶³ Accredia tuttavia concede di pianificare la partecipazione a VEQ mediante approccio basato sul rischio. Non si tratta di licenza di fare o non fare. Ad esempio, per un esame eseguito nel laboratorio solo di rado può essere eccessivo un programma di VEQ che preveda un esercizio al mese, più delle sedute previste nel laboratorio, che in questo caso potrà avvalersi delle alternative alla VEQ elencate nella norma ISO.

ISO 15189 aggiunge considerazioni di dettaglio per gli operatori coinvolti, le caratteristiche dei programmi e dei materiali, sul valore atteso e sulle metodologie alternative, di cui fornisce un ricco elenco.

Questo è uno dei punti in cui il testo di ISO15189:2023 si discosta dalle direttive originali ISO, estendendosi in prescrizioni di dettaglio invece di limitarsi alla enunciazione di principi. D'altra parte, ISO non fornisce riferimenti a linee guida autorevoli sul tema, come ad esempio CLSI QMS24⁶⁴ e CLSI MM14.⁶⁵ Si notano alcune curiosità nel

lungo elenco di alternative proposte da ISO. Ad esempio, una delle alternative, la prova in cieco di due o più operatori, corrisponde al protocollo del documento UK-SMI Q2, che lo considera un CQI.²⁸ L'esame di materiali provenienti da depositi di cellule e tessuti è in sostanza la ripetizione di esami su campioni di pazienti (RPT-CQ),³⁸ già descritta come CQI, analoga all'esame di micromatrici tessutali standardizzate (TMA) come descritto da CLSI I/LA28 per esami immunoistochimici.⁶⁶

ISO 15189:2023 chiede che i dati VEQ siano rivisti a intervalli regolari e se non rientrano nei criteri di accettabilità specificati, devono essere intraprese azioni appropriate, partendo da una valutazione se la differenza è clinicamente significativa, rendendo necessaria la revisione dei risultati dei pazienti e un avviso agli utenti.

La guida CLSI QMS24 prevede più alternative di ISO 15189: suddivisione del campione, esterne ma anche interne, ripetizione di campioni conservati (*audit sample*), esame di calibratori di lotto diverso, confronti del CQI tra laboratori, seconda interpretazione dei risultati, osservazione diretta dell'esame, correlazioni cliniche, microorganismi surrogati, programmi istituzionali simili a VEQ.

Interessante in QMS24 il confronto per i risultati qualitativi. L'appendice D è dedicata alla valutazione statistica dei risultati qualitativi, con la statistica kappa,⁶⁷ un indice da 1 a -1 che confronta l'accordo dei risultati rilevato con quello prevedibile in base al caso. Valori superiori a 0,8 sarebbero un accordo elevato, quelli tra 0,6 e 0,8 un accordo discreto. Con 20 o più campioni, un valore kappa superiore a 0.5 è statisticamente significativo e indica che l'accordo non è interamente dovuto al caso. Q19 ritiene interessante notare che la statistica kappa si basa su misure ripetute, diventando così un modello di approccio utile anche per la stima di precisione e incertezza.

Q19 aggiunge le indicazioni di CLSI MM14, dedicata a VEQ per esami molecolari. CLSI descrive VEQ con depositi di cellule e tessuti, DNA purificato umano, batterico e virale. Accanto a campioni residui dei pazienti, materiali sintetici, campioni addizionati di un virus o di un batterio noto. matrici di carta da filtro. La VEQ molecolare interessa tutti i passaggi dell'esame: estrazione del DNA, purificazione, sequenziamento, elettroforesi, quantificazione, interpretazione. Ad esempio nell'estrazione dell'acido nucleico evidenze sperimentali hanno dimostrato differenze significative tra laboratori,^{68,69} come pure per il sequenziamento⁷⁰ e per i metodi PCR.⁷¹

Si apprende da MM14 di VEQ anche per risultati molecolari qualitativi, dove il risultato corretto può essere il consenso dei partecipanti, ad esempio, dell'80%, ma

può essere quello di laboratori di riferimento o con punteggi positivi negli ultimi tre esercizi. CLSI descrive i risultati di un esercizio VEQ espressi come percentuali di concordanza, da 94% a 100%. Prassi ancora oggi utilizzate.⁷²

Le Raccomandazioni Q19 mettono in evidenza che i requisiti per VEQ di ISO 15189 hanno grande importanza, spesso la partecipazione con successo a VEQ è tra le poche evidenze che consentono di confermare la competenza del laboratorio. Infatti, ISO prescrive la partecipazione a VEQ, o almeno per le sue alternative, anche per gli esami POCT. Q19 ricorda che dalle VEQ si ricavano spesso informazioni sullo stato dell'arte generale dei metodi di esame anche prima insospettite, indispensabili per la sorveglianza post-vendita prescritta dai regolamenti europei.⁷³⁻⁸⁰

Comparabilità dei risultati di strumenti diversi

ISO 15189 include nella stessa clausola CQI, VEQ e comparazione di strumenti diversi. Tuttavia il concetto di "monitoraggio" è applicato solo a CQI e VEQ. Il punto della norma sulla comparazione sembra ammettere sia l'uso di campioni di pazienti per il confronto che materiali CQI, preferendo il primo solo per i rischi di poca commutabilità. Non solo, sembra ammettere tutte le alternative descritte per CQI e VEQ. Eventuali differenze avrebbero conseguenze su intervalli di riferimento e limiti decisionali, dopo di che si dovrebbero informarne gli utenti.

Questa parte di ISO 15189 non può non aver destato perplessità per diversi motivi: per la terminologia, per la collocazione nella norma, per le basi scientifiche della procedura.

Le Raccomandazioni Q19 riprendono sulla terminologia il Vocabolario internazionale di metrologia (VIM) che distingue due procedure e due nomi diversi: comparabilità e confrontabilità.¹⁴ VIM3 2.46 definisce "comparabilità metrologica" quella di misure con la stessa taratura, mentre VIM3 2.47 descrive "compatibilità metrologica" quella ottenuta da coppie di misure da due strumenti. Il primo concetto è curiosamente corrispondente a quello che ISO 15189 propone come una delle alternative al CQI, mentre il secondo corrisponde alla procedura ISO 15189 nel punto specifico del confronto tra metodi come validità dei risultati, nonché alle procedure descritte da CLSI EP31 e CLSI EP09.

CLSI EP31⁸¹ era programmato per la revisione nel 2022, ma invece CLSI gli ha affiancato una guida all'attuazione, EP31IG.⁸² Un percorso che ci ha lasciato perplessità comunicate alla stessa CLSI.

EP31 è pensato per situazioni come cambi di lotto di reagenti o calibratori, di componenti dello strumento o procedure di manutenzione, allarmi di CQI o di VEQ. Si occupa anche degli esami POCT. Dipinge scenari di monitoraggio frequente (giornaliero, settimanale), periodico (trimestrale, semestrale) oppure occasionale in risposta a un allarme. Per quello frequente serve un numero inferiore di campioni o di repliche di un singolo campione, ma può avvalersi del monitoraggio dei risultati dei pazienti, con ad esempio medie mobili ponderate.⁸³

EP31 prevede la possibilità di sorvegliare la comparabilità mediante i risultati del CQI. Dopo un confronto iniziale dei metodi si mantengono le relazioni numeriche tra medie del CQI.

La statistica di EP31 per analizzare i risultati si basa su metodi poco consueti nei laboratori, partendo dall'ordinamento in sequenza e parametri come differenza critica e precisione del metodo, per arrivare a tabelle precompilate abbastanza complicate. Per gli esami POCT si ipotizzano altri protocolli, come la cosiddetta griglia degli errori.^{84, 85} La guida CLSI EP31IG per l'attuazione di EP31 si avvale del foglio elettronico CLSI EP31-Ed1-WB, che contiene tabelle e calcoli.⁸⁶

CLSI EP09 adotta l'approccio con campioni di pazienti, separando la procedura per il fabbricante da quella per il laboratorio.⁸⁷ Il laboratorio è infatti tenuto a esaminare solo 40 campioni, non 100 come il fabbricante, e può limitare l'analisi dei risultati al grafico delle differenze, mentre al fabbricante è richiesta un'analisi completa della regressione. Il diagramma di Bland-Altman è un esempio di diagramma delle differenze.⁸⁸

Le Raccomandazioni Q19 raccolgono esperienze più recenti, non considerate da EP31, che usano statistiche come ANOVA Kruskal-Wallis,⁸⁹ oppure la regressione di Passing-Bablok e l'analisi delle differenze secondo Bland-Altman,⁹⁰ ma anche un semplice test statistico t per dati accoppiati.⁹¹

SIPMeL ha analizzato le proposte di EP31 e di EP09 con le sue Raccomandazioni del 2016,⁹² dove si concludeva che la proposta di EP31 sia molto più difficile da mettere in pratica, mentre quella di EP09 resta meno impegnativa, pur mantenendo rigorosità scientifica. Recentemente sono comparse ricerche su metodi alternativi a EP31 per le comparazioni tra strumenti multipli, ad esempio con frequenza settimanale.⁹³ Nonostante sembrino dare buoni risultati, non hanno superato serie difficoltà, come la scelta del valore di riferimento, la garanzia di commutabilità dei materiali, la tempestività dei controlli. Non pare possano sostituire le guide riconosciute sul tema.

TABELLA II.—*Sintesi delle Raccomandazioni SIPMeL Q19.*

1. Requisiti di UNI EN ISO 15189:2023 come buona pratica di laboratorio
2. Conformità a ISO 9001 facilita quella a ISO 15189
3. Documenti dei laboratori, comprese le norme ISO da consultare, redatti in lingua italiana.
4. Controllo di qualità interno sia per validità dei risultati dei pazienti che per incertezza di misura.
5. Per CQI secondo ISO 15189 riferirsi a ISO 15198 e CLSI C24
6. Per le attività di immunologia riferirsi a CLSI I/LA02, I/LA23, I/LA28.
7. Per le attività di microbiologia riferirsi a CLSI M22, M27, M35, M40, M58 e Q2 di UK-SMI.
8. Per gli esami molecolari riferirsi a ISO 17822 e CLSI MM01, MM07, MM09, MM13, MM20, MM22, MM23.
9. “Controlli inclusi” e “controlli non inclusi” sono espressioni preferibili a “interni”.
- 10 Per il monitoraggio degli esami nei POCT, riferirsi a CLSI POCT07, POCT08, POCT14.
11. Materiali nella modalità “passa/non passa” non conformi ai requisiti di CQI ISO 15189.
12. Giustificazioni delle procedure alternative per il CQI.
13. CQI statistico per risultati quantitativi e misurazioni quantitative per risultati finali qualitativi.
14. Metriche per il CQI generate dal processo stesso.
15. Monitoraggio dei risultati per i metodi nominali qualitativi o numerici ordinali.
16. VEQ per tutti gli esami, compresi POCT.
17. Riferimenti per VEQ a guida CLSI QMS24 e, per gli esami molecolari, MM14.
18. Alternative a VEQ con adeguata motivazione e valutazione del rischio.
19. Comparazione tra metodi non per monitoraggio dei risultati.
20. Comparabilità metrologica dalla stessa taratura, con riferimento a ISO 17511.
21. Compatibilità metrologica da risultati di pazienti, con riferimento a CLSI EP09.
22. Comparazione esami POCT con griglia degli errori.
23. Comparazione metrologica da verifica metodi e monitoraggio CQI.

Considerazioni conclusive

La Tabella II raccoglie la sintesi delle Raccomandazioni SIPMeL Q19 per i requisiti di accreditamento ISO 15189 sulla validità dei risultati degli esami. Si possono altresì esprimere alcune considerazioni sulla clausola della nuova norma che contiene CQI, VEQ e confronto di metodi.

Dopo la pubblicazione di ISO 20914¹⁹ il CQI va oltre il monitoraggio dei risultati e diventa base per la stima dell’incertezza di misura.⁹⁴ Diversamente da ISO 17025, l’incertezza strumentale della misura viene scorporata da quella dei processi preesame e dei processi post-esame. Tuttavia, molte attività con l’etichetta CQI non hanno valenza di monitoraggio e quindi di stima dell’incertezza, ma si limitano a consentire preventivamente l’esecuzione dell’esame, in modalità “passa/non passa”. Ad esempio, l’uso dei ceppi standard in microbiologia per le prove col-

turali. Una modalità che avvicina più alle operazioni di aggiustamento della taratura, ovvero ai calibranti, che al monitoraggio con CQI.

Alla luce del parallelismo tra CQI e incertezza, è lecito chiedersi come gestire il monitoraggio dei risultati qualitativi, tipo “positivo/negativo”. La stima di incertezza riguarda sia i risultati numerici quantitativi che quelli che ricavano un risultato nominale qualitativo dal confronto con una soglia. Ma ISO 15189 non trascura affatto i risultati nominali qualitativi, a partire dal capitolo di termini e definizioni. Riconosciuta l’esistenza al punto 3.8, ne prevede un criterio di esattezza al punto 3.29, ne chiede al punto 6.5.1 la sorveglianza della riproducibilità nel tempo e al punto 6.5.3 lettera e) la tracciabilità. Lo sviluppo delle conoscenze scientifiche in materia conduce a valorizzare in questi casi l’approccio per conteggi o frequenze.

Trattando il monitoraggio con CQI, ISO 15189 non menziona gli esami POCT. CLSI invece considera scontato il CQI nei servizi POCT, senza dare dettagli operativi, salvo richiamare più volte il ruolo dei produttori dei diversi dispositivi, ciascuno per le proprie peculiarità.

Infine, in diversi tipi di metodi (dai vecchi RIA ai nuovi NGS) la sorveglianza interna della validità dei risultati può avvalersi di metriche diverse dalle misure su materiali.

I programmi di VEQ si differenziano dalle attività di CQI innanzitutto per la frequenza delle misurazioni di controllo e il valore retrospettivo degli esiti. Invece ai fini delle stime di precisione, esattezza e incertezza i programmi di VEQ, se adeguatamente progettati e realizzati, possono dare validi contributi. Inoltre, negli esercizi di VEQ non si rilevano particolari difficoltà nella valutazione dei risultati nominali qualitativi rispetto quelli numerici quantitativi. La conversione dai tradizionali parametri di posizione e dispersione (media, varianza, scarto tipo) alle frequenze anche percentuali di concordanza avviene naturalmente, senza particolari scossoni.

Il punto con i requisiti stabiliti da ISO 15189 per il confronto di metodi lascia invece diverse perplessità. Non vengono dati riferimenti sulle procedure e sulle statistiche per l’interpretazione dei risultati, non vengono citate le guide CLSI EP09 e CLSI EP31. La selezione dei materiali apre a molte alternative, letteralmente “tutte le opzioni descritte per CQI e VEQ”, lasciando ai laboratori il rischio della scelta. Ma soprattutto appare grossolana la differenza con le altre modalità di monitoraggio dei risultati, CQI e VEQ. Mentre CQI e VEQ si eseguono senza interruzioni, è oggettivamente poco plausibile impegnare i laboratori con elevata frequenza nella comparazione tra metodi. Con qualunque protocollo riconosciuto, il confronto tra metodi

è un'attività onerosa, da riservare a particolari occasioni. Forse non a caso il punto della comparazione manca nella ISO 17025. Le procedure della comparazione (punto 7.3.7.4 di ISO 15189) sono molto vicine a quelle di verifica dei metodi (punto 7.3.2), forse troverebbe qui una migliore collocazione.⁹⁵

Le Raccomandazioni SIPMeL sostengono in definitiva la necessità di verificare le differenze tra strumenti nel laboratorio, nell'ambito delle verifiche iniziali e periodiche, usando metodologie validate da guide riconosciute. Non condividono l'affiancamento delle verifiche di differenza alle attività consolidate di monitoraggio dei risultati, CQI e VEQ.

Per sostenere l'approccio più conveniente e pratico per la comparazione di strumenti, la Raccomandazione Q19 richiama la prassi descritta dalla guida CLSI EP31 al punto 6.1.3.1, quella che, prevedendo solo la verifica iniziale e il monitoraggio continuo con il CQI, consuma meno risorse, tempo, energia e non richiede statistiche sofisticate.

Le Raccomandazioni SIPMeL Q19 forniscono ai laboratori uno strumento per prepararsi all'accreditamento ISO 15189 con la nuova revisione e rimangono aperte al confronto con ogni tipo di contributo costruttivo.

Bibliografia

1. UNI EN ISO 15189:2023. Laboratori medici - Requisiti riguardanti la qualità e la competenza. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2023.
2. Pradella M. Requisiti dei laboratori medici, forensi, antidoping e alimentari: nuove ISO 15189 e ISO 17025. Riv Ital Med Lab 2019;15:252-62.
3. UNI EN ISO 22367:2020. Laboratori medici - Applicazione della gestione del rischio ai laboratori medici. Milano, Italia: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2020.
4. SIPMeL. Q17_Raccomandazioni per Accredimento ISO1 15189 del laboratorio medico: requisiti della fase dei prelievi (preesame); 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.sipmel.it/it/lineeguida/approvate/121258> [citato il 6 giugno 2024].
5. Pradella M. Le Raccomandazioni SIPMeL per l'accreditamento ISO dei processi dei prelievi (preesame). Riv Ital Med Lab 2024. [Epub ahead of print]
6. SIPMeL. Q18R1 informazioni Raccomandazioni per Accredimento ISO1 15189 del laboratorio medico: processi della gestione dati e informazioni; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.sipmel.it/it/lineeguida/approvate/121260> [citato il 6 giugno 2024].
7. Pradella M. Le Raccomandazioni SIPMeL per l'accreditamento ISO della gestione dati e informazioni. Riv Ital Med Lab 2024. [Epub ahead of print]
8. SIPMeL Q19 Raccomandazioni per Accredimento ISO 15189 del laboratorio medico: processi di esame, validità dei risultati degli esami; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.sipmel.it/it/lineeguida/approvate/121264> [citato il 6 giugno 2024].
9. UNI EN ISO 9000:2015. Sistemi di gestione per la qualità - Fondamenti e vocabolario. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2015.
10. Burlina A. La visione olistica della qualità. Med Lab (Ed Ital) 1993;3:77-8.
11. Cappelletti P. Fattori Critici di Successo per il Laboratorio Clinico. Riv Ital Med Lab 2015;11:61-8.
12. ISO 15198:2004. Clinical laboratory medicine — In vitro diagnostic medical devices — Validation of user quality control procedures by the manufacturer. Ginevra: International Organization for Standardization; 2004.
13. CLSI. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions. CLSI document C24-A4. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2016.
14. Joint Commission for Guides in Metrology (JCGM). International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM). Terza edizione; 2012 [Internet]. https://www.bipm.org/documents/20126/2071204/JCGM_200_2012.pdf [citato il 6 giugno 2024].
15. Commissione SIPMeL Qualità Accredimento. Q11P1 Raccomandazioni per il controllo di qualità interno: compiti del produttore di diagnostici in vitro; 2019 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.sipmel.it/it/risorse/gruppi/documenti/documento/114668> [citato il 6 giugno 2024].
16. Pradella M. Produttore di diagnostici e laboratorio medico alleati per il controllo di qualità dei risultati: ritardi e novità. Riv Ital Med Lab 2020;16:73-7.
17. Pradella M. Alliance of IVD manufacturer and medical laboratory for quality control of results. Adv Lab Med 2021;2:137-40.
18. Westgard JO. Six Sigma Quality Design & Control: Desirable Precision and Requisite QC for Laboratory Measurement Processes. Seconda edizione. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2006.
19. ISO/TS 20914:2019. Medical laboratories — Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty. Ginevra: International Organization for Standardization; 2019.
20. CLSI. Quality Assurance of Laboratory Tests for Autoantibodies to Nuclear Antigens: (1) Indirect Fluorescence Assay for Microscopy and (2) Microtiter Enzyme Immunoassay Methods. CLSI document I/LA02-2. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2006.
21. CLSI. Assessing the Quality of Immunoassay Systems: Radioimmunoassays and Enzyme, Fluorescence, and Luminescence Immunoassays; Approved Guideline. CLSI document I/LA23-A. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2004.
22. CLSI. Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document I/LA28-A2. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2009.
23. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 3rd ed. CLSI supplement M27M44S. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2022
24. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 4th ed. CLSI document M27-4. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2017
25. CLSI. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline. CLSI document M50-A Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2008.
26. CLSI. Methods for the Identification of Cultured Microorganisms Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. 1st ed. CLSI guideline M58. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2017
27. Cuénod A, Aerni M, Bagutti C, Bayraktar B, Boz ES, Carneiro CB, et al.: ESGMD study group. Quality of MALDI-TOF mass spectra in routine diagnostics: results from an international external quality assessment including 36 laboratories from 12 countries using 47 challenging bacterial strains. Clin Microbiol Infect 2023;29:190-9.
28. UK Standards for Microbiology Investigations. Quality assurance in the diagnostic infection sciences laboratory. Quality Guidance Q 2 Issue no: 8, 2021 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.gov.uk/gov->

ernment/publications/smi-q-2-quality-assurance-in-the-diagnostic-virology-and-serology-laboratory [citato il 6 giugno 2024].

29. Badrick T, Giannoli JM. Managing the Quality Control of multiple instruments. *Clin Chem Lab Med* 2023;62:e62-4.

30. Zhou Q, Loh TP, Badrick T, Lim CY. Impact of combining data from multiple instruments on performance of patient-based real-time quality control. *Biochem Med (Zagreb)* 2021;31:020705.

31. Westgard JO. Seeking Common ground on common means, common standard deviations, for multiple instruments and multiple laboratories; 2019 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.westgard.com/questions/842-means-for-multiples.html> [citato il 6 giugno 2024].

32. UNI EN ISO 17511:2021. Dispositivi medico-diagnostici in vitro - Requisiti per stabilire la tracciabilità metrologica dei valori assegnati ai calibratori, ai materiali di controllo della correttezza e campioni umani. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2021.

33. Pradella M. Taratura, armonizzazione e standardizzazione nelle nuove ISO 17511 e ISO 2115. *Riv Ital Med Lab* 2020;16:129-31.

34. van Anel E, Henricks LM, Giliams AP, Noordervliet RM, Mensink WJ, Filippo D, *et al.* Moving average quality control of routine chemistry and hematology parameters - a toolbox for implementation. *Clin Chem Lab Med* 2022;60:1719-28.

35. van Rossum HH, van den Broek D. Design and implementation of quality control plans that integrate moving average and internal quality control: incorporating the best of both worlds. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:1329-38.

36. van Rossum HH. Technical quality assurance and quality control for medical laboratories: a review and proposal of a new concept to obtain integrated and validated QA/QC plans. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2022;59:586-600.

37. Cembrowski GS. Use of patient data for quality control. *Clin Lab Med* 1986;6:715-33.

38. Flatland B, Freeman KP. Repeat patient testing quality control (RPT-QC): background and theory. *Vet Clin Pathol* 2024;53(Suppl 1):24-30.

39. Westgard JO. Basic QC Practices. Fourth Edition. Training in Statistical Quality Control for Medical Laboratories. Westgard QC; 2016.

40. UNI ISO 17822:2023. Sistemi di test diagnostici in vitro - Procedure di esame basate sull'amplificazione degli acidi nucleici - Guida pratica per la qualità nei laboratori. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2023.

41. Pradella M. ISO 17822, la qualità per esami con amplificazione di acidi nucleici. *Riv Ital Med Lab* 2020;16:4-6.

42. CLSI. Molecular Testing for Heritable Genetics and Specimen Identification. CLSI document MM01-4. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2023.

43. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. 3rd ed. CLSI report MM03. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2015.

44. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Solid Tumors (Nonhematological Neoplasms). 1st ed. CLSI guideline MM23. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2015.

45. CLSI. Human Genetic and Genomic Testing Using Traditional and High Throughput Nucleic Acid Sequencing Methods. CLSI guideline MM09-3. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2023.

46. UNI ISO 20397-2:2022. Biotecnologie - Sequenziamento massivo parallelo - Parte 2: Valutazione della qualità dei dati di sequenziamento. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2022.

47. Pradella M. Qualità dei metodi di sequenziamento massivo parallelo/sequenziamento di nuova generazione (MPS/NGS). *Riv Ital Med Lab* 2023;19:138-44.

48. Werner R, Connolly A, Bennett M, Hand CK, Burke L. Implementation of an ISO15189 accredited next-generation sequencing service with the fully automated Ion Torrent Genexus: the experience of a clinical diagnostic laboratory. *J Clin Pathol* 2024;77:278-83.

49. CLSI. Fluorescence In Situ Hybridization Methods for Clinical Laboratories. CLSI document MM07-A2. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2013.

50. CLSI. Quality Management for Molecular Genetic Testing: Approved Guideline. CLSI document MM20-A. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2012.

51. CLSI. Microarrays for Diagnosis and Monitoring of Infectious Diseases. CLSI guideline MM22-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.

52. CLSI. Molecular Methods for Genotyping and Strain Typing of Infectious Organisms. 1st ed. CLSI guideline MM24-A. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2021.

53. New York State Department of Health. Validation of next generation sequencing (NGS)-based methods for identification and/or characterization of infectious agents (isolates only); 2016 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.wadsworth.org/sites/default/files/WebDoc/ID%20WGS%20NGS%20Molecular%20Guidelines%20for%20Isolates.pdf> [citato il 6 giugno 2024].

54. CLSI. Quality Management: Approaches to Reducing Errors at the Point of Care. CLSI document POCT07-A. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2010.

55. CLSI. Point-of-Care Coagulation Testing and Anticoagulation Monitoring. CLSI guideline POCT14-A2. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2020.

56. Laboratory Quality Management System. Chap. 8. Process control—quality control for qualitative and semiquantitative procedures; 2011 [Internet]. Disponibile alla pagina: https://www.accab.org/wp-content/uploads/2020/10/lqms_en-handbook.pdf [citato il 6 giugno 2024].

57. Bettencourt da Silva R, Ellison SI. Eurachem/CITAC Guide: Assessment of performance and uncertainty in qualitative chemical analysis. Eurachem; 2021 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/performance-and-uncertainty-in-qualitative-analysis> [citato il 6 giugno 2024].

58. UNI ISO/TR 27877:2021. Analisi statistica per valutare la precisione dei metodi di misurazione binari e i loro risultati. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2021.

59. ISO/TS 16393:2019. Molecular biomarker analysis — Determination of the performance characteristics of qualitative measurement methods and validation of methods. Ginevra: International Organization for Standardization; 2019.

60. Pradella M. New Guides for Uncertainty of Qualitative Results. *J Appl Lab Med* 2023;8:217-8.

61. Pradella M. Precision and uncertainty of results: examples of application of SIPMeL Recommendations. 6° Congresso Nazionale SIPMeL; 2021 [Internet]. Disponibile alla pagina: [citato il 6 giugno 2024].

62. Pradella M. Easiness of Uncertainty Estimation and Use for Quantitative and Qualitative Results According to ISO. 2022 AACC Annual Scientific Meeting; 2022 [Internet]. Disponibile alla pagina: [citato il 6 giugno 2024].

63. Accredia RT-35 rev.02 – Prescrizioni per l'accreditamento dei laboratori medici – UNI EN ISO 15189:2023. Roma: Accredia; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.accredia.it/documento/rt-35-rev-02-prescrizioni-per-laccreditamento-dei-laboratori-medici-uni-en-iso-151892023/> [citato il giugno 2024].

64. CLSI. Using Proficiency Testing and Alternative Assessment to Improve Medical Laboratory Quality. CLSI document QMS24-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.

65. CLSI. Design of Molecular Proficiency Testing/External Quality Assessment. CLSI document MM14-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

66. CLSI. Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays. CLSI document I/LA28-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.

67. Chmura Kraemer H, Periyakoil VS, Noda A. Kappa coefficients in medical research. *Stat Med* 2002;21:2109-29.

68. Raggi CC, Pinzani P, Paradiso A, Pazzagli M, Orlando C. External quality assurance program for PCR amplification of genomic DNA: an Italian experience. *Clin Chem* 2003;49:782–91.
69. Brown J, Donev AN, Aslanidis C, Bracegirdle P, Dixon KP, Foedinger M, *et al.* Observational study on variability between biobanks in the estimation of DNA concentration. *BMC Res Notes* 2009;2:208.
70. Patton SJ, Wallace AJ, Elles R. Benchmark for evaluating the quality of DNA sequencing: proposal from an international external quality assessment scheme. *Clin Chem* 2006;52:728–36.
71. Ramsden SC, Daly S, Geilenkeuser WJ, Duncan G, Hermitte F, Marubini E, *et al.* EQUAL-quant: an international external quality assessment scheme for real-time PCR. *Clin Chem* 2006;52:1584–91.
72. Pasotti F, Pellegrinelli L, Liga G, Rizzetto M, Azzarà G, Da Molin S, *et al.* First Results of an External Quality Assessment (EQA) Scheme for Molecular, Serological and Antigenic Diagnostic Test for SARS-CoV-2 Detection in Lombardy Region (Northern Italy), 2020-2022. *Diagnostics (Basel)* 2022;12:1483.
73. Quality B. The Role of EQA; 2024 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://birminghamquality.org.uk/role-of-eqa/> [citato il 6 giugno 2024].
74. Braga F, Pasqualetti S, Panteghini M. The role of external quality assessment in the verification of in vitro medical diagnostics in the traceability era. *Clin Biochem* 2018;57:23–8.
75. Regolamento (Ue) 2017/746 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 5 aprile 2017 relativo ai dispositivi medico-diagnostici in vitro e che abroga la direttiva 98/79/CE e la decisione 2010/227/UE della Commissione; 2010 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0746&from=LV> [citato il 6 giugno 2024].
76. Sciacovelli L, Padoan A, Aita A, Basso D, Plebani M. Quality indicators in laboratory medicine: state-of-the-art, quality specifications and future strategies. *Clin Chem Lab Med* 2023;61:688–95.
77. Monogioudi E, Martos G, Hutu DP, Schimmel H, Meroni PL, Sheldon J, *et al.* Standardization of autoimmune testing - is it feasible? *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1734–42.
78. Sack U, Bossuyt X, Andreeva H, Antal-Szalmás P, Bizzaro N, Bogdanos D, *et al.*; European Autoimmunity Standardisation Initiative. Quality and best practice in medical laboratories: specific requests for autoimmunity testing. *Auto Immunity Highlights* 2020;11:12.
79. Badrick T. Integrating quality control and external quality assurance. *Clin Biochem* 2021;95:15–27.
80. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). External quality assessment (EQA) of the performance of laboratories participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net); 2022 [Internet]. Disponibile alla pagina: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/EQA-20220125-31.pdf> [citato il 6 giugno 2024].
81. CLSI. Verification of Comparability of Patient Results Within One Health Care System; Approved Guideline (Interim Revision). CLSI document EP31-A-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
82. CLSI. Verification of Comparability of Patient Results Within One Health Care System Implementation Guide. CLSI document EP31IG. First edition; 2022. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.
83. Linnet K. The exponentially weighted moving average (EWMA) rule compared with traditionally used quality control rules. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:396–9.
84. Stöckl D, Dewitte K, Fierens C, Thienpont LM. Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose by error grid analysis: comment on constructing the “upper A-line”. *Diabetes Care* 2000;23:1711–2.
85. Parkes JL, Slatin SL, Pardo S, Ginsberg BH. A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose. *Diabetes Care* 2000;23:1143–8.
86. CLSI. Verification of Comparability of Patient Results Within One Health Care System Workbook. 1st ed. CLSI workbook EP31-Ed1-WB. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.
87. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI guideline EP09c-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
88. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999;8:135–60.
89. Wang Q, Du J, Chen L, Du Y, Luo W. Comparison of POCT glucose meters and analysis of the interference factor. *J Lab Med* 2022;46:195–201.
90. Wei H, Lan F, He Q, Li H, Zhang F, Qin X, *et al.* A Comparison Study Between Point-of-Care Testing Systems and Central Laboratory for Determining Blood Glucose in Venous Blood. *J Clin Lab Anal* 2017;31:e22051.
91. Petersen JR, Graves DF, Tacker DH, Okorodudu AO, Mohammad AA, Cardenas VJ Jr. Comparison of POCT and central laboratory blood glucose results using arterial, capillary, and venous samples from MICU patients on a tight glycemic protocol. *Clin Chim Acta* 2008;396:10–3.
92. Pradella M, Cesana BM. Linee guida per il confronto di procedure di esami di laboratorio: utilizzo delle indicazioni di CLSI EP09-A3 ed EP31-A-IR. *Riv Ital Med Lab* 2016;12:26–35.
93. Nam Y, Lee JH, Kim SM, Jun SH, Song SH, Lee K, *et al.* Periodic Comparability Verification and Within-Laboratory Harmonization of Clinical Chemistry Laboratory Results at a Large Healthcare Center With Multiple Instruments. *Ann Lab Med* 2022;42:150–9.
94. Pradella M. Alcune certezze dell'incertezza di misura: nuova ISO 20914 e raccomandazioni SIPMeL. *Riv Ital Med Lab* 2021;17:200–8.
95. Pradella M. New ISO standards for medical biology laboratories, prescriptions and deviations. *Ann Biol Clin (Paris)* 2022;80:451–3.

Conflitti di interesse

L'autore dichiara di non avere conflitti di interesse con alcuna ditta legata al contenuto del manoscritto.

Studi condotti su esseri umani e animali

Per questo tipo di studio non è richiesto l'inserimento di alcuna dichiarazione relativa agli studi effettuati su esseri umani e animali.

Consenso informato

Per questo tipo di studio non è richiesto il consenso informato.

Cronologia

Pubblicato online: 8 luglio 2024. - Accettato: 6 giugno 2024. - Ricevuto: 15 aprile 2024.