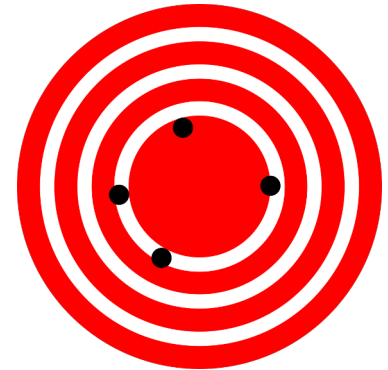
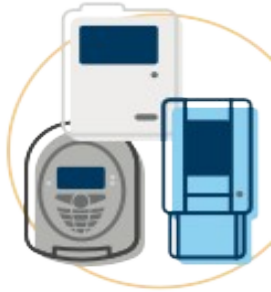


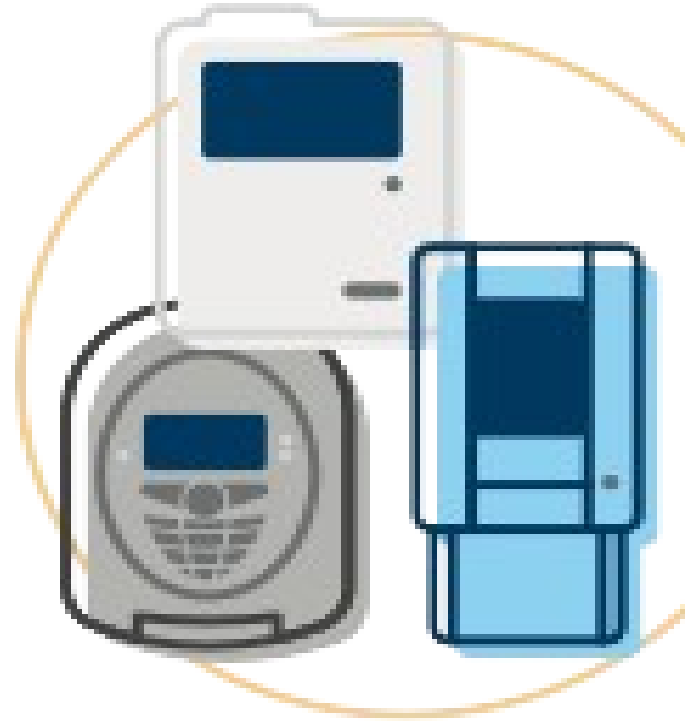
# UNI EN ISO 15189:2023: focus su POCT ed incertezza di misura



*Marco Pradella - Comitato settoriale di Accreditamento DL*

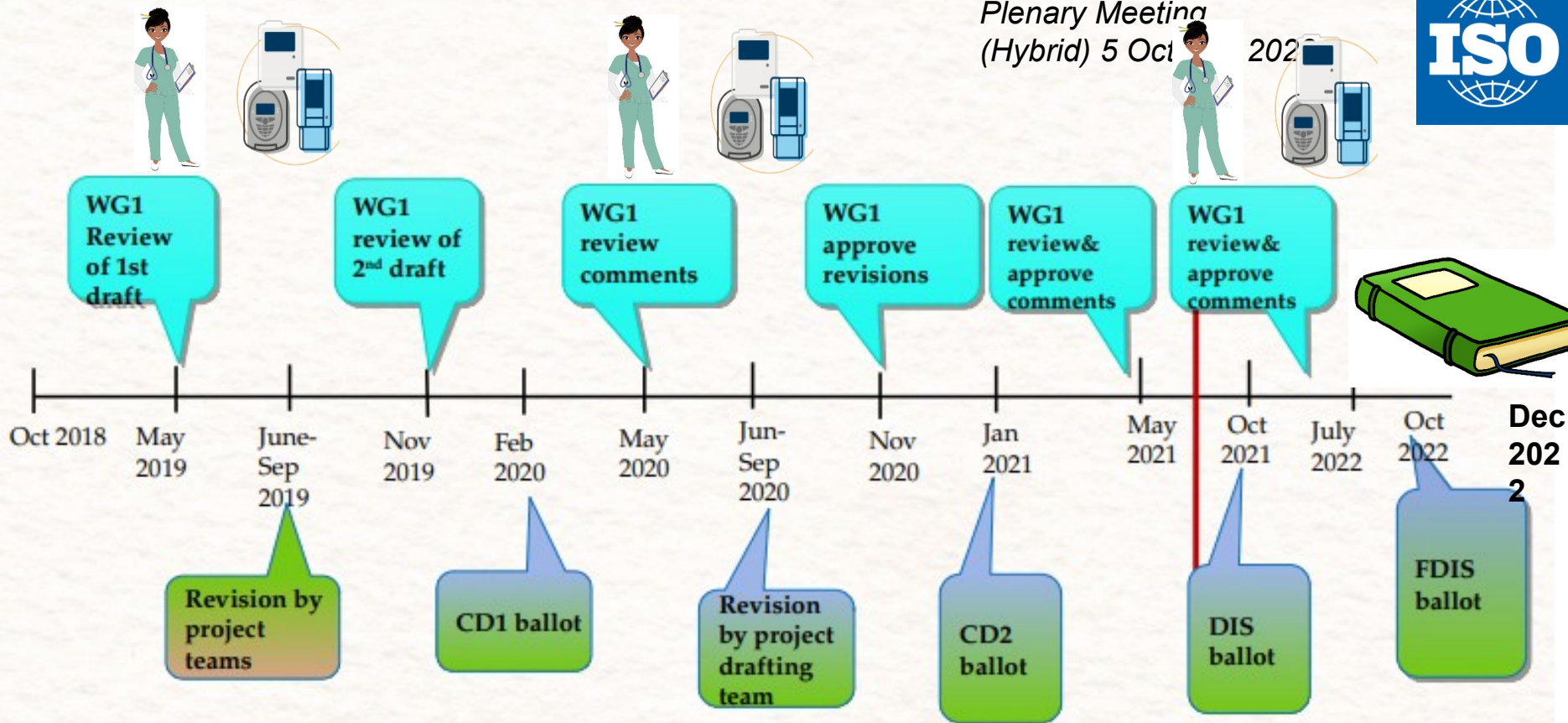
**16:20 – 16:40**

# POCT



## ISO 15189 Revision timeline

Modificato da ISO/TC212 WG1  
Quality and competence in the medical  
laboratory  
Report to the ISO/TC212 Opening  
Plenary Meeting  
(Hybrid) 5 Oct 2021





**raccomandazioni CASCO\***



- 1) modello ISO/IEC17025:2017
- 2) procedimento come revisione di ISO/IEC17025
- 3) redazione da parte di piccoli gruppi, revisione del testo dell'intero gruppo del progetto, revisione da parte del WG1 and TC ISO 212

**4) inclusione di ISO 22870 (POCT)**

- 5) riferimenti a
- 6) ISO 15190 (salute e sicurezza),
- 7) ISO 22367 (gestione del rischio)

\* **Committee on conformity assessment**

**ISO TC212 WG1  
project revision team**

*2020 Principi guida per la revisione della ISO 15189*



... Riferimento ISO / IEC 17025,  
... meno prescrittivo, basato sul rischio e collegato a cura del paziente.

**... includerà aspetti rilevanti del POCT eseguito sotto il controllo del laboratorio.**

... prenderà in considerazione altri documenti ISO pubblicati pertinenti, con l'obiettivo di evitare anche ripetizioni ridondanti, come sincronizzazione delle clausole pertinenti in ISO 15190, ISO 22367, ISO TS 20658, ISO 17511, ISO TS 20914 e la suite di standard diagnostici molecolari sviluppato da ISO TC 212 WG 4.

## Accreditamento dei POCT con la nuova ISO 15189 e ISO 22583: le raccomandazioni SIPMeL

La Rivista Italiana della Medicina di  
Laboratorio 2019  
Settembre;15(3):225-32



# tipologie di POCT ?

## 1 - POCT

dipendente dal  
Laboratorio



## 2- POCT

autonomo



**ISO/TS  
22583.2019**

**ISO  
15189:2022**



# Guidance for supervisors and operators of point-of-care testing (POCT) devices

## 4 *Personale*

- *4.1 Supervisor*
- *4.2 Operatori*
  - *4.2.2 Formazione*
  - *4.2.3 Competenza*





**1 Ambito di applicazione**



**2 Riferimenti normativi**

**3 Termini e definizioni**



**4 Requisiti generali**

**5 Requisiti strutturali e di direzione**

**6 Requisiti delle risorse**

**7 Requisiti di processo**

**8 Requisiti del sistema di gestione**



## Allegato A

(normativo)

**Requisiti aggiuntivi per gli esami point-of-care (POCT)**







## A.1 generale

- ISO/TS 22583, ISO 15190, ISO 22367

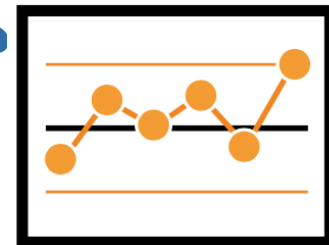
## A.2 Governo del **POCT**

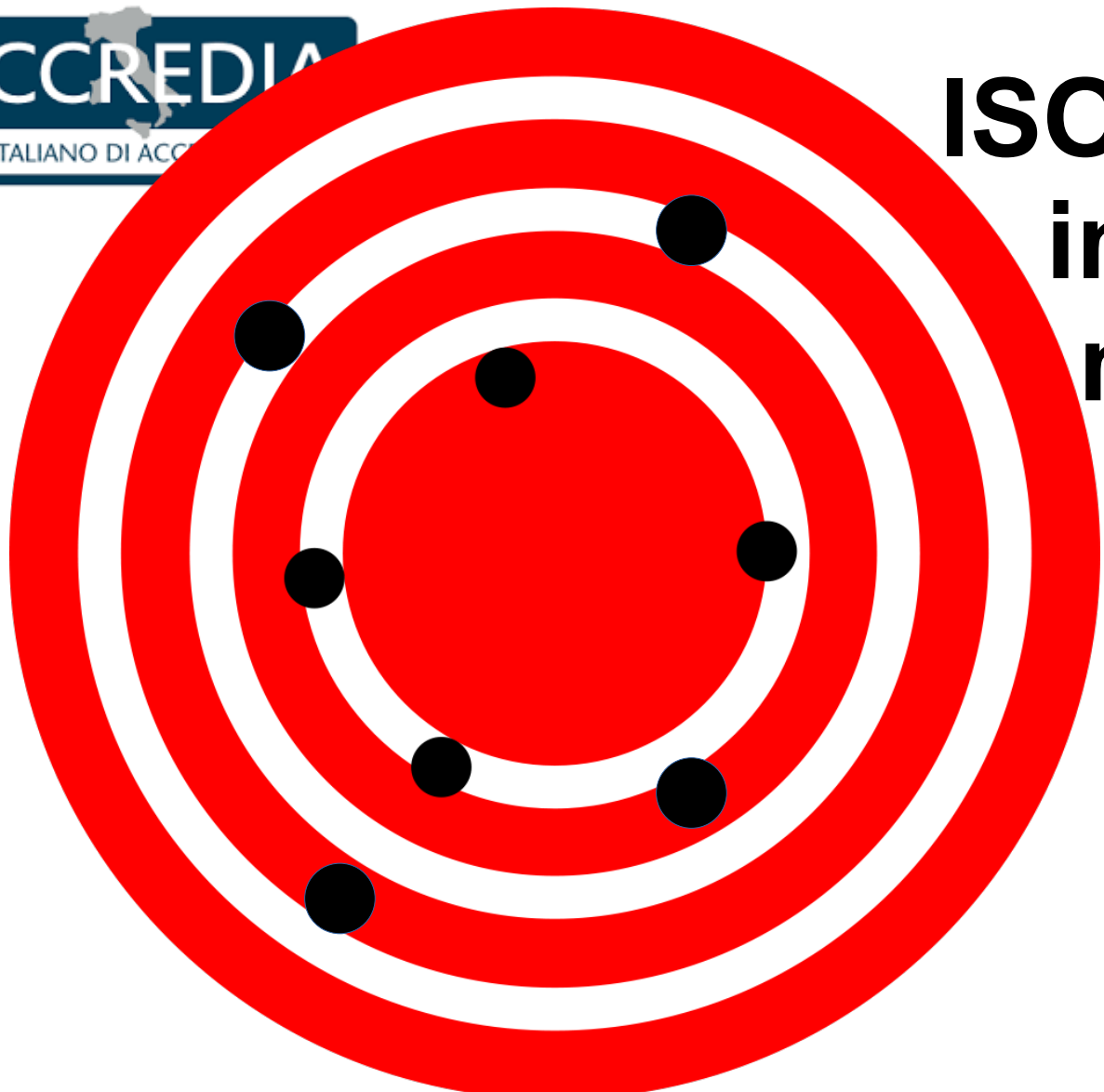
- Monitoraggio accuratezza e qualità dei **POCT** ....
- **accordi di servizio** tra laboratorio e sedi che utilizzano **POCT**
- approvati dal punto di vista **clinico** e, se del caso, **finanziario**.
- gruppo professionale (ad es. **comitato medico consultivo**).



## A.2 garanzia di qualità del **POCT**

## A.4 formazione del **POCT**





# ISO 15189:2022: incertezza di misura, MU

# ISO 15189:2022:

## incertezza di misura, MU



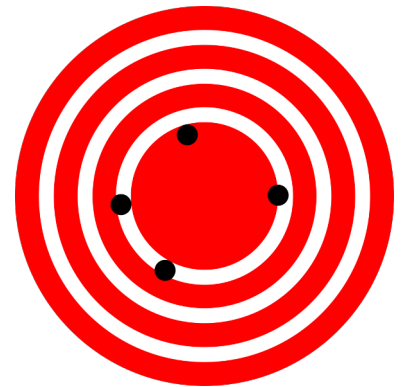
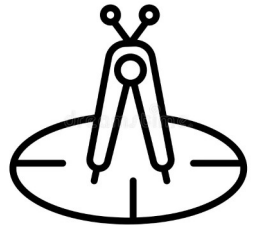
- **3.19 incertezza di misura, MU**
- **3.32 verifica**
- **6.4.3 accettazione dell'apparecchiatura**
- **6.5.3 Tracciabilità metrologica dei risultati**
- **7.3.4 Valutazione dell'incertezza di misura**

# ISO 15189:2022:

## 3.19 incertezza di misura, MU

*Nota 7:*

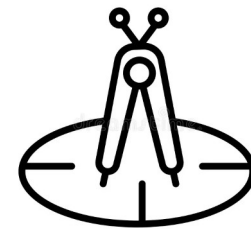
- *... l'incertezza dei valori assegnati al **calibratore** e*
- *l'imprecisione a lungo termine dei materiali del **CQI**.*



# ISO 15189:2022:

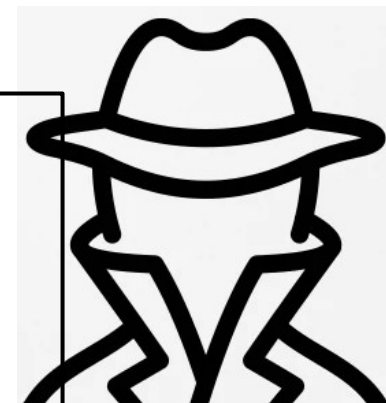
## 3.19 incertezza di misura, MU

*Nota 1 ... MU include componenti derivanti da effetto sistemático ...*



3.29 esattezza - qualitativi = **concordanza**  
(% corrispondenza con riferimento)

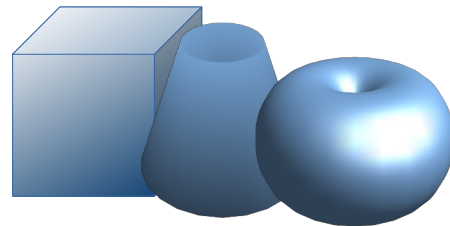
3.xx precisione – qualitativi??



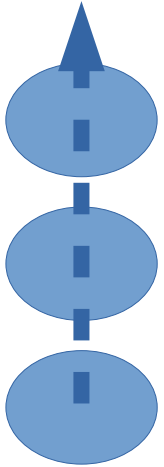
# ISO 15189:2022:

## 3.8 esame

Insieme di operazioni che hanno l'obiettivo di determinare il valore **numerico**, il valore **testuale** o le **caratteristiche** di una proprietà.



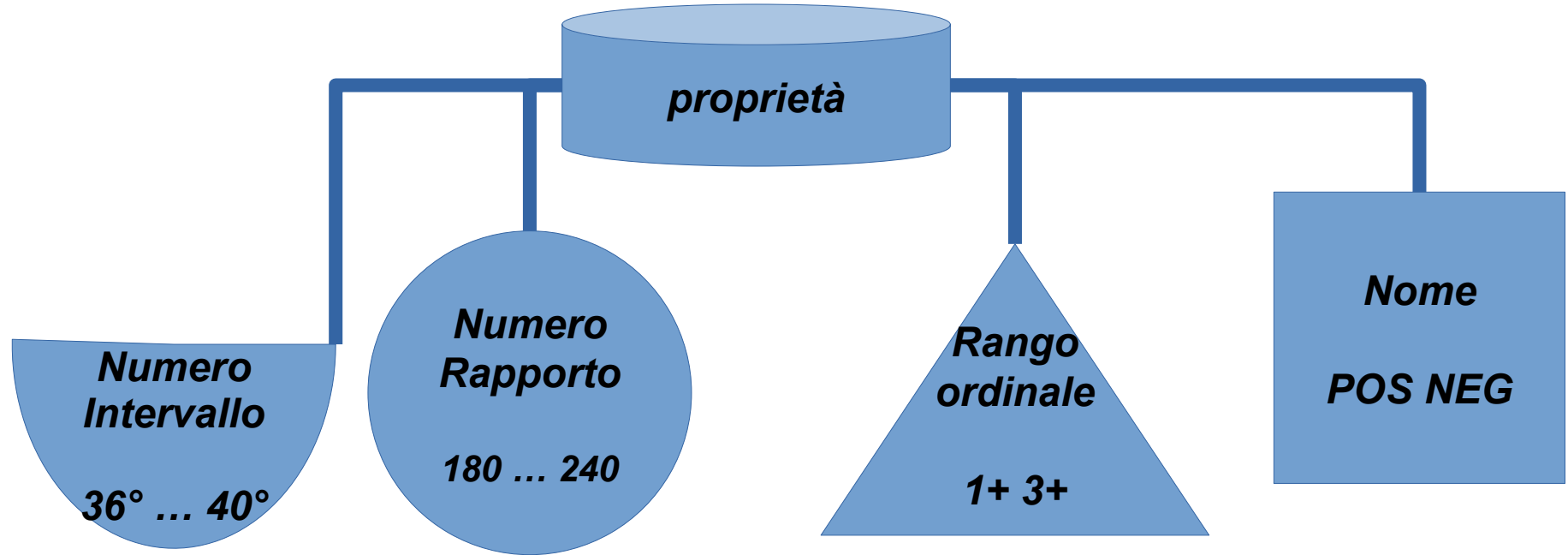
*Nota 1 alla voce: Un esame può essere **il totale di un certo numero di attività, osservazioni o misurazioni** necessarie per determinare un valore o una caratteristica.*



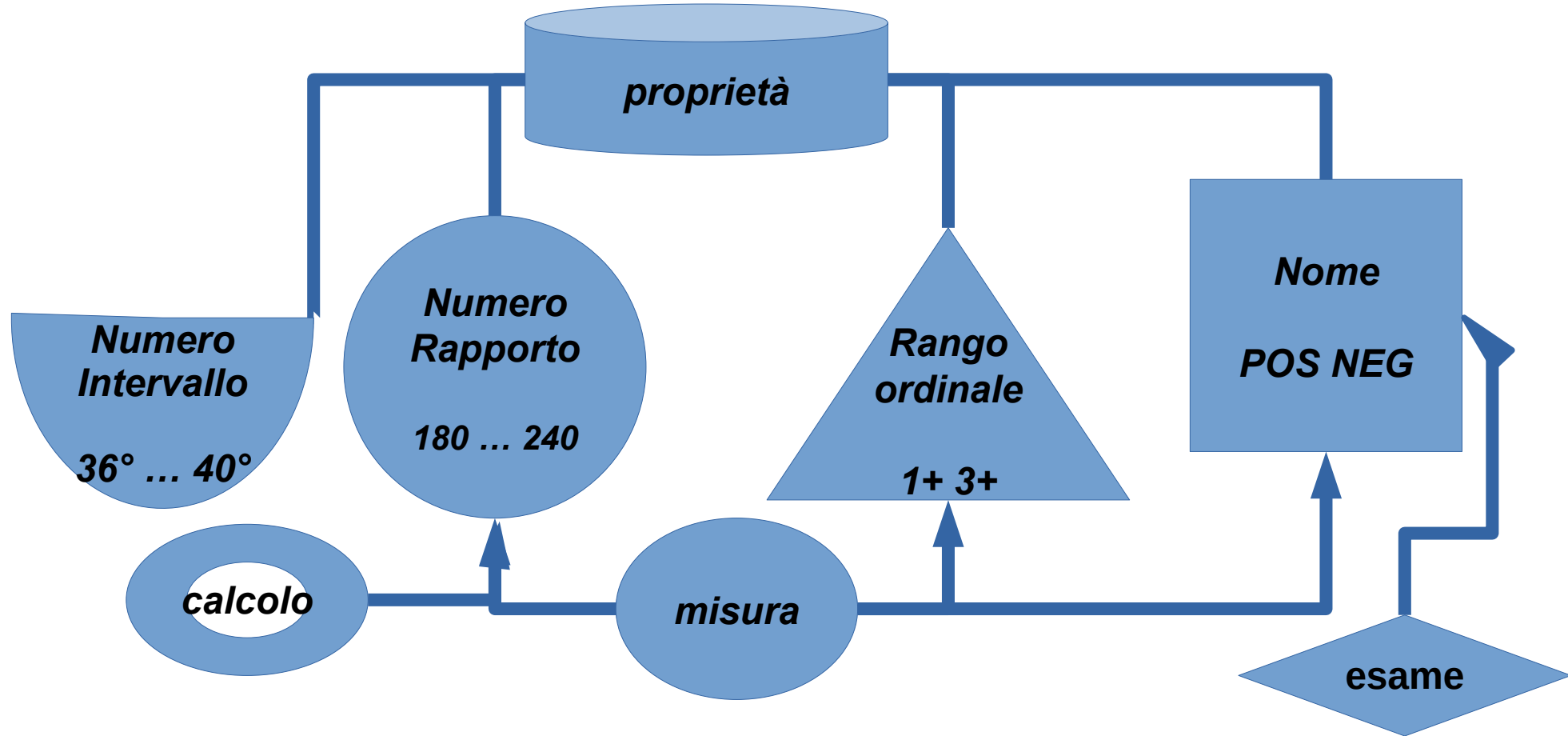
*Nota 2 alla voce: Gli esami di laboratorio che determinano un valore **numerico** di una proprietà sono chiamati "esami quantitativi"; quelli che determinano le **caratteristiche** di una proprietà sono chiamati "esami qualitativi".*



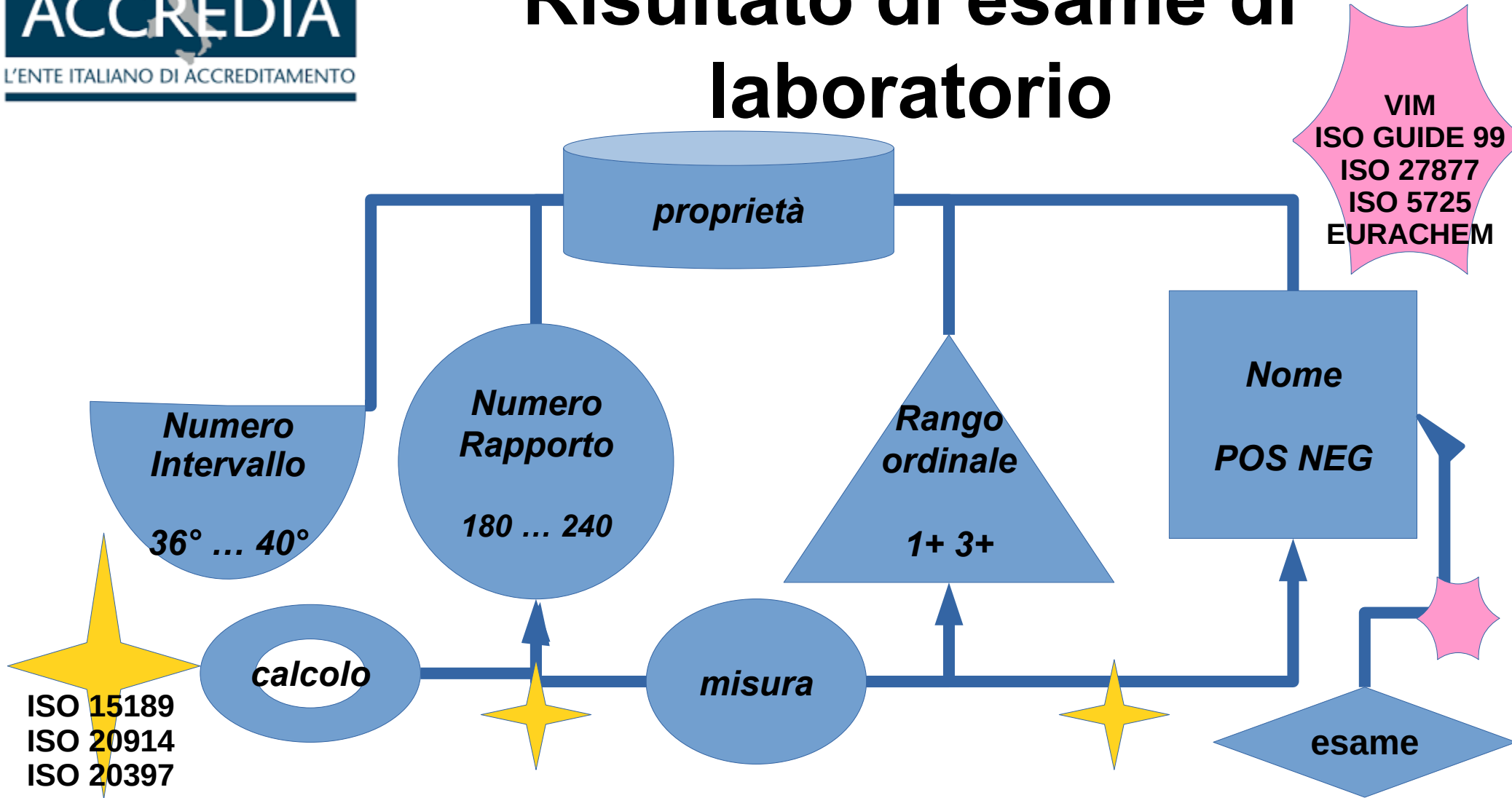
# Risultato di esame di laboratorio



# Risultato di esame di laboratorio



# Risultato di esame di laboratorio



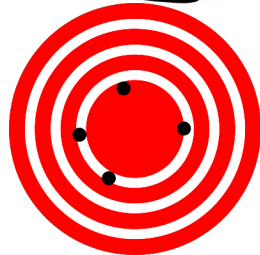
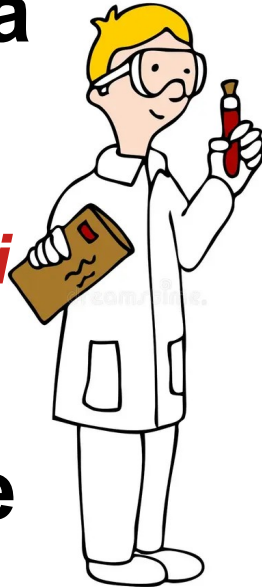
## 7.3.4 Valutazione dell'incertezza di misura (MU)

**a) Valutata mantenuta  
confrontata**

*Nota: dettagli esempi  
ISO/TS 20914 .*

**b) Revisione regolare**

**c) Motivazione  
esclusione**



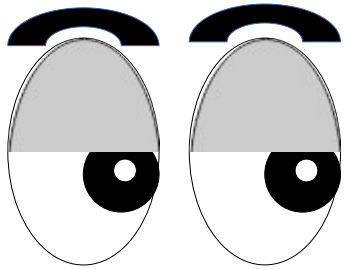
**f) POS NEG da soglia  
g) intermedie + CQI**

**d) Su richiesta  
e) Altre fonti**



# ISO/TS 20914:2019

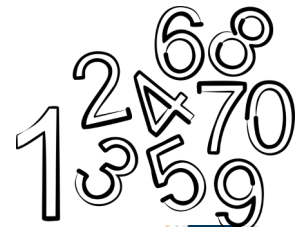
## Laboratori medici - Guida pratica per la stima dell'incertezza di misurazione



# ISO/TS 20914:2019

**1 – campo di applicazione**

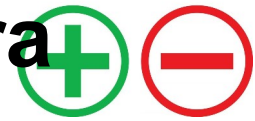
... numeri ...



... point-of-care ...



... nomi da misura



... su richiesta ...



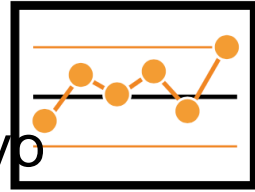
## 5.1 Concetto

... imprecisione a lungo termine ( $U_{Rw}$ ) ...



## 5.5 Uso

... ST assoluto ( $u$ ), ST relativo ( $u_{rel}$ ), % CV (% $u_{rel}$ ) del CQI



## 6.2 Precisione

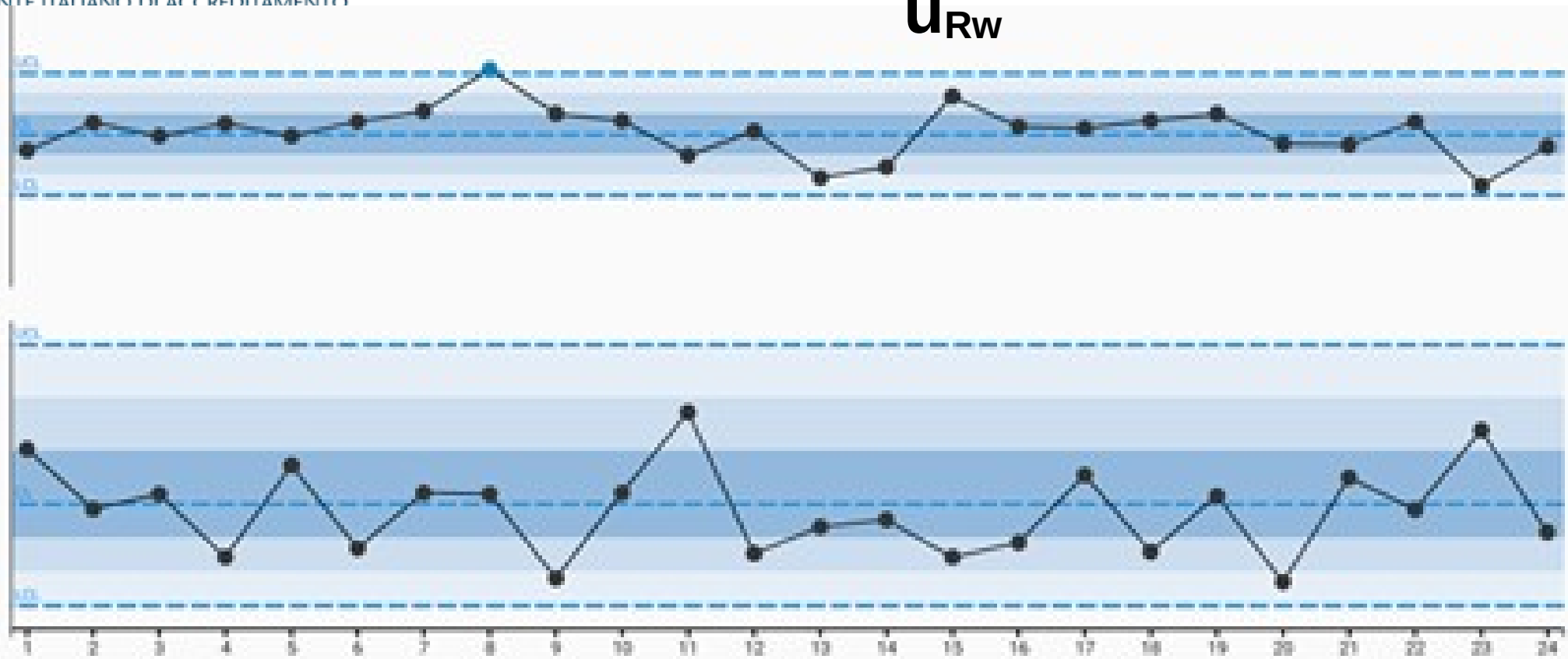
... più livelli di CQI ...





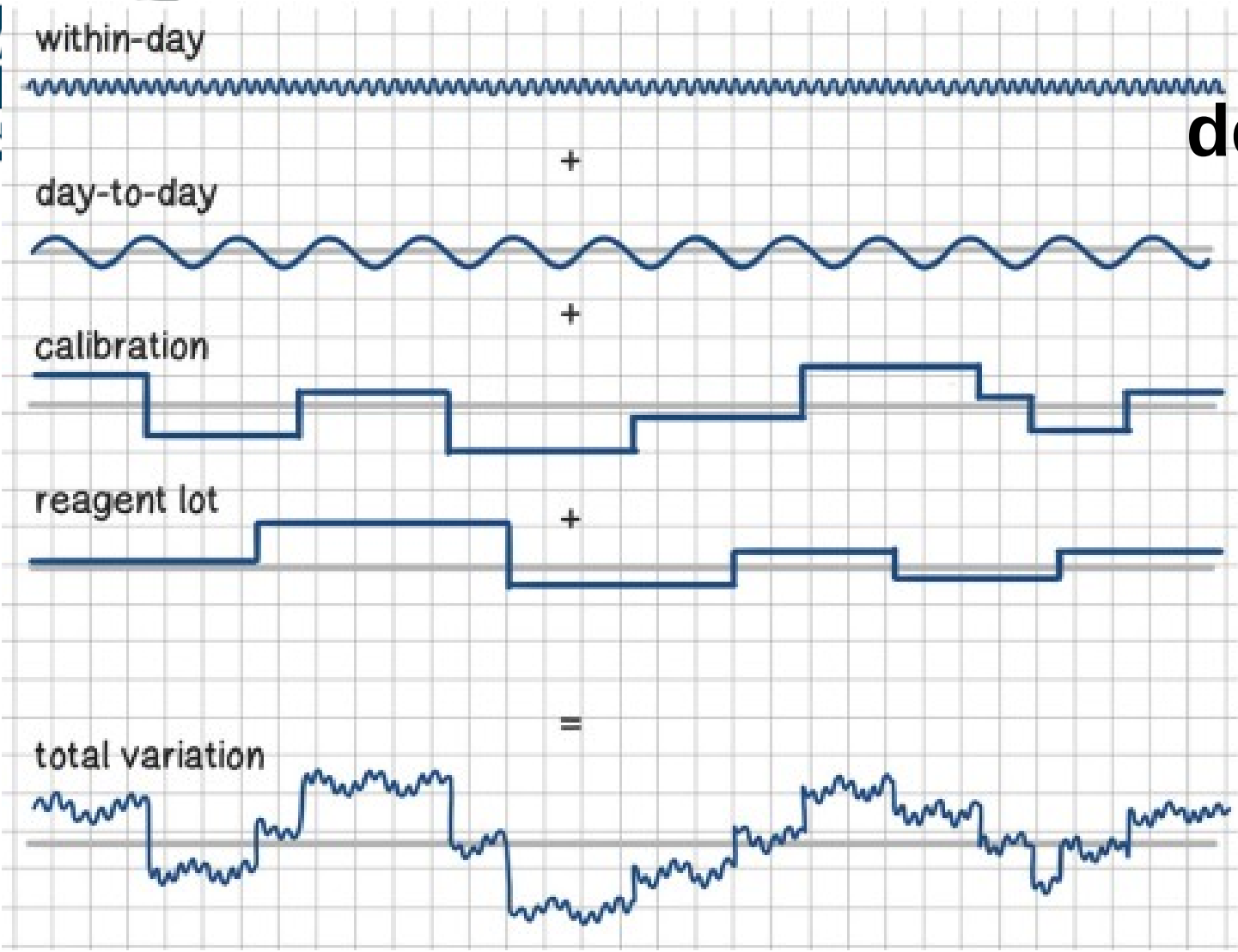
# Precisione (*random*) a lungo termine

$$U_{Rw}$$



*dati di precisione per una determinata procedura di misurazione ottenuti in un periodo di tempo prolungato che a un certo punto include gli effetti di tutti o della maggior parte dei cambiamenti nelle condizioni di misurazione*

# Componenti della variabilità



*van Schrojenstein  
Lantman et al.  
EFLM Working  
Group Accreditation.  
Clin Chem Lab Med  
2022; 60(5): 681–  
688*

**Tabella A.1 - u in condizioni di  
precisione a lungo termine**

**sodio nel siero, nel  
plasma e nelle urine**

**unità mmol/l**



**elettrodo selettivo per  
il sodio - Indiretto**

**Tracciabilità del calibratore  
SRM 919b**


**Incertezza del calibratore  
(ucal) **0,71** mmol/l**

**Scarto sistematico da EQA  
- materiale commutabile con  
valore assegnato (ISO  
15195): non significativo  
dal punto di vista medico**

# ISO/TS 20914:2019

## Tabella A.1 - u in condizioni di precisione a lungo termine

Intermediate precision	Plasma IQC Level 1 Lot 576	Plasma IQC Level 2 Lot 586	Urine IQC Lot 884
Data collection period	2012-02-09 to 2013-05-13	2012-02-09 to 2013-05-13	2012-02-09 to 2013-05-13
N	342	338	122
Mean value mmol/l	134,8	149,8	86,4
$u_{Rw}(\text{Na})$ mmol/l	0,85	0,87	0,99
$u(\text{Na}) = \sqrt{(u_{Rw}^2 + u_{cal}^2)}$ mmol/l	$\sqrt{(0,85^2 + 0,71^2)} = 1,11$	$\sqrt{(0,87^2 + 0,71^2)} = 1,12$	$\sqrt{(0,99^2 + 0,71^2)} = 1,22$
$U(\text{Na}); k = 2; \text{ mmol/l}$	2,22	2,24	2,44
% $U_{rel}(\text{Na})$	1,6 %	1,5 %	2,8 %
Applied to patients' results ( $\approx 95$ % confidence)	$\pm 1,6$ %	$\pm 1,5$ %	$\pm 2,8$ %



## A.2.4 Combinazione di incertezze di misura standard indipendenti

**radice quadrata della somma delle varianze che contribuiscono.**

$$AG \text{ mmol/l} = \left( [Na^+] \text{ mmol/l} + [K^+] \text{ mmol/l} \right) - \left( [Cl^-] \text{ mmol/l} + [HCO_3^-] \text{ mmol/l} \right)$$

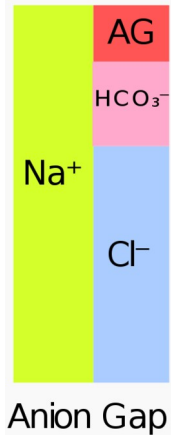
$$u(Na^+) = 0,90 \text{ mmol/l}$$

$$u(K^+) = 0,040 \text{ mmol/l};$$

$$u(Cl^-) = 0,78 \text{ mmol/l}$$

$$u(HCO_3^-) = 1,22 \text{ mmol/l}$$

$$u(AG) = \sqrt{(0,81 + 0,0016 + 0,6084 + 1,4884)} = \sqrt{2,9084} = 1,7054 \text{ mmol/l}$$



## A.2.4 Combinazione di incertezze di misura ...

**radice quadrata della somma delle varianze che contribuiscono.**

$$\text{Osmo/l} = \left[ 2 \times \text{Na}^+ \text{ mmol/l} \right] + \left[ \text{urea mmol/l} \right] + \left[ \text{glucose mmol/l} \right] + 9 \text{ (mOsmo/l)}$$

$$u(\text{Osmo}_{\text{calc}}) = \sqrt{2^2 \times u^2(\text{Na}) + u^2(\text{urea}) + u^2(\text{glu})}$$

$$u^2(\text{Na}) = 0,98^2 = 0,9604;$$

$$u^2(\text{urea}) = 0,19^2 = 0,0361;$$

$$u^2(\text{glu}) = 0,090^2 = 0,0081$$

$$u(\text{Osmo}_{\text{calc}}) = \sqrt{2^2 \times 0,9604 + 0,361 + 0,081} = \sqrt{3,8858} = 1,9712 \text{ mOsmol/l}$$





## A.2.4 ... incertezze componenti da moltiplicare o dividere

**esprese come  
incertezze relative  
standard**

**urine rapporto calcio  
su creatinina  
=  $[Uca]/[Ucrea]$**

$$u[Uca] = 0,040 \text{ mmol/l}$$

$$\% u_{rel}[Uca] = 1,5 \%$$

$$u[Ucrea] = 0,150 \text{ mmol/l}$$

$$\% u_{rel}[Ucrea] = 2,4 \%$$

$$\% u_{rel}[Uca]/[Ucrea] = \sqrt{(1,5^2 + 2,4^2)} = 2,8 \%$$



# ISO/TS 20914:2019

## altri esempi

**A.3.2 Stima di  $u(y)$  utilizzando lotti multipli di reagente**

**A.3.3 lotti multipli di controllo di qualità interno**

**A.4 diversi sistemi di misura identici**

**A.5 anion gap (AG) (alternativa)**

**A.6 stima della velocità di filtrazione glomerulare (eGFR)**

**A.7 globuli bianchi nel sangue intero.**

**A.9 rapporto normalizzato internazionale (INR)**

**A.10 carica virale del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1)**

**A.11 BCR-ABL1 % rapporto su Scala Internazionale (IS)**

**A.12 anticorpi IgG della rosolia (kIU/l - unità arbitrarie)**

**A.13 antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg) (S/Co = Valore indice)**

**A.14 globuli rossi e dei globuli bianchi totali nell'urina con metodo manuale (RBC/ $\mu$ l WBC/ $\mu$ l)**

# ISO/TS 20914:2019

## A.13 antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg)

**Reattività HbsAg in siero/plasma**

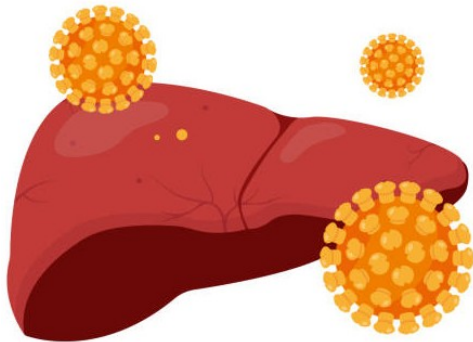
**S/Co = Valore indice**

**Calibratore**

- Tracciabile WHO IRS 00/588

**Scarto sistematico**

- 0,17 – da VEQ - Accettabile



# ISO/TS 20914:2019

## A.13 antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg)

Long-term precision		
Period	09 Mar 15-15 Jun 15	
Calibrator lot 431 Reagent lot 431	$\% U_{cal} = 4,0 \%, k=2$	
IQC	Level 1	Level 2
Lot no.	327	337
<i>N</i>	73	73
Mean Index value	1,38	5,48
$u_{Rw}(\text{HBsAg})$	0,080	0,360
$U_{Rw}; k = 2$	0,160	0,720
$\% U_{Rw}$	$(0,160/1,38) \times 100 = 11,594 20 = 11,6 \%$	$(0,720/5,48) \times 100 = 13,138 69 = 13,1 \%$
$\% U(\text{HBsAg}) = \sqrt{(\% U_{cal}^2 + \% U_{Rw}^2)}$ $\approx 95 \%$ level of confidence	$\sqrt{(4,0^2 + 11,594 20^2)} = 12,264 81 = 12,3 \%$	$\sqrt{(4,0^2 + 13,138 69^2)} = 13,734 09 = 13,7 \%$

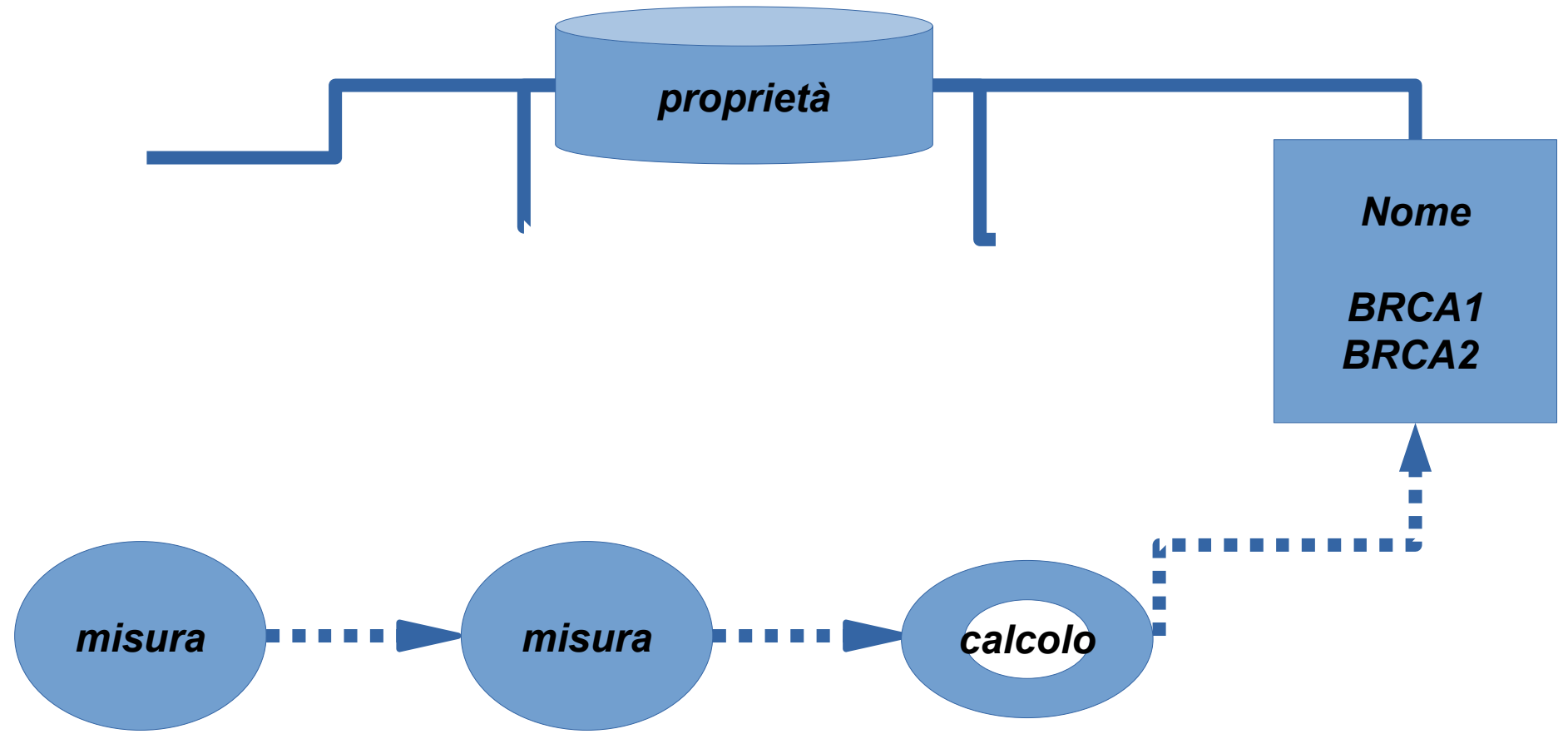
La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio 2023 May 31  
DOI: 10.23736/S1825-859X.23.00190-1



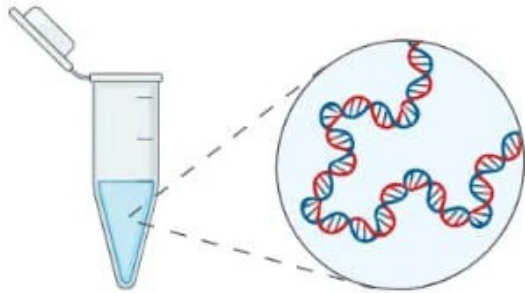
Qualità dei metodi di sequenziamento  
massivo parallelo/sequenziamento  
di nuova generazione (MPS/NGS)

Quality of massively parallel sequencing/next-  
generation sequencing (MPS/NGS) methods

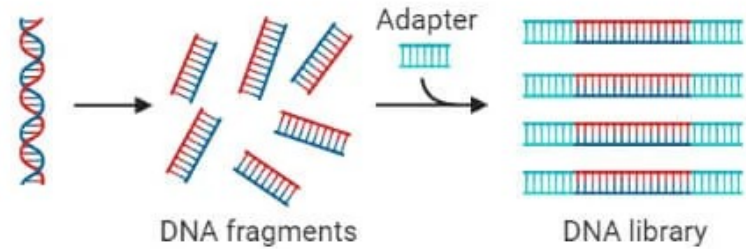
# Risultato di esame di laboratorio



**Step 1:**  
DNA extraction

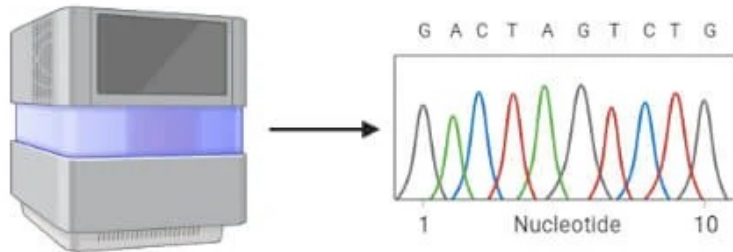


**Step 2:**  
Library preparation

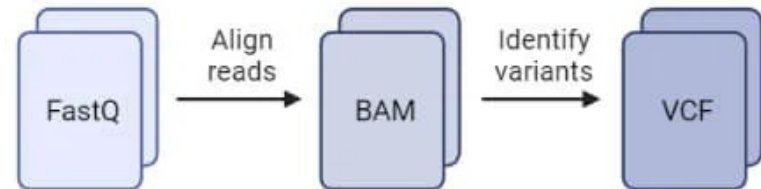


**Next Generation Sequencing Workflow**

**Step 3:**  
Sequencing



**Step 4:**  
Analysis



---

**Biotechnology — Massively parallel  
sequencing —**

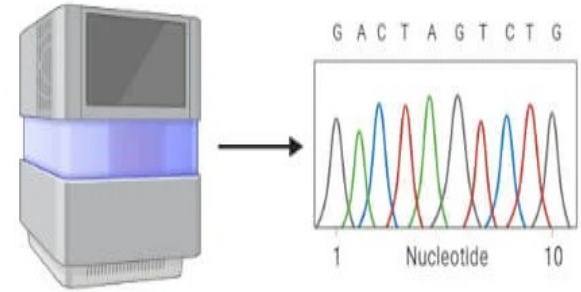
Part 2:  
**Quality evaluation of sequencing data**

*Biotechnologie — Séquençage massivement parallèle —  
Partie 2: Évaluation de la qualité des données de séquençage*

*... post raw data  
generation  
procedures,  
sequencing  
alignments, and  
variant calling.*



# metriche qualità NGS



DOI: 10.23736/S1825-859X.23.00190-1  
**Qualità dei metodi di sequenziamento massivo  
parallelo/sequenziamento di nuova generazione (MPS/NGS)**

Tabella Supplementare I.—Metriche di controllo della qualità per la valutazione dei dati grezzi (ISO 20397-2:2021 PUNTO 4.3.3).

Tabella Supplementare II.—Statistiche di mappatura (ISO 20397-2:2021 punti 5.3.1.2 e 5.3.1.3).

Tabella Supplementare III.—Indicatori di qualità (ISO 20397-2:2021 punto 5.3.2).

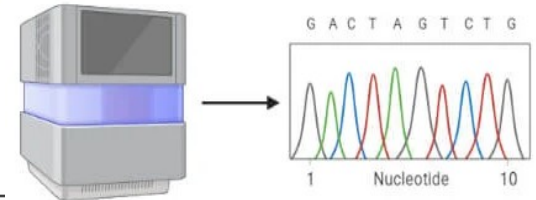
Tabella Supplementare IV.—Metriche di qualità nella chiamata di varianti (ISO 20397-2:2021 punto 6.3).

# NGS metriche qualità

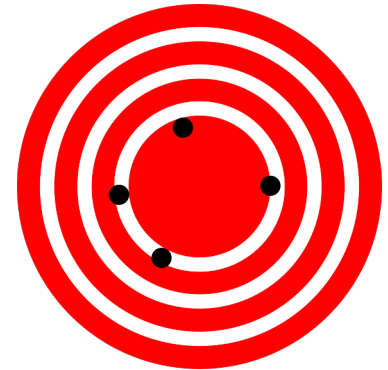
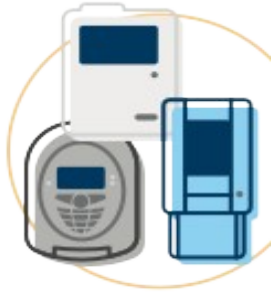
Tabella Supplementare IV.—Metriche di qualità nella chiamata di varianti (ISO 20397-2:2021 punto 6.3)

*a titolo esemplificativo e non esaustivo:*

- a) soglie per la profondità di copertura delle letture nella posizione della variante;
- b) punteggio di qualità delle varianti
- c) deviazione del filamento;
- d) percentuali di letture alleliche;
- e) ulteriori metriche specifiche relative all'accuratezza e alla sensibilità della chiamata di varianti che possono includere, a titolo esemplificativo e non esaustivo: 1) numero totale di varianti; 2) numero di falsi positivi; 3) numero di falsi negativi; 4) numero di disallineamento allelici e genotipici; 5) rapporto transizione/trasversione<sup>1</sup>
- 6) rapporto varianti singole nucleotidiche eterozigote/omozigote
- f) analisi della contaminazione crociata del campione.



# UNI EN ISO 15189:2023: focus su POCT ed incertezza di misura



*Marco Pradella - Comitato settoriale di Accreditamento DL*

**16:20 – 16:40**