



GISCoR
gruppo italiano screening coloretale



XI CONVEGNO NAZIONALE 2016

Risultati studio Sibioc-GISCoR nel campionamento del materiale fecale

S. Rapi

LA NORMA ISO/DIS 15189

“GESTIONE DELLA QUALITÀ NEI LABORATORI DI ANALISI CLINICHE”

- **Il laboratorio deve stabilire l'incertezza delle proprie misure, dove possibile. Tutte le componenti dell'incertezza, ritenute importanti, devono essere prese in considerazione utilizzando appropriati metodi analitici (Cfr. “Guide to the expression of uncertainty in measurement” emessa da BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP e OIML)**

Milano, 11 Agosto 2014

Bando SIBioC: progetti scientifici in tema di armonizzazione.

Dott. Stefano Rapi
Laboratorio Centrale, Ospedale Careggi,
Firenze

OGGETTO: comunicazione relativa al finanziamento del progetto "Standardizzazione dei dispositivi di prelievo del materiale fecale."

Carissimo Dott. Rapi

A nome della Commissione mi congratulo con Lei per l'ottimo progetto presentato.

Il progetto ben risponde ai requisiti del bando, è presentato in modo accurato chiaro e dettagliato e riguarda un aspetto critico come la fase preanalitica di un rilevante biomarcatore quale il sangue occulto nelle feci (FOB). Presenta possibili importanti ricadute sia per la SIBioC e sia per l'intera comunità della medicina di laboratorio. Il progetto ha inoltre prospettive di espansione a livello Europeo. Proprio in vista di possibili supporti (anche a livello internazionale), la Commissione ha deciso di co-finanziare (50%) il progetto (10000 Euro).

Requisito fondamentale per la concessione del finanziamento è che Lei sia in grado di dimostrare che, anche attraverso la disponibilità di finanziamento da altre fonti, sia comunque in grado di portare a termine il progetto. Per quanto riguarda il coinvolgimento Europeo le suggerisco di mettersi in contatto con la Dott.ssa Ana-Maria Simundic (ana-maria.simundic@kbcm.hr) del WG Preanalytical Phase della EFLM per creare un Task and Finish Group sull'argomento preanalitica del FOB.

Le chiedo che tutta la documentazione e le eventuali pubblicazioni che dal progetto dovessero derivare riportino sempre il riconoscimento formale del co-finanziamento di SIBioC a questa iniziativa.

Le prego di mettersi in contatto con la Segreteria, a partire dal mese di Settembre, per definire le modalità con cui ottenere l'erogazione dei fondi richiesti.

Cordiali saluti

Il Presidente SIBioC – Medicina di Laboratorio
Ferruccio Ceriotti



Inscritto al Registro delle Persone Giuridiche presso la Prefettura di Milano al n. 457 della pagina 712 del Volume 2*



SIBioC – Medicina di Laboratorio

Utilizza un Sistema di Gestione Qualità Certificato per l'attività di
Progettazione ed erogazione di eventi formativi
Planning and provision of tutorial events

Impossibile confrontare metodi su materiale fecale Difficile comparare le risposte analitiche

Int J Biol Markers 2012;27 (3): e195-e202
DOI: 10.5301/IBM.2012.9343

ORIGINAL ARTICLE

Overall evaluation of an immunological latex agglutination system for fecal occult blood testing in the colorectal cancer screening program of Florence

Tiziana Rubeca¹, Benedetta Peruzzi², Massimo Confortini¹, Stefano Rapi²

¹Cancer Prevention and Research Institute (ISPO), Florence - Italy
²Central Laboratory, Laboratory Department, Careggi Hospital, Florence - Italy

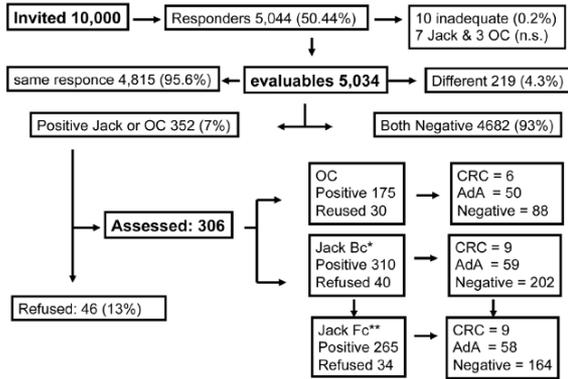


Fig. 1 - Summary of the study.

* Jack Bc, Jack method with base coefficient (normalization factor=12.5)
** Jack Fc, Jack method with final coefficient (normalization factor=9).



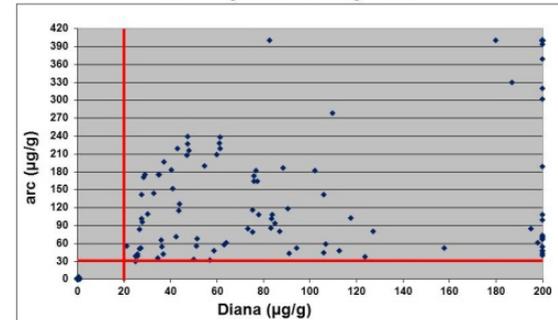
DE GRUYTER

DOI 10.1515/clin-2014-0115 — Clin Chem Lab Med 2014; aop

Callum G. Fraser*, Tiziana Rubeca, Stefano Rapi, Li-Sheng Chen and Hsiu-Hsiu Chen

Faecal haemoglobin concentrations vary with sex and age, but data are not transferable across geography for colorectal cancer screening

Diana system vs arc system



Figures 5. Analysis of 188 ABS (106 positive samples and 82 negative) collected with specific sample devices and performed on the appropriate systems .

Int J Biol Markers 2012;27 (3): e195-e202
DOI: 10.5301/IBM.2012.9343

ORIGINAL ARTICLE

Overall evaluation of an immunological latex agglutination system for fecal occult blood testing in the colorectal cancer screening program of Florence

Tiziana Rubeca¹, Benedetta Peruzzi², Massimo Confortini¹, Stefano Rapi²

¹Cancer Prevention and Research Institute (ISPO), Florence - Italy
²Central Laboratory, Laboratory Department, Careggi Hospital, Florence - Italy

Fase pre analitica FIT-Hb.

Int J Biol Markers 2014; 00 (00): 000-000
DOI: 10.5301/ijbm.5000093

OPINION LETTER

How to improve the performances of Fecal Immunological Tests (FIT): Need for standardization of the sampling and pre-analytical phases and revision of the procedures for comparison of methods

Stefano Rapi¹, Tiziana Rubeca², Callum G. Fraser³

Improving performances of Fecal Immunological Tests

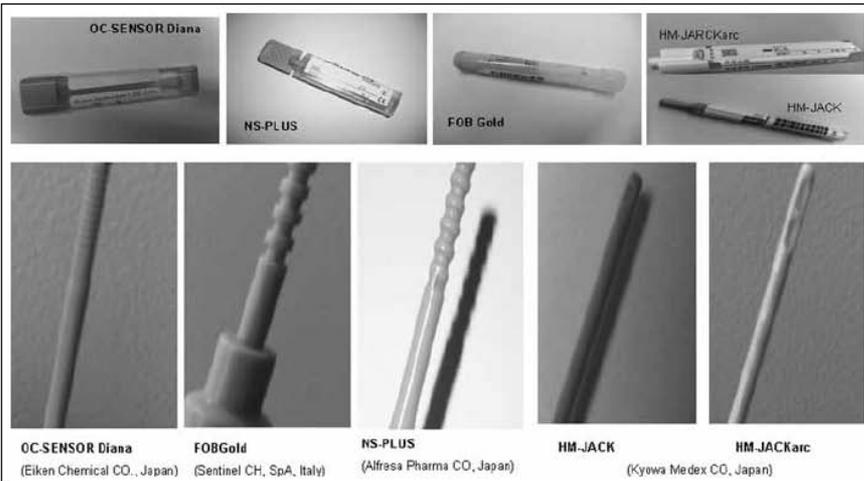


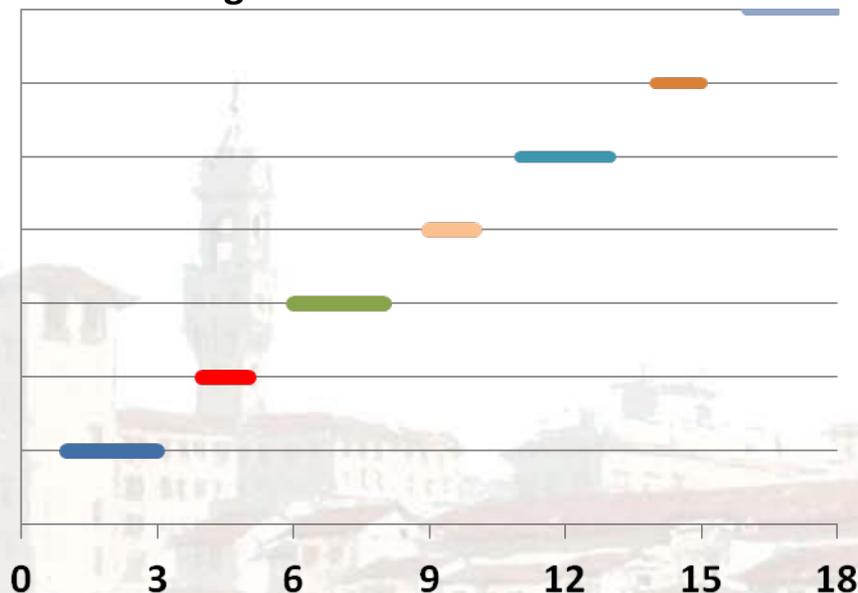
Fig. 1 - Specimen collection devices and probes/pickers used by different manufacturers for fecal immunochemical test for hemoglobin analytical systems.

- **Differenti disegni dei dispositivi di prelievo.**
..differenti quantità feci
- **Tamponi diversi.**
..diverse quantità di tampone
..diverso ambiente analitico

Standardizzazione dei dispositivi di prelievo del materiale fecale.

Il progetto finanziato al 50%

Diagramma di Gantt



- Acquisizione sistemi disponibili
- Indagine dei sistemi disponibili
- Verifica dispositivi prelievo
- Valutazione rapporto analita / tampone
- Scelta design dispositivo prelievo
- Creazione prototipo
- Validazione collaudo

Co-finanziamento GISCoR

Inizio novembre 2014

Dr. Stefano Ragni
Laboratorio Generale
Dipartimento Laboratorio
ASCU Careggi
Largo Brambilla 3
Firenze

Firenze 27, aprile 2015.

Al Presidente GISCoR
al Referente WG 1 livello GISCoR

Dr.ssa Emanuela Angeloni
Dr.ssa Tiziana Kubacka

Oggetto: progetto "Standardizzazione sistemi campionamento materiale fecale."

Conse concordato nel corso dell'incontro avvenuto in occasione del Vostro Comitato di Coordinamento del 1° aprile 2015, GISCoR (Gruppo Italiano Screening ColoRettale) accetta di collaborare al progetto finanziato dalla Società Italiana di Biomedicina Clinica (Silegato 1), concedendo un finanziamento di 2.000 euro finalizzato al completamento delle prime 3 fasi, di seguito elencate e riportate nel diagramma di Gantt (Allegato 2):

- Acquisizione sistemi disponibili.
- Indagine dei sistemi disponibili.
- Verifica dispositivi prelievo.

Questo 3 fasi possono fornire indicazioni utili per definire l'aspetto del campionamento sui dispositivi in uso nei programmi nazionali di screening e la loro caratterizzazione può risultare utile per la stesura dei rapporti di gara e per l'acquisizione della strumentazione per la determinazione del FIT-Dx.

Tale finanziamento potrà essere erogato direttamente da GISCoR, con indicazione della causale specifica, mediante l'acquisizione di beni e servizi o di prestazioni occasionali richieste a terzi, purché riconducibili all'evoluzione del progetto stesso ed indicate espressamente da questo ente promotore.

L'accesso al finanziamento avverrà al termine delle prime tre fasi dello studio e sarà vincolato alla presentazione di una specifica relazione inviata al Direttore a cura del proponente.

Cordiali saluti

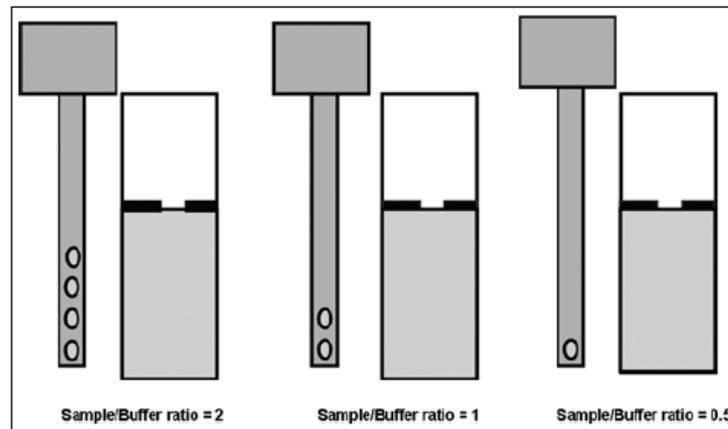


Fig. 2 - Example of a standardized design for probe/pickers for fecal specimen collection and a suggested relationship between sample size and buffer volume to reduce the overall specimen collection variability.

Impatto del dispositivo di prelievo

Fase pre analitica

Differenze nella quantità di materiale prelevato dai dispositivi commerciali per FIT-Hb.

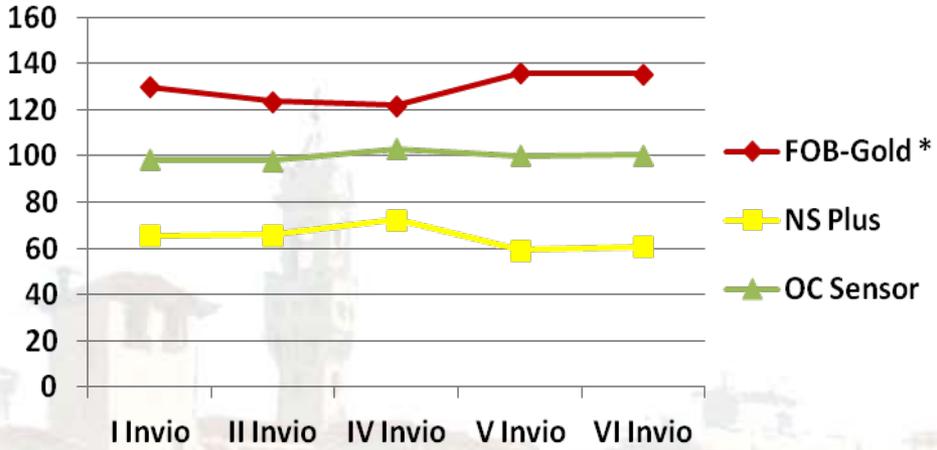
Dispositivo	Teorico (mg)	Recupero 1 % (CV)	Recupero 2 % (CV)	Recupero 3 % (CV)
OC-SENSOR	10	76 (13,2)	97 (11,9)	78 (9,7)
HM-JACKarc	2	112 (21,3)	121 (8,6)	116 (14,7)
NS-PLUS	10	56 (30,4)	79 (23,4)	77 (11,7)
FOB GOLD	10	72 (31,1)	87 (25,5)	92 (14,4)

Valore medio e cv ottenuti da 8 campionamenti su materiale differentemente formato (protocollo utilizzato GMEC).

recupero dal 50% al 120% dell'atteso

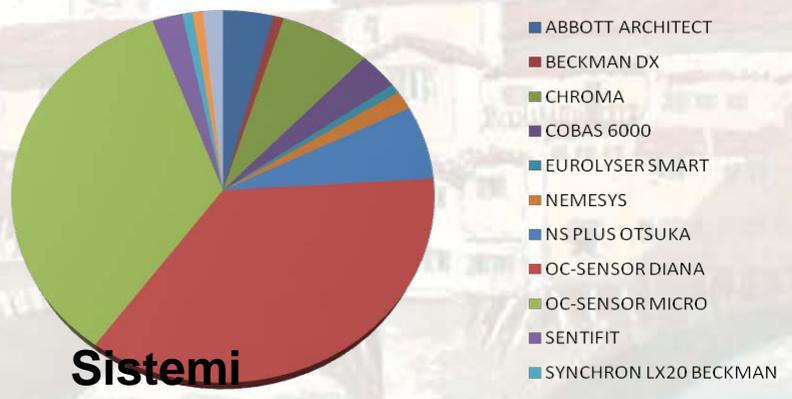
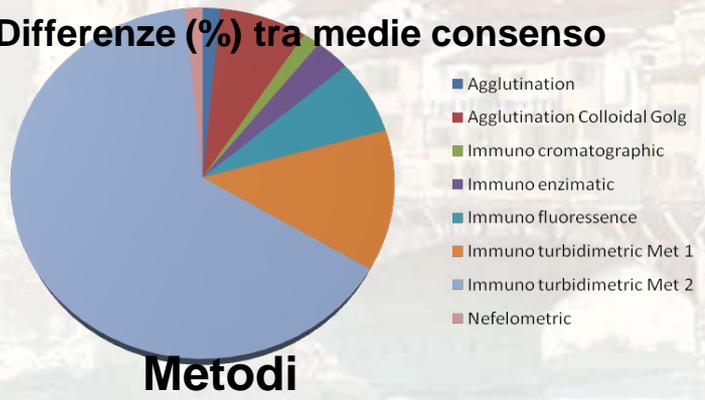
Fase analitica

**Dati VEQ 2014 CRR Regione Toscana
n = 135**



**Reagenti diversi (lattice, oro colloidale).
Riferimenti e standards di calibrazione non
dichiarati
Metodiche lettura (nefelometria,
rifrattometria).**

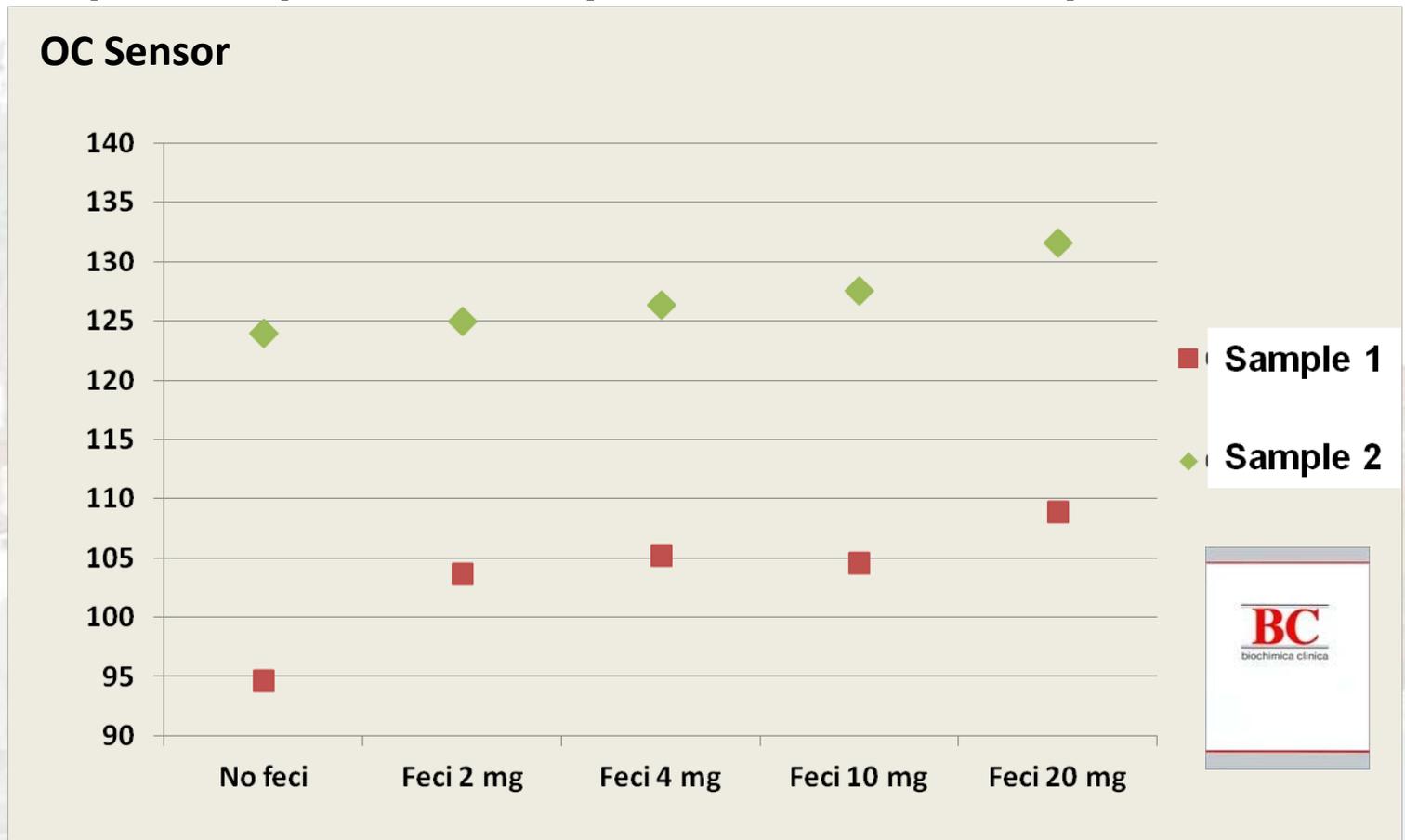
Differenze (%) tra medie consenso



... scarti sistematici tra I diversi metodi

Fase analitica

.. Interazioni tra feci ed ambiente di reazione.
La risposta dipende dalla quantità di materiale presente



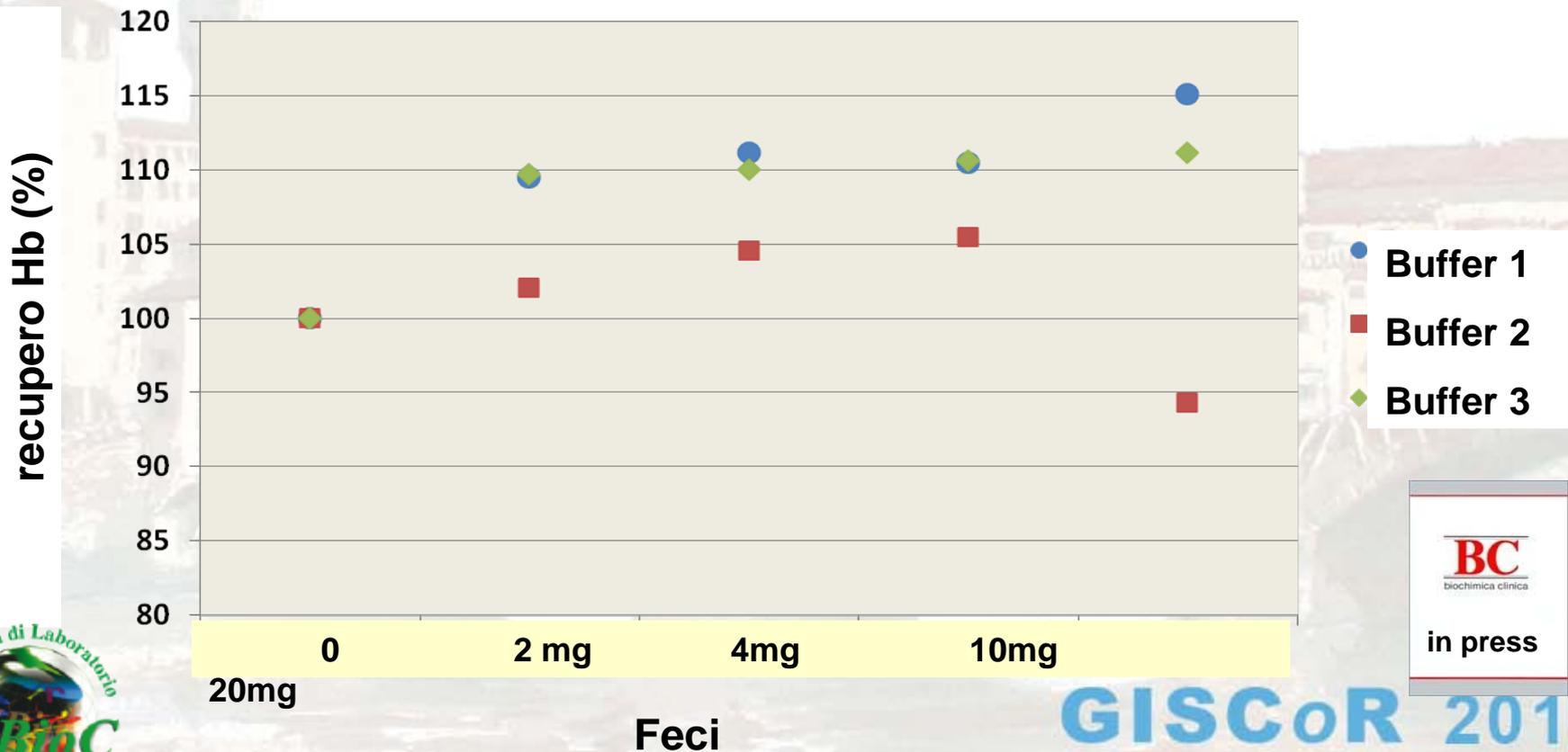
Recupero Hb (%) in presenza di quantità diverse di materiale fecale.

Fase analitica

..interazioni tra feci e tamponi

I diversi tamponi forniscono risposte diverse all'aggiunta di materiale fecale.

Variazione (%) in f-Hb in 3 tamponi commerciali dopo aggiunta di concentrazioni diverse di materiale fecale



Fase analitica

... I risultati analitici dipendono da:

- Tempo trascorso dal campionamento (instabilità Hb)
- Tipo tampone (ambiente reazione)
- Quantità feci presenti (materiale disperso, pH, forza ionica, enzimi, batteri)

A Proposal to Standardize Reporting Units for Fecal Immunochemical Tests for Hemoglobin

Callum G. Fraser, James E. Allison, Stephen P. Halloran, Graeme P. Young; on behalf of the Expert Working Group on Fecal Immunochemical Tests for Hemoglobin, Colorectal Cancer Screening Committee, World Endoscopy Organization

WEO Expert Working Group 2012.

Reporting units: $\mu\text{g Hb/g feci}$

- Il materiale campionato non è pesato.
- Il peso specifico del materiale ha una grossa variabilità.
- Ci riferiamo alle prove dei produttori su massa raccolta ma non esiste nessun protocollo di riferimento.

...non è corretto riportare i dati ad un valore teorico.

...non è possibile fornire indicazioni per armonizzare campionamento

Proposta. Espressione risultati



JNCI J Natl Cancer Inst (2015) 108(1): djv312

doi: 10.1093/jnci/djv312

First published online October 16, 2015

Correspondence

.. proper units must be mass of hemoglobin per volume of feces and not mass of hemoglobin per mass of feces

CORRESPONDENCE

RE: A Proposal to Standardize Reporting Units for Fecal Immunochemical Tests for Hemoglobin

Callum G. Fraser, Stefano Rapi, Tiziana Rubeca

Idelamente, microgrammi Hb per microlitro di feci che dovrebbero fornire risultati simili a quelli ottenuti utilizzando la massa di Hb per massa di feci dato che la densità relativa della massa fecale spesso si approssima ad 1-00 e consentirebbe una razionale espressione dei risultati nell'intervallo $0 \div >400$

.. alle aziende che esprimono I risultati come nanogrammi di Hb per mL di tampone viene richiesto di fornire informazioni dettagliate e verificate sul volume di feci raccolte e sul volume usato nei dispositivi di raccolta per consentire la trasformazione dei risultati secondo la formula

$$\mu\text{g Hb} \times \text{mL feci} = (\text{ng Hb per mL} \times \text{mL tampone}) / (\mu\text{L feci raccolte})$$

...volume di campionamento



Richiesta delle specifiche di produzione dei dispositivi

Florence, January 25, 2016.

To the manufacturers of FIT-Hb sampling devices.

Alfresa Pharma Corp, Japan
Eiken Chemical Co. Ltd, Japan
Kyowa Medex Co Ltd, Japan
Sentinel CH. SpA, Italy.

In the behalf of the Inter – Society Working Group on pre-analytical of FIT we kindly request that you provide us the information about your sampling devices (specimen collection devices, pickers).

The WG is investigating the amount of faeces collected with the different sampling devices and we would appreciate details on the volume of faeces collected in your device(s).

We also would like to know the theoretical volume of sample collected by your device and delivered into the buffer. The considered volume should correspond to the free volume of the probe, picker or dipstick, used by your company. We would appreciate if you could provide us this information.

The importance of this information was explained in our letter, recently published on the Journal of National Cancer Institute (2015 Oct 16; 108, n°1) in attached.

Thanking you in advance for your kind collaboration, the active members of the WG.
Dr. Stefano Rapi, Prof. Callum G Fraser, Dr. Tiziana Rubeca

Best regards

Dr. Stefano Rapi



... possiamo fornire indicazioni per armonizzare la fase pre analitica

...volume di campionamento

Table 1: Volumes estimated by geometric calculation of commercial sample collection devices, amount of faeces recovered (mean and sd), in and out of the VOI (materials collected on the top of the dipsticks); the ratio between recovered materials and sampling volumes (mg/mm³); the amount of faeces targeted by manufacturer and the ratio (%) between collected and targeted amount of materials for tested SCDs. mm³

Device	GFV * mm ³	SRV ** mm ³	VOI*** mm ³	Collected mg	out of VOI mg	Recovery mg/mm ³	Target mg	C/T %
OC-Sensor	32.64	24.42	8.22	8.3±0.97	0.45 ±0.22	0.64	10	83.5
NS-Plus	31.98	24.88	7.1	7.08±1.48	1.03 ±0.62	0.46	10	70.8
HM-Jack-Arc	18.24	15.16	3.08	2.38±0.35	0.76 ±0.65	0.77	2	119
FOB-Gold	32.3	22.86	9.44	8.36 ±1.93	0.53 ±0.29	0.54	10	83.6

*Geometric Figure Volume

**Sampling Region Volume

***Volume of Interest

Punti indagati ..

- Rapporto tra massa raccolta/ dichiarata
- Massa raccolta fuori dalla regione di interesse

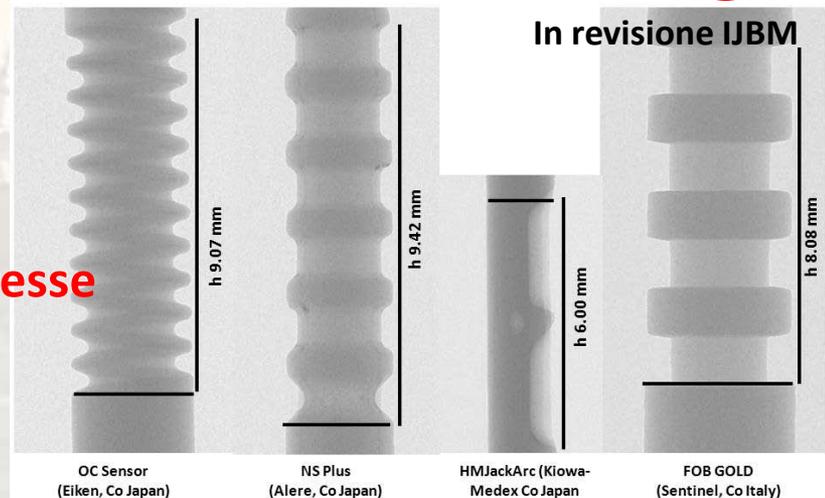


Figure 1: 2D X-ray images of sampling regions of tested sampling collection devices.

Armonizzazione fase pre-analitica



Due strategie.

- **Introduzione di un unico dispositivo campionamento** ..basso gradimento da parte delle Aziende produttrici.

POSSIAMO USARE VOLUME (mL or mm³) PER ARMONIZZARE LE QUANTITA' RACCOLTE

- **Stimolare la raccolta della stessa quantità di materiale** ...possiamo richiedere un volume target di materiale e introdurre dei rapporti definiti tra volume di feci e tampone.

Armonizzazione fase analitica

Evidenze significative:

1. I test di recupero fatti per diluizione scalare di emoglobina umana riportano dati vicini al valore atteso. Rapi et al. biochimica clinica, 2015, 39.
2. Le interazioni tra tampone e feci inducono variazioni significative del segnale e sono metodo dipendente. Rubeca et al. Int J Biol Markers 2015: 30

Possiamo introdurre uno standard per l'emoglobina!

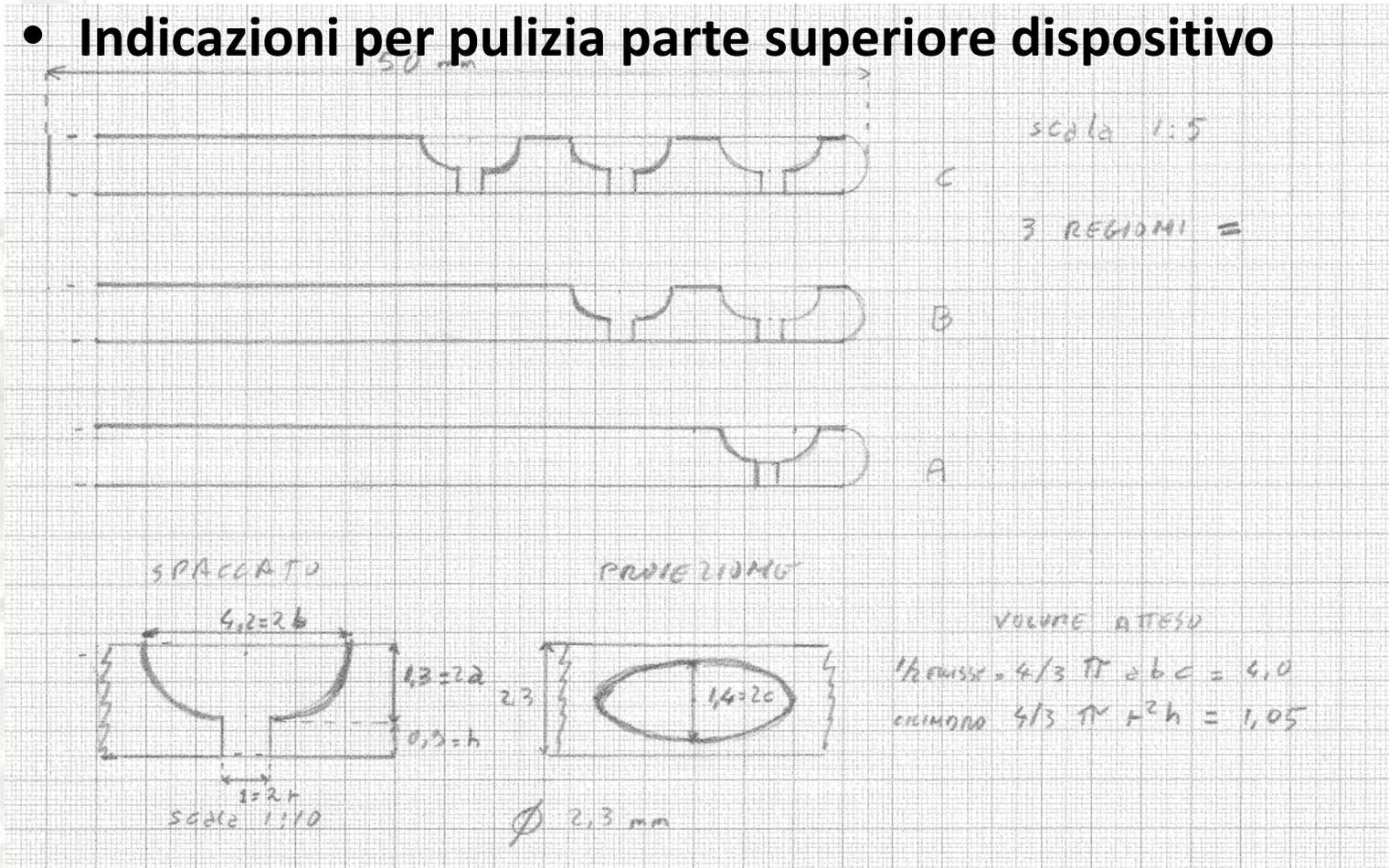
La 'master curve' dei metodi può essere corretta facilmente.

Le interazioni tra feci e tampone possono essere incluse nel valore target ?

E' possibile costruire la 'master curves' considerando l'aggiunta di un quantità standard di Hb ed un volume standard di feci ?

Prototipo. (in produzione con stampante 3D)

- Volumi campionamento noti
- Filtro per pulizia dispositivo
- Aperti posteriormente per consentire uscita tampone.
- Indicazione direzione campionamento
- Indicazioni per pulizia parte superiore dispositivo



Risultati attesi: benefici

Riferimenti metrologici corretti !!

- **Stima /riduzione dell'imprecisione legata alla fase pre-analitica.**
- **Riduzione variabilità tra metodi.**
- **Armonizzazione risultato finale.**
- **Maggiore commutabilità risultati analitici ed epidemiologici.**
- **Semplificazione dei protocolli di comparazione dei metodi.**
- **Migliori performance 'cliniche' dei metodi.**
- **'Semplificazione' fase accreditamento test.**

Risultati attesi: costi

- **Revisione modelli produttivi delle Aziende.**
- **Sforzo delle società scientifiche per la creazione di un percorso condiviso e la diffusione del messaggio.**
- **Maggiore attenzione dei pazienti in fase di campionamento.**



Take home message.

- Le riflessioni e le informazioni raccolte valgono per tutte le analisi su materiale fecale.
- Per avere un dato quantitativo devo conoscere tutte le grandezze coinvolte ... ho bisogno di riferimenti metrologicamente corretti .

Il prossimo impegno del GdL sarà la condivisione del progetto per arrivare ad un consenso sull'armonizzazione del campionamento da presentare alle Aziende ed agli enti 'normativi'.

Take home message.

..ricollegandosi al corso pre congressuale

- L'introduzione di riferimenti metrologici corretti è indispensabile per tutte le determinazioni su materiale fecale. (DNA, RNA...)
- Pesiamo il materiale di partenza o il materiale analizzato (DNA) dopo estrazione da un volume?

Grazie per l'attenzione

Membri attivi GdL:

Stefano Rapi AOU Careggi. Firenze.

Tiziana Rubeca. ISPO Firenze.

Callum G Fraser University of Dundee.

Filippo Cellai. ISPO Firenze.

Margherita Berardi . AOU Careggi. Firenze.