

**Come assicurare  
la qualità analitica dei test  
immunologici fecali per  
l'emoglobina. Requisiti e realtà  
operativa**

*GdL I livello*

*Stefano Rapi – AV Toscana Nord Ovest*

**GISCoR**  
gruppo italiano screening coloretta

Radisson Blu Ghr Rome,  
Roma, 21-22 novembre 2024

**XVII CONGRESSO  
NAZIONALE 2024**

# USO clinico FIT-Hb

I test immunochimici fecali per l'emoglobina sono considerati la migliore indagine non invasiva per screening di individui asintomatici per la presenza di cancro del colon-retto (CRC).

- Sono usati sia nello screening organizzato che opportunistico in tutto il mondo.
- Sono utilizzati nei programmi di sorveglianza dei pazienti dopo l'rimozione dei polipi .
- negli ultimi anni viene sempre più utilizzato insieme alla sintomatologia ed alla valutazione clinica per la stratificazione del rischio e la programmazione delle colonscopie nei pazienti sintomatici.

Callum G. Fraser

Clin Chem Lab Med 2021; 59(2): 245–247

**Assuring the quality of examinations using faecal immunochemical tests for haemoglobin (FIT)**

## & qualità nei FIT-Hb

**Qualitativi** – presenza Hb (soglia fissata dal produttore)

**Quantitativi** – determinazione della concentrazioni di f-Hb.

**Informazione clinica preferibile in tutti e tre i contesti clinici.**

Es : In pandemia la concentrazione di f-Hb è stata utilizzata per definire le priorità di accesso alla colonscopia sia nello screening che per soggetti sintomatici.

- L'uso di valori di cut-off di f-Hb in contesti clinici diversi costringerebbe a rielaborare limiti decisionali diversi a seconda dell'utilizzo.

Prerequisito: esame di buona qualità e procedure in grado di assicurarne la ripetibilità

**Qualità Analitica** - Organizzazione internazionale per la standardizzazione (ISO)

# Controllo qualità interno

ISO 15189, sezione 5.6.2.2, Il laboratorio **deve utilizzare materiali controllo qualità**

-che reagiscono in maniera analoga ai campioni dei pazienti.

- Usare concentrazioni dei materiali di controllo, in tutto il range analitico e, soprattutto ai valori decisionali clinici o in prossimità di essi

- Materiali di controllo di terze parti, al posto o in aggiunta a qualsiasi controllo materiali forniti dal produttore del reagente o dello strumento.

- **Tuttavia, nonostante questi lodevoli principi.**

- - l'emoglobina (Hb) nelle feci è una matrice instabile

- - a base fecale i materiali per il controllo di qualità interno (IQC) sono probabilmente irrealistici.

- **inoltre mancano i materiali ICQ di terze parti**

Carolyn Piggott\*, Zinab Shugaa and Sally C. Benton

Clin Chem Lab Med 2021; 59(2): e41–e43

**Independent internal quality control (IQC) for faecal  
immunochemical tests (FIT) for haemoglobin: use of FIT  
manufacturers' IQC for other FIT systems**

- Controllo di terza parte per FIT quantitativo ... non pervenuti.

Controlli usati dalle aziende produttrici FIT quantitativi (2 o 3 livelli di controllo)

Per i diversi sistemi

Alfresa Pharma Corp, Osaka, Giappone;

Eiken Chemical Co. Ltd, Tokyo, Giappone; Hitachi

Chemical Diagnostics Systems Co. Ltd, Tokyo, Giappone;

Sentinel Diagnostics SpA, Milano, Italia

- solo materiale Eiken Chemical Co., Ltd, acquistabile direttamente

# Ipotesi per superare assenza CQ III parte

Usare materiale di IQC forniti dai produttori dei sistemi FIT quantitativi, per la valutazione del processo dei propri sistemi, con gli altri sistemi.

**Metodo** - stima quantitativa dell'imprecisione.

- **intra-serie:** IQC 10 repliche consecutive su tutti e quattro i sistemi FIT.
- **tra-serie:** IQC 3 repliche per 5 giorni, su tutti e quattro i sistemi FIT.
- tutti i risultati sono stati riportati senza errori dai diversi sistemi FIT,

il che supporta il concetto che la trasferibilità dei materiali IQC tra i sistemi è effettivamente possibile.



Media deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione (CV) per ciascun materiale IQC analizzato su ciascun sistema per l'imprecisione intra-serie e l'imprecisione inter-serie.

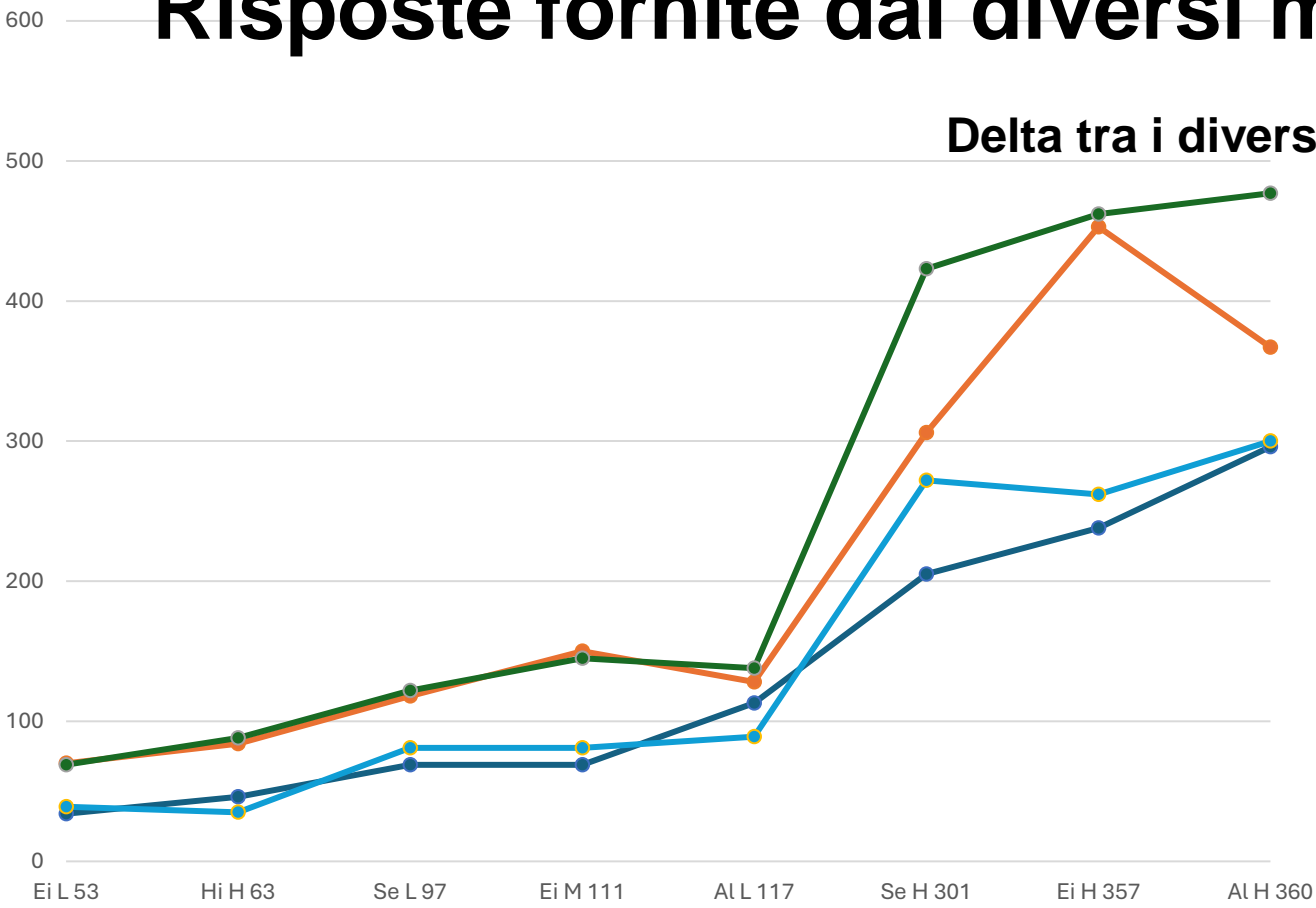
**Table 1:** Within-run and between-run Imprecision with Internal quality control materials from four manufacturers run on four FITs for haemoglobin systems.

Material <sup>a</sup>	Analyser A			Analyser B			Analyser C			Analyser D		
	Mean (µg Hb/g faeces)	SD (µg Hb/g faeces)	CV (%)	Mean (µg Hb/g faeces)	SD (µg Hb/g faeces)	CV (%)	Mean (µg Hb/g faeces)	SD (µg Hb/g faeces)	CV (%)	Mean (µg Hb/g faeces)	SD (µg Hb/g faeces)	CV (%)
<b>Within-run Imprecision (n = 10)</b>												
Alfresa FIT NS-Prime Control L	113	2.0	1.8	128	1.7	1.3	138	9.3	6.7	89	1.9	2.1
Alfresa FIT NS-Prime Control H	296	3.3	1.1	367	4.3	1.2	477	3.2	0.7	300	6.3	2.1
Elken OC-Control LV1	69	0.7	1.0	150	1.5	1.0	145	1.5	1.0	81	3.1	3.8
Elken OC-Control LV2	238	2.3	1.0	453	9.6	2.1	462	15.1	3.3	262	4.2	1.6
Elken OC-Control LV3	34	1.7	5.0	70	1.5	2.1	69	0.4	0.6	39	2.3	5.9
Hitachi EXTEL HEMO AUTO HS Control Low	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	26	0.6	2.3	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>
Hitachi EXTEL HEMO AUTO HS Control High	46	1.5	3.3	84	3.7	4.4	88	0.6	0.7	35	1.6	4.6
Sentinel FOB Gold Control 1	69	6.0	8.7	118	2.6	2.2	122	3.7	3.0	81	2.3	2.8
Sentinel FOB Gold Control 2	205	4.4	2.1	306	3.4	1.1	423	10.6	2.5	272	3.5	1.3
<b>Between-run Imprecision (n = 15)</b>												
Alfresa FIT NS-Prime Control L	108	2.2	2.0	121	2.9	2.4	142	4.7	3.3	89	2.6	2.9
Alfresa FIT NS-Prime Control H	291	5.1	1.8	354	16.9	4.8	460	11.6	2.5	302	4.7	1.6
Elken OC-Control LV1	71	1.4	2.0	150	2.5	1.7	150	3.3	2.2	86	2.5	2.9
Elken OC-Control LV2	242	4.5	1.9	457	8.9	1.9	453	12.5	2.8	281	6.4	2.3
Elken OC-Control LV3	30	1.1	3.6	73	3.4	4.7	69	1.1	1.6	40	2.6	6.6
Hitachi EXTEL HEMO AUTO HS Control Low	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	26	1.0	3.9	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>
Hitachi EXTEL HEMO AUTO HS Control High	48	1.1	2.3	91	7.4	8.1	94	1.0	1.1	35	1.7	4.9
Sentinel FOB Gold Control 1	72	0.8	1.1	114	3.8	3.3	119	3.0	2.5	83	2.1	2.5
Sentinel FOB Gold Control 2	203	2.3	1.1	310	3.7	1.2	438	19.2	4.4	277	11.4	4.1

CV, coefficient of variation; FIT, faecal Immunochemical test; SD, standard deviation. <sup>a</sup>Alfresa: Alfresa Pharma Corp., Osaka, Japan; Elken: Elken Chemical Co. Ltd, Tokyo, Japan; Hitachi: Hitachi Chemical Diagnostics Systems Co., Ltd, Tokyo, Japan; Sentinel: Sentinel Diagnostics SpA, Milan, Italy. <sup>b</sup>These results were below the lower limit of detection of the FIT methods A, B and D.

# Risposte fornite dai diversi materiali

**Delta tra i diversi metodi: 160 – 250 %**



Sono stati esclusi i materiali di controllo con valori fuori dai range di misura dei diversi metodi:

NS-Prime 10–240 µg Hb/g feci,

- OC-SENSOR PLEDIA 10–200 µg Hb/g feci,
- HM-JACKarc 7–400 µg Hb/g feci,
- SENTiFIT 270 3–170 µg Hb/g feci).



# Riflessioni sui metodi

- l'imprecisione dei sistemi FIT soddisfa le specifiche prestazionali.
- si evidenziano delle differenze nei valori numerici forniti dai diversi metodi a causa di una mancanza di standardizzazione o di armonizzazione.
- i metodi si basano su anticorpi policlonali, utilizzano diverse tecniche di calibrazione, sono riconducibili a diversi materiali di calibrazione primari e non hanno identici caratteristiche di prestazione dell'esame.

- **l'uso dei materiali CQi di un'altra azienda come controlli di III sembra possibile.**
- - Per i CQi di III parte valori target sono assegnati da laboratori indipendenti
- - I produttori dovrebbero provvedere all'assegnazione dei valori target dei propri materiali CQi per gli altri sistemi appoggiandosi a laboratori indipendenti.
- i laboratori possono assegnare il valore atteso e stabilire i criteri di accettazione dei risultati .
- **I sistemi FIT forniscono risultati diversi ma le differenze sono coerenti**
- - Possiamo assegnare i valori mediante una semplice moltiplicazione del valore assegnato dal produttore?
- I fattori sarebbero coerenti su diversi lotti del reagente anticorpale?
- valori del CQi nella regione di limiti decisionali, possono essere ottenuti per diluizione?

# La fase di prelievo?

DE GRUYTER

Clin Chem Lab Med 2020; 59(2): 307–313

Shane O'Driscoll, Carolyn Piggott, Helen Bruce and Sally C. Benton\*

## An evaluation of ten external quality assurance scheme (EQAS) materials for the faecal immunochemical test (FIT) for haemoglobin

**Table 1:** Categorisation of the matrices provided by the external quality assessment schemes (EQAS) for FIT.

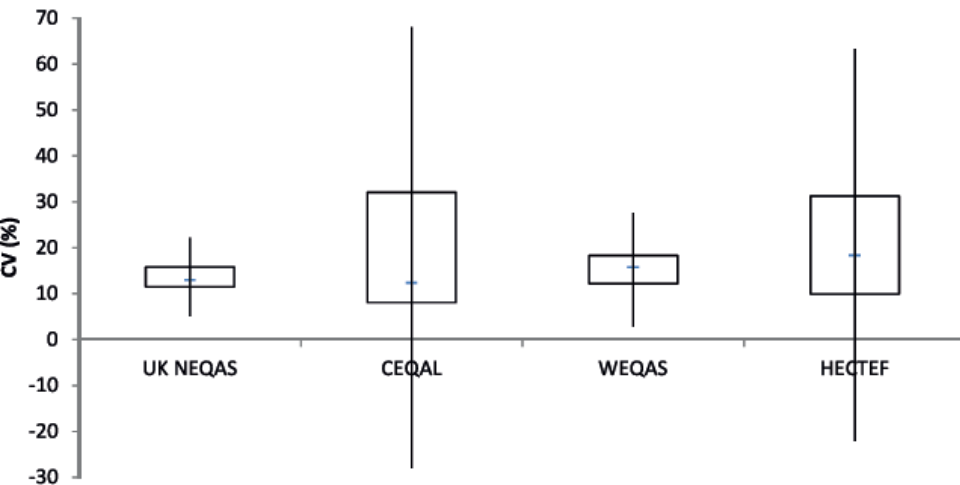
EQAS	Category
Faecal-like matrix loaded by the participating laboratories	A1
Faecal-like matrix loaded by the EQAS	A2
Diluted Hb directly injected into FIT sample collection devices	B
Lyophilised liquid for reconstitution by participating laboratories	C1
Liquid-ready to examine	C2

DE GRUYTER

**Table 2:** External quality assessment schemes (EQAS) participating in this study, materials provided and sample preparation.

EQAS organiser (location)	Material provided (study categorisation)	No. of samples (target concentration range)	Sample preparation
United Kingdom External Quality Assessment Scheme (United Kingdom National External Quality Assessment Service, Birmingham, UK)	Faecal-like matrix spiked with haemoglobin (Hb) (A1)	6 (0–120 µg Hb/g matrix)	Loaded by Bowel Cancer Screening Programme (BCSP) Hub team; loaded by 3 individuals; 5 of each device type were loaded/person/concentration
Canadian External Quality Assessment Laboratory (CEQAL, Vancouver, Canada)	Faecal-like matrix spiked with Hb (A2)	5 (10–147 µg Hb/g matrix)	Samples loaded by CEQAL team; 3 individuals loaded the samples; 5 of each device type/person/concentration.
	Hb injected directly into devices (B)	5 (46–800 ng Hb/mL matrix)	1 individual loaded the samples; 5 of each device type loaded/concentration.
Wales External Quality Assurance Scheme (WEQAS, Cardiff, UK)	Faecal-like matrix spiked with Hb (A2)	7 (not provided)	Samples loaded by WEQAS team; 3 individuals loaded the samples; 5 of each device type/person/concentration.
Health Care Technology Foundation (HECTEF, Tokyo, Japan)	Faecal-like matrix spiked with Hb (A1)	5 (0–180 µg Hb/g matrix)	Samples loaded by BCSP Hub, Guildford, team; 3 individuals loaded the samples; 5 of each device type/person/concentration.
Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek (SKML, Nijmegen, Netherlands)	Lyophilised extract of faeces (C1)	15 (0–1200 ng Hb/mL matrix)	Samples prepared by one member of BCSP team; matrix reconstituted with 2 mL de-ionised water
European Society for External Quality Assessment (ESFEQA, Heidelberg, Germany)	Liquid (C2)	6 (not provided)	Ready to examine.
Centro di Ricerca Biomedica (CRB, Padova, Italy)	Liquid (C2)	3 (not provided)	Ready to examine.
Labquality (Helsinki, Finland)	Liquid (C2)	1 (166 ng Hb/mL matrix)	Ready to examine.
Systém Externí Kontrola Kvality (SEKK, Pardubice, Czech Republic)	Liquid (C2)	2 (not provided)	Ready to examine.
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC(ML), Barcelona, Spain) provided by Linear Chemicals (Barcelona, Spain)	Liquid (C2)	2 (130, 98–163 ng Hb/mL matrix and 400, 300–500 ng Hb/mL matrix)	Ready to examine.

# VEQ: Matrice Fecale & Liquida - Liofilizzata



**Table 3:** Median, max and min CV (%) of FIT concentrations for each category A external quality assessment scheme (EQAS) material.

	United Kingdom National External Quality Assessment Service	CEQAL	WEQAS	HECTEF
Median CV, %	13.4	12.4	15.8	19.0
Min CV, %	7.9	4.7	9.7	6.6
Max CV, %	37.1	64.8	33.5	42.0

CEQAL, Canadian External Quality Assessment Laboratory; WEQAS, Wales External Quality Assurance Scheme; HECTEF, Health Care

**EQAS Table 4:** Median, max and min CV (%) of FIT concentrations for each category B and C external quality assessment scheme (EQAS) material.

	CEQAL DI	SKML	ESFEQA	CRB	Labquality	SEKK	SEQC
Median CV, %	1.7	2.3	1.4	1.6	0.8	1.7	1.3
Min CV, %	0.6	1.2	0.8	0.7	0.5	0.6	0.7
Max CV, %	24.5	11.9	5.8	18.0	1.5	6.3	7.7

CEQAL DI, Canadian External Quality Assessment Laboratory-Directly Injected; SKML, Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek; ESFEQA, European Society for External Quality Assessment; CRB, Centro di Ricerca Biomedica; SEKK, Systém Externí Kontroly Kvality; SEQC, Sociedad Española de Medicina de Laboratorio.

## Conclusions

Using a faecal-like matrix for FIT is subject to pre-examination variation due to loading the devices. A semi-solid matrix is more difficult to ensure homogeneity of Hb within the matrix and the amount of material that sticks to the probe of the sample collection device is possible to fluctuate between sampling, device type and also between individuals.

....l'imprecisione ottenuta dalle VEQ basate su materiale fecale indica una variabilità estremamente alta.

....non siamo in grado di produrre materiale sufficientemente omogeneo

**..il problema resta anche per il materiale biologico**

Liquid matrices spiked with Hb, due to pre-examination variation being minimalised, are better at assessing the analytical performance of the analyser. Liquid matrices, however, do not assess the entire examination process of a

sample since the matrix is not sampled with the respective collection devices. Faecal-like matrix EQAS schemes follow the route of a real sample more closely, assessing both the pre-examination and examination processes. Variation due to sampling of these matrices is likely to affect the accuracy of the reported results and therefore not assess the diagnostic accuracy of FIT systems.

Figure 1: spreadsheet to measure expanded uncertainty (available on GISCOR web site). Values obtained by the instrument 3 are used in the example.

Instrument 3: 2019				
Control periods Lot n	Level 1		Level 2	
	low	High	low	High
Target (ng/mL)	126	138	466	533
Units (%)	12	12	12	12
Range	113-141	121-154	450-522	469-597
MEAN (ng/mL)	128,1	125,0	437,0	493,4
sd (ng/mL)	5,0	5,9	28,5	22,2
cv (%)	3,9	4,8	6,5	4,5
(cv) <sup>2</sup>	17,6	22,6	42,3	20,3

date	n	Target (ng/mL)	Bias (%)	Bias <sup>2</sup>
02/11/2019	51	129	9,7	94,7
04/11/2019	52	4	0,0	0,0
06/11/2019	53	208	6,7	44,3
07/06/2019	54	285	-2,9	8,4
18/01/2019	55	42	14,5	209,1
11/09/2019	56	209	10,5	110,7
		TOTALE		
				5,0

number	mean	U <sub>rec</sub>
3	15,0	2,6

number	mean	U <sub>bias</sub>
3	93,4	5,7

combined uncertainty U <sub>c</sub>
14,2

expanded uncertainty for the two component U (k = 2)
28,5

Sampling uncertainty (recovery on faecal material) *			
legend	insert values calculation	OC Sensor dipsticks	
Number of Bias	3		
Target 10 mg	BIAS *	Bias <sup>2</sup>	u <sub>rec</sub> b)
Sample 1	24	576	18,88
Sample 2	3	9	
Sample 3	22	484	
		0	
		0	
		0	
		0	
		0	
		0	
		0	
		0	
MEAN BIAS	16,3		

Σ (bias <sup>2</sup> ) / n
18,9

\* values reported in literature [14] were used to estimate sampling related uncertainty

Expanded uncertainty considering all components (Sampling, Precision, Trueness)			
legend	measurements calculation	instrument n 3	
		U	47,3
PRECISION RELATED UNCERTAINTY (u <sub>imp</sub> )			
=>		u <sub>IMP</sub>	
			10,1
TRUENESS RELATED UNCERTAINTY (u <sub>bias</sub> )			
=>		u <sub>BIAS</sub>	
			10,0
SAMPLING REALTED UNCERTAINTY (u <sub>sampling</sub> )			
=>		u <sub>rec</sub>	
			18,9
COMBINED UNCERTAINTY (u <sub>c</sub> )		EXPANDED UNCERTAINTY (U)	
=>	23,6	k	U
		2	47,3
		3	70,9

a) 
$$u_{imp} = CV_{pooled} = \sqrt{\frac{(n_A - 1) \times CV_A^2 + (n_B - 1) \times CV_B^2 + \dots + (n_z - 1) \times CV_z^2}{(n_A + n_B + \dots + n_z) - n_{periods}}}$$

b) 
$$u_{bias} = \sqrt{(RMS_{bias})^2 + (U_{Cref})^2}$$

c) 
$$RMS_{bias} = \sqrt{\frac{\sum(bias_t)^2}{n}}$$

d) 
$$u_c = \sqrt{(u_{imp})^2 + (u_{bias})^2}$$



# Grazie dell'Attenzione

Il sottoscritto NOME SCOPANO COGNOME FLAURI

in qualità di relatore/relatore all'evento

XVII Congresso Nazionale GISCoR 2024  
che si terrà a Roma, in data 21-22 Novembre 2024  
presso  
Sede: Radisson Blu Ghr Roma

ai sensi dell'art. 3.2 sul Conflitto di Interessi, pag. 16,19 dell'Accordo Stato-Regione del 28 aprile  
2012, per conto di Planning Congress srl

dichiaro

che negli ultimi due anni non ho avuto rapporti diretti di finanziamento con soggetti  
portatori di interessi commerciali in campo sanitario

che negli ultimi due anni ho avuto rapporti diretti di finanziamento con i seguenti soggetti  
portatori di interessi commerciali in campo sanitario:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\*

che detti rapporti non sono tali da poter influenzare l'attività di alcune malattie  
nell'ambito dell'evento nel senso di pregiudicare la finalità esclusiva di  
educazione/formazione dei professionisti della Società nell'attività forensive.

Data e firma

10/9/24 SCOPANO