

## Valutazione multicentrica di un sistema analitico modulare: risultati della parte italiana

Stefano Dolcini, Lorenzo Prencipe\*, Sergio Brenna, Alessandro Marocchi

Laboratorio di Biochimica Clinica ed Ematologia Ospedale Cà Granda Milano Niguarda

\*Attualmente presso il laboratorio d'analisi chimico cliniche e microbiologiche presidio di Vimercate

### ABSTRACT

#### Multi-center evaluation of a modular analytical system: results from the italian participants

This study reports the results of multi-center evaluation of the analytical system for clinical chemistry manufactured by Roche Diagnostics. The data reported are those concerning the Italian contribution to the evaluation. Aim of this research was the field evaluation of the analytic performance, the software, and the reliability of the system. The evaluation was carried out in various European and American countries. Our laboratory was chosen for Italy. The configuration of our analytical system included the I.S.E. module and two photometric modules: D (Hitachi type 747) and P (Hitachi type 917). The instrument underwent series precision tests, repeatability tests on duplicate analysis series, comparative testing using two clinical chemistry analyzers, simulations of entire routines to compare the results with the lab's benchmark equipment, and error generation to gauge the instrument's reaction to a variety of situations. Overall, the entire multi-center evaluation took into consideration 84 analytes for a total of 720,000 results, 26,800 of which were obtained in our center. The CVs found for series imprecision were less than 2% for enzymes, substrates and electrolytes, and less than 4% per proteins and drugs. The CVs for imprecision between series were less than 4% and 5%, respectively.

### RIASSUNTO

Sono riportati i dati della sperimentazione multicentrica, per la parte che riguarda l'Italia di un nuovo sistema analitico per chimica clinica prodotto dalla Roche Diagnostics. Lo scopo dello studio è stato quello di valutare sul campo la performance analitica, il software e l'affidabilità del sistema. La valutazione ha coinvolto vari paesi europei e degli Stati Uniti; l'Italia è stata rappresentata dal Laboratorio di Biochimica Clinica ed Ematologia Ospedale Cà Granda Milano Niguarda. La configurazione del sistema analitico comprendeva il modulo I.S.E. e due moduli fotometrici: D (tipo Hitachi 747) e P (tipo Hitachi 917). Sullo strumento sono state eseguite prove di precisione tra serie, prove di ripetitività su serie analitiche in duplicato, prove di confronto fra i due analizzatori per chimica clinica, simulazioni di intere sedute analitiche per confrontare i risultati con lo strumento di riferimento del laboratorio, provocazione di errori per verificare il grado di risposta dello strumento alle diverse situazioni. Nel complesso l'intera valutazione multicentrica ha riguardato 84 analiti per un totale di 720.000 risultati di cui 26.800 ottenuti nel nostro laboratorio. I CV da noi trovati per l'imprecisione nella serie sono stati inferiori al 2% per enzimi, substrati ed elettroliti e inferiori al 4% per proteine e farmaci. I CV dell'imprecisione tra le serie sono stati rispettivamente inferiori al 4% e al 5%.

### INTRODUZIONE

Questo studio è cominciato nel Giugno del 1998 quando la Roche Diagnostics ha finito di approntare il nuovo sistema analitico denominato Modular. Prima di passare alla fase di commercializzazione l'azienda ha deciso di raccogliere informazioni utili, provenienti direttamente dagli utilizzatori per poter meglio valutare le performance del sistema analitico.

A differenza di tutti gli altri sistemi analitici progettati per la chimica clinica quello oggetto della valutazione è stato progettato per poter essere flessibile e adattabile (2-3-4) alle esigenze del laboratorio dell'utilizzatore (siste-

ma a composizione modulare).

La valutazione è stata di tipo multicentrico e ha coinvolto vari paesi sia europei che americani.

Il sistema MODULAR (D/P) è un analizzatore selettivo che ha la capacità di avere 63 metodi differenti in linea compresi tre metodi ISE.

Le caratteristiche innovative di questo strumento non riguardano tanto i singoli moduli degli analizzatori, ma il fatto che diversi moduli possono essere combinati a seconda delle esigenze analitiche e che tutte le unità sono gestite da un programma che tiene sotto controllo tutto il sistema. Inoltre tutti i moduli sono collegati tra loro in modo che il carico di lavoro possa essere gestito e distribuito in

modo ottimale tra i diversi moduli.

Il programma di gestione è decisamente innovativo. Permette l'utilizzo dei vari moduli in modo indipendente e anche l'esclusione di uno dei tre nel caso di guasto, in modo che gli altri due possano comunque proseguire nel lavoro.

Mediante l'utilizzo di un codice a barre è possibile memorizzare il tipo di reattivo, la data di scadenza e il relativo numero di lotto.

Il protocollo sperimentale è stato basato sui concetti dell'ECCLS (European Committee for Clinical Laboratory Standards) per i paesi Europei (5) e NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards per i Laboratori degli Stati Uniti (6), sulle Standard Operation Procedures (SOP) della Roche secondo le norme ISO DIN 9001.

Scopo dello studio è stato quello di valutare le prestazioni analitiche dell'intero sistema, e di verificare la praticabilità del software nell'ambito di un laboratorio ospedaliero di grandi dimensioni.

## MATERIALI E METODI

La configurazione strumentale da noi valutata comprendeva i seguenti moduli:

1. UNITA' DI CONTROLLO comprendente:
  - un personal computer equipaggiato con microprocessore Pentium II con stampante, collegato con lo strumento;
2. UNITA' CORE comprendente:
  - una stazione di carico con capacità massima di 300 campioni con avanzamento automatico
  - una stazione per il carico delle urgenze;
  - un trasportatore di racks a nastro per il trasporto dei campioni a tutti i moduli;
  - un lettore di codici a barre per le provette primarie;
  - una stazione per la ripetizione automatica di campioni fuori dagli intervalli prestabiliti (rerun) con attivazione a scelta via software
  - una stazione di scarico e deposito dei campioni analizzati
3. MODULI DI CHIMICA CLINICA comprendenti:
  - **modulo I.S.E.** Strumento in grado di misurare la concentrazione di elettroliti nel siero (Na, K, Cl) mediante l'utilizzo di elettrodi ione selettivi. Questo modulo è in grado di eseguire 800 determinazioni per ora.
  - **modulo D.** Modulo per analisi di chimica clinica costituito da un bagnomaria circolare termostato a 37°C in cui sono immerse le cuvette di reazione, un braccio meccanico per la dispensazione dei campioni e dei reattivi, una stazione di lavaggio cuvette e lavaggio aghi e infine una stazione di lettura. Il modulo D è basato sulla tecnologia DISPENSER in cui la dispensazione dei reattivi è fatta passare in un circuito all'interno dello strumento. Ogni analita determinato con questo modulo prevede l'utilizzo di due reattivi per un numero massimo caricabile a bordo di 32 corrispondenti a 16 analiti disponibili. Questo modulo ha una capacità di analisi di 2400 esami per ora.
  - **modulo P.** Modulo di analisi per chimica clinica generale e per la determinazione di analiti speciali (droghe, farmaci, proteine specifiche). E' basato su una tecnologia PIPET-

TOR che prevede la dispensazione dei reattivi mediante un braccio meccanico con aghi in acciaio per l'aspirazione. Questi vengono lavati ad ogni dispensazione in una stazione di lavaggio. I reattivi vengono caricati in un apposito piatto refrigerato dove il dispensatore può aspirarli. I reattivi che possono essere caricati nel piatto sono 88 (44 analiti disponibili). Lo strumento è in grado di mantenere una cadenza di 800 esami per ora.

I tre moduli erano connessi in modo che il campione poteva passare da un modulo all'altro in modo automatico.

## 4. CONTROLLI SIERI E REATTIVI

Materiali, reagenti, calibratori, sieri certificati NIST a due livelli utilizzati per la determinazione dell'accuratezza dello strumento sono stati forniti dalla direzione del progetto di sperimentazione della Roche Diagnostics.

Sono anche stati utilizzati:

Campioni freschi di pazienti: surplus dei sieri delle routine del laboratorio.

Pool di sieri / analiti particolari: quando necessario, per alcuni analiti sono stati preparati dei pool di sieri di campioni freschi di pazienti. I sieri sono stati selezionati in modo da avere livelli di concentrazioni secondo protocollo sperimentale.

## 5. SISTEMI DI CONFRONTO

Come sistema di confronto è stata utilizzata la strumentazione Hitachi 747 in dotazione al laboratorio. Dal confronto sono state escluse le proteine specifiche e la determinazione di farmaci, non eseguita sui sistemi Hitachi.

## PROTOCOLLO SPERIMENTALE (parte prima)

Il protocollo era costituito da due parti. Nella prima è stata valutata l'affidabilità analitica dello strumento. Nella seconda si è valutato la facilità d'uso e l'interfaccia con l'utente. Per lo svolgimento della prima fase del protocollo sono state effettuate le prove qui di seguito descritte.

### CQ In linea /imprecisione tra giorni

- Il controllo di qualità in linea è stato effettuato in ogni giorno lavorativo. Le analisi di controlli sono state eseguite in doppio campione con sieri a due livelli.
- Gli analiti presenti su entrambi i moduli sono stati determinati con entrambi i moduli attivi e successivamente con ogni singolo modulo.

### Precisione in una routine simulata

Le serie analitiche descritte in seguito sono state effettuate in due giorni diversi. Una serie di routine di simulazione standard è costituita da:

- Per ogni analita, una serie di 15 determinazioni iniziali con l'uso dello stesso tipo di campione, seguita da un numero di richieste a carattere casuale. La serie è eseguita su entrambi i moduli. I campioni sono selezionati in base all'analita da valutare. Nella serie di richieste casuali l'analita viene riproposto per almeno 10 volte.

- Come nell'esperimento precedente, ma con l'aggiunta di esperimenti di provocazione di errori simulati per verificare le conseguenze sul flusso di lavoro.

### Confronto fra metodi dei diversi moduli tramite simulazione di routine (serie 1\2 e moduli D\P)

Sono state eseguite due serie analitiche:

- *Serie uno e due:*

due singole serie analitiche, con la stessa tipologia di richiesta, con l'utilizzo di campioni freschi di pazienti compreso tra un minimo di 300 e un massimo di 500 vengono eseguiti su tutto il sistema MODULAR per una serie di determinazioni.

- *Moduli D\P*

In questo esperimento vengono utilizzati alternativamente il modulo D o il modulo P. Sui singoli moduli vengono eseguiti solo gli analiti comuni su tutti e due i moduli. In questo modo è possibile confrontare le performance dei due moduli.

### Simulazione di routine con confronto con lo strumento del laboratorio

Per questo esperimento vengono riutilizzate le richieste e i risultati della normale routine del laboratorio: un numero di campioni compresi tra un minimo di 300 e un massimo di 500 vengono rianalizzati sul MODULAR.

### Misura dell'accuratezza tra i laboratori

Durante 3 giorni; tre aliquote di un lotto speciale di due materiali di controllo (PNU e PPU) con valori di riferimento noti vengono analizzati sul modulo D e modulo P separatamente e sullo strumento di routine.

Per alcuni analiti è stato usato materiale speciale di riferimento con valori certificati (NIST CRM) analizzato in una singola giornata in triplicato.

I metodi oggetto della valutazione sono stati selezionati in base alle caratteristiche di applicazione sullo strumento (lunghezza d'onda, punti di misura, volumi di campioni e reagenti,

corso della reazione) compreso i metodi I.S.E. Per quanto riguarda gli analiti particolari sono stati selezionati metodi di chimica clinica secondo le opportunità offerte dai vari laboratori (Proteine specifiche, farmaci e altro).

L'elenco di tutti gli analiti presi in considerazione durante la sperimentazione qui di seguito.

### PROTOCOLLO SPERIMENTALE (parte seconda)

L'obiettivo di questa sezione del protocollo è stato quella di valutare l'interfaccia con utente, in particolare: la funzionalità, la facilità d'uso e le caratteristiche del flusso di lavoro nel tempo.

Per le caratteristiche e la facilità d'uso del software è stato predisposto un questionario di circa duecento domande i cui argomenti principali sono:

1. Ambiente; 2. Sistemazione dello spazio; 3. Addestramento; 4. Start-up/shut-down; 5. Processo dei campioni; 6. Flusso di lavoro; 7. Tempi; 8. Monitoraggio; 9. Calibrazione; 10. Q.C.; 11. Elaborazione dati; 12. Versatilità; 13. Manutenzione e risoluzione dei problemi.

### RISULTATI

#### Imprecisioni entro la serie

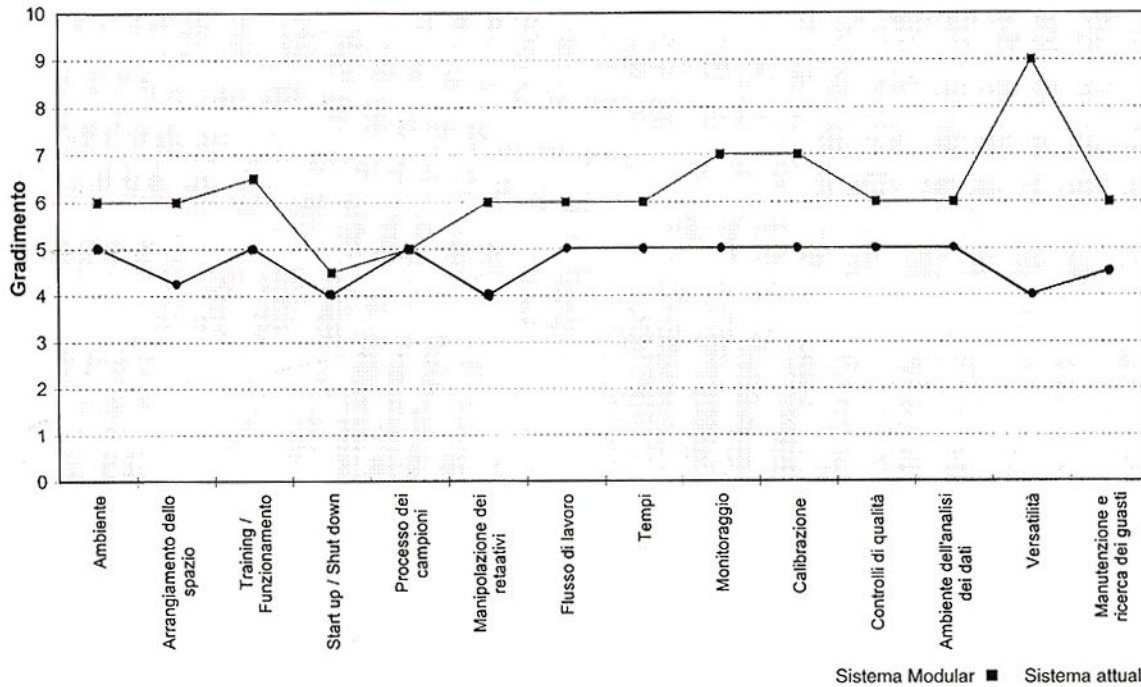
Sono stati messi sul piatto portacampioni dell'analizzatore ventuno campioni consecutivi per tipo di materiale per due giorni di seguito. L'imprecisione entro la serie è stata valutata per tutti gli analiti presenti sul MODULAR che sono stati assegnati al singolo laboratorio. Gli analiti presenti su entrambi i moduli sono stati misurati sia con entrambi i moduli attivi, sia con i singoli separatamente.

Le imprecisioni entro la serie per gli analiti presenti su entrambi i moduli sono state: per gli enzimi e i substrati, i CV è stato <2% Risultati più frequenti ≈1%; per elettroliti i CV è stato <1% Risultati più frequenti ≈ 0,5%; per proteine specifiche e farmaci <4% Risultati più frequenti ≈ 2%.

#### Analiti determinati

1	Fosfatasi alcalina
2	Amilasi totale
3	γGT
4	GOT IFCC senza P-5P
5	GPT IFCC senza P-5P
6	LDH
7	Bilirubina diretta
8	Bilirubina totale
9	Colesterolo totale
10	Colesterolo HDL
11	Creatinina
12	Trigliceridi
13	Urea
14	Acido urico

15	A 1 glicoproteina acida
16	B 2 microglobulina
17	HbA1c
18	IgA
19	IgG
20	IgM
21	Trasferrina totale
22	Digoxina
23	Fenobarbitale
24	Calcio
25	Ferro
26	Magnesio
27	Fosforo inorganico
28	Elettroliti (Na, K Cl)



**Figura 1**

Valutazione della praticabilità. Punteggi ottenuti, nel nostro laboratorio, dal sistema in valutazione e dal sistema finora utilizzato in routine, per ciascun gruppo di funzioni

### Precisione in routine simulata

#### Simulazione di routine in relazione agli effetti della randomizzazione

L'obiettivo di quest'esperimento è stato quello di valutare le performance tramite simulazione di richieste di routine. Sono stati usati pool di materiali di controllo e di campioni di sieri freschi. L'altro obiettivo è stato quello di testare la strumentazione per gli errori sistematici e per gli errori casuali valutando un numero cospicuo di risultati.

I CV (con le richieste randomizzate) sono state in generale nei limiti d'accettabilità. Le imprecisioni nella serie sono state leggermente più alte rispetto alle serie di riferimento, come ci si aspettava. I range d'accettabilità proposti per le deviazioni dei CV sono: ISE  $\pm 0,5$  ds; Enzimi / Substrati  $\pm 1$  ds; Proteine e Farmaci  $\pm 2$  ds.

Sono stati trovati risultati corretti con le seguenti eccezioni: gli errori casuali nel sistema ISE; gli errori sistematici causati dal carry-over nel caso del Mg e dell'IgM. Sono stati rilevati errori sistematici nel caso di campioni con bassi valori di Bilirubina diretta e Totale e nel caso delle GPT.

#### Simulazione di routine: confronto con lo strumento di routine presente nel laboratorio

Un certo numero di campioni (350) sono stati prelevati dalla routine del laboratorio effettuati sull'analizzatore H747 e trasferiti sul sistema MODULAR. La programmazione d'analisi e i risultati sono stati acquisiti e trasferiti al sistema modulare. Sono state utilizzate le medesime provette madri. L'accordo tra i due strumenti è risultato accettabile.

In tabella sono riportate le regressioni secondo Pas-

sing e Bablok degli analiti.

### VALUTAZIONE DEL SOFTWARE

La valutazione del software è stata la parte più importante della sperimentazione, anche se dal punto di vista pratico era la meno impegnativa.

La vera novità del sistema era il programma di gestione.

I punti salienti riguardavano i seguenti argomenti:

- il concetto di calibrazione a lunga durata;
- la gestione indipendente degli analizzatori.

#### Concetto di calibrazione a lunga durata

Questo nuovo tipo di calibrazione dello strumento non si discosta da quello tradizionale (calibrazione giornaliera): la differenza consiste nel fatto che può essere utilizzata per un periodo di tempo più lungo. Questo incide sul consumo dei reattivi e di conseguenza sul contenimento dei costi.

Il software dello strumento è in grado di gestire tutta la parte inerente la calibrazione, in modo tale che viene suggerito all'operatore solo quando e cosa calibrare.

#### Gestione indipendente degli analizzatori

Il sistema è composto da tre analizzatori, due fotometrici e uno ISE.

Tramite software è possibile abilitare o disabilitare i vari moduli a secondo delle necessità. Ad esempio in caso di avaria di uno dei moduli è possibile disabilitare quello non funzionante; se gli altri moduli sono configurati con la

Analiti	Regressione secondo Passing /Bablok				
	N Campioni analizzati	M Coefficiente angolare	Q Intercetta	Md % di scostamento dalla regress	R x/y
GPT	206	0,920	+0,860	2,988%	0,999
Bil-D	152	1,050	-2,565	5,879%	0,962
Acid Uric	128	0,968	-0,096	9,034%	0,999
Mg	35	1,000	-0,015	0,053%	0,950
ALP	159	0,982	+0,737	10,967	0,999
GOT	214	0,944	+0,640	4,724	0,999
GGT	170	1,000	+1,000	3,859	1,000
LDH	95	0,976	+25,807	38,604	0,964
BIL-T	170	1,071	-0,259	1,010	1,000
COLEST	117	0,987	-0,070	0,244	0,922
CREAT	239	1,138	-26,768	9,698	0,998
HDL	56	0,987	-0,010	0,050	0,995
TRIG	108	1,000	+0,017	0,161	0,987
UREA	233	1,043	+0,083	0,655	0,997
AMILASI	65	0,973	+0,000	1,695	1,000
Ca	118	1,125	-0,213	0,092	0,936
Cl	205	0,857	+11,302	3,199	0,846
K	213	1,042	-0,028	0,143	0,980
Na	213	1,053	-5,840	2,827	0,869

stessa tipologia di esami il lavoro analitico può essere eseguito su questi ultimi.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La strumentazione da noi valutata è stata progettata per far fronte alle esigenze di automazione per il Laboratorio clinico per il prossimo decennio. Queste si possono riassumere nei seguenti punti:

- riduzione consistente dei costi per analisi;
- integrazione di più tecnologie in una singola strumentazione;
- facilitazione del lavoro per il personale del laboratorio tramite l'unificazione delle interfacce con gli operatori e riducendo in modo consistente il numero di strumenti oggi presenti in laboratorio;
- adeguamento alle esigenze economiche e organizzative del laboratorio.

La quantità di metodi che possono essere messi in linea, è elevata (oltre 100): ciò consente di unificare diversi tipi di analizzatori in un unico sistema. Nella configurazione che noi abbiamo valutato possono essere eseguite sullo stesso sistema, le misure degli analiti analisi di chimica clinica tradizionale (urea, glucosio, colesterolo ecc.), delle proteine specifiche, dei farmaci, e delle emoglobine glicate. Questo significa che concentrando tutte queste determinazioni su un solo sistema, il numero di analizzatori presenti in laboratorio è ridotto in modo consistente.

I punti critici del sistema Modular che sono stati evi-

denziati sono i seguenti:

- Mancanza di un sistema di back -up: non era chiaro durante la fase di valutazione come si può creare un sistema di back-up;
- La fase di accensione e di riavviamento, nel caso di interruzione durante il ciclo produttivo è certamente troppo lunga (circa 30 minuti) per un laboratorio di produzione in fase continua.

Il sistema analitico oggetto della valutazione multicentrica ha dimostrato nel complesso d'avere caratteristiche di praticabilità e d'affidabilità decisamente innovative, inoltre la valutazione multicentrica ha permesso di raccogliere informazioni, valutazioni e suggerimenti degli utenti molto preziosi per la messa a punto dello strumento affinché anche i punti critici possano essere migliorati.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bablok W, et al. CAEv - program for computer aided evaluation. *J Autom Chem.* 1991;13:167-79.
2. R. A. Felder. Modular workcell: modern methods for laboratory automation. *Chimica clinica Acta.* 1998; 278: 257-67.
3. R.A. Felder. Modular Laboratory robotics and Automation. *JIFCC.* 1997; vol 9:2.
4. European Clinical Laboratory febbraio 1999.
5. Guidelines for the evaluation of Analysers in Clinical Chemistry. ECCLS document Beuth, Berlin, Köln 1986; 3: 2.
6. NCCLS evaluation protocol, order code SC1 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova PA. 1992 ISBN-1-56238-146-6.