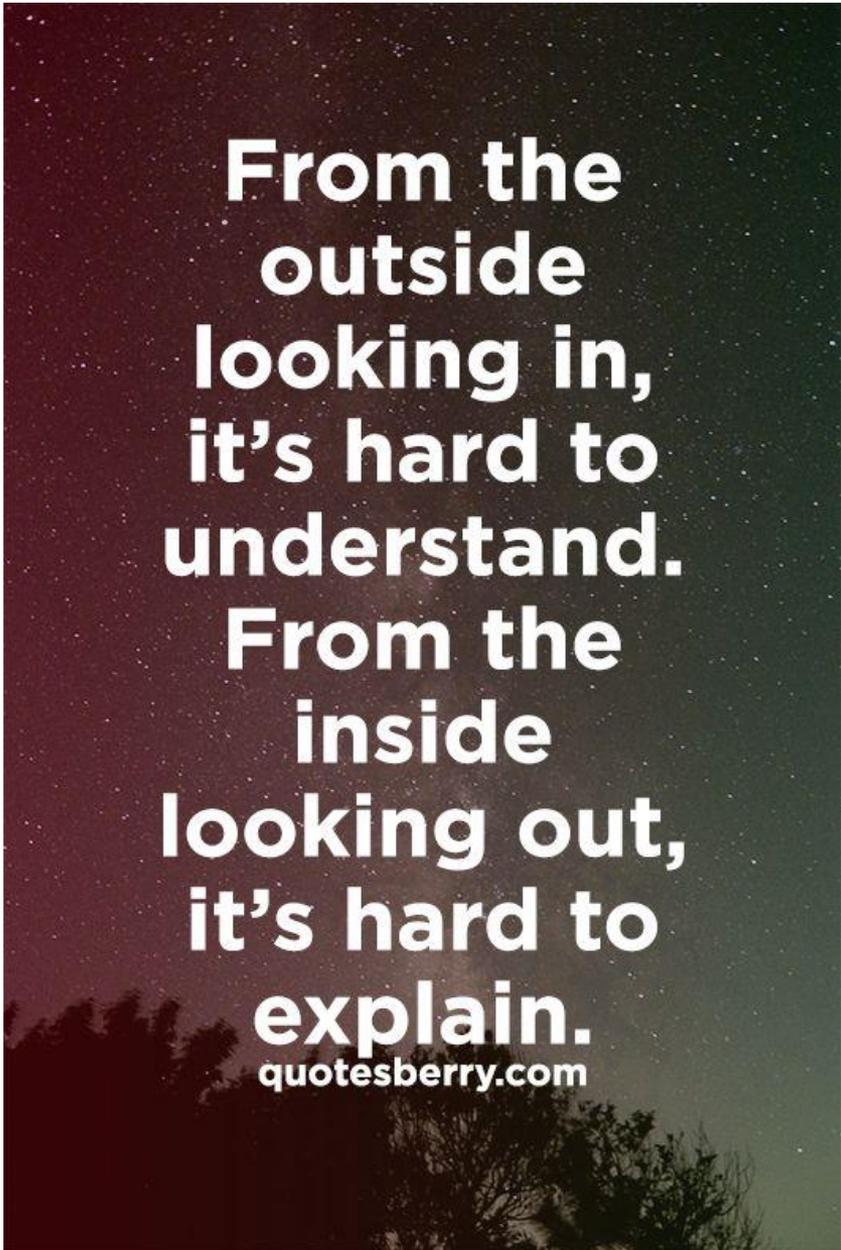


**AIBT** Winter School

Ravascletto (UD) 3-5 dicembre 2015

# Controllo del processo e validazioni: Standard EFI e buona pratica di laboratorio

Cinzia Vecchiato  
Lab. Immunogenetica Bolzano



**From the  
outside  
looking in,  
it's hard to  
understand.  
From the  
inside  
looking out,  
it's hard to  
explain.**  
[quotesberry.com](http://quotesberry.com)

# Controllo del processo e validazioni: Standard EFI e **buona pratica di laboratorio**

## Per **buona pratica di laboratorio**

(BPL; in lingua inglese: **Good Laboratory Practice**, GLP)

si intende un complesso di regole riguardanti le procedure organizzative e le condizioni con cui, nei cosiddetti "Centri di Saggio", sono programmate, eseguite, controllate, registrate e archiviate le ricerche di laboratorio per le prove non cliniche

# BPL riguarda principalmente industria

Introdotta negli Stati Uniti dalla US Food and Drug Administration (FDA) nel 1976, al fine di assicurare un adeguato controllo sulla qualità degli studi non clinici di laboratorio comprovanti la non pericolosità dei prodotti (farmaci, additivi alimentari ecc.) sottoposti a regime autorizzativo.

La regolamentazione per la B.P.L. emanata dalla FDA è stata utilizzata come base per lo sviluppo dei principi di Buona Pratica di Laboratorio da parte dell'OCSE (B.P.L. OCSE). La normativa in ambito comunitario e nazionale in materia di Buona Pratica di Laboratorio fa riferimento alle norme **OCSE**



# **La materia è di competenza del Ministero della salute, settore salute, Dipartimento della Sanità Pubblica e dell'Innovazione - Direzione Generale della Prevenzione - Ufficio VI**

## **CAMPO DI APPLICAZIONE**

I principi di BPL devono essere applicati alle sperimentazioni non cliniche destinate ad appurare la sicurezza delle sostanze contenute in prodotti farmaceutici, antiparassitari, prodotti cosmetici, medicinali ad uso veterinario, additivi alimentari, additivi per mangimi e prodotti chimici industriali.

<http://www.salute.gov.it>

# Good Laboratory Practice

Costituisce l'insieme di principi nell'ambito dei quali le attività di laboratorio devono essere programmate, eseguite controllate, registrate, riportate e archiviate per garantire la qualità dei dati prodotti e forma una base affidabile per "risk/safety assessment"



**CONTENTS**

	Page
<b>PART ONE: THE OECD PRINCIPLES OF GLP</b>	
<b>SECTION I INTRODUCTION</b> .....	13
Preface .....	13
1. Scope .....	13
2. Definitions of Terms .....	14
2.1 Good Laboratory Practice .....	14
2.2 Terms Concerning the Organisation of a Test Facility .....	14
2.3 Terms Concerning the Non-Clinical Health and Environmental Safety Study .....	15
2.4 Terms Concerning the Test Item .....	16
<b>SECTION II GOOD LABORATORY PRACTICE PRINCIPLES</b> .....	17
1. Test Facility Organisation and Personnel .....	17
1.1 Test Facility Management's Responsibilities .....	17
1.2 Study Director's Responsibilities .....	18
1.3 Principal Investigator's Responsibilities .....	19
1.4 Study Personnel's Responsibilities .....	19
2. Quality Assurance Programme .....	20
2.1 General .....	20
2.2 Responsibilities of the Quality Assurance Personnel .....	20
3. Facilities .....	21
3.1 General .....	21
3.2 Test System Facilities .....	21
3.3 Facilities for Handling Test and Reference Items .....	21
3.4 Archive Facilities .....	22
3.5 Waste Disposal .....	22
4. Apparatus, Material, and Reagents .....	22

5. Test Systems .....	22
5.1 Physical/Chemical .....	22
5.2 Biological .....	22
6. Test and Reference Items .....	23
6.1 Receipt, Handling, Sampling and Storage .....	23
6.2 Characterisation .....	23
7. Standard Operating Procedures .....	24
8. Performance of the Study .....	25
8.1 Study Plan .....	25
8.2 Content of the Study Plan .....	26
8.3 Conduct of the Study .....	27
9. Reporting of Study Results .....	28
9.1 General .....	28
9.2 Content of the Final Report .....	28
10. Storage and Retention of Records and Materials .....	29

**PART TWO: OECD COUNCIL ACTS RELATED TO GLP PRINCIPLES AND COMPLIANCE MONITORING**

<i>Decision of the Council concerning the Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals [C(81)30(Final)]</i> .....	33
<i>Council Decision-Recommendation on Compliance with Principles of Good Laboratory Practice [C(89)87(Final)]</i> .....	35
<i>Council Decision on Adherence of Non-Member Countries to the Council Acts related to the Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals [C(81)30(Final) and C(89)87(Final)] [C(97)114(Final)]</i> .....	39

**PRINCIPI DI BUONA PRATICA  
DI LABORATORIO DELL'OCSE**

Monografia ambiente n. 45



**STANDARDS FOR  
HISTOCOMPATIBILITY  
& IMMUNOGENETICS  
TESTING**

**INDICE**

Prolessa .....	p.	5
<b>PARTE PRIMA</b>		
Principi di buona pratica di laboratorio dell'OCSE .....	»	7
Sezione I INTRODUZIONE .....	»	7
Prefazione .....	»	7
Campo di applicazione .....	»	7
Definizione dei termini .....	»	8
Sezione II PRINCIPI DI BUONA PRATICA DI LABORATORIO .....	»	9
Organizzazione del Centro di saggio e del personale .....	»	9
Programma di assicurazione di qualità .....	»	11
Strutture .....	»	12
Apparecchiature, materiali e reagenti .....	»	13
Sistemi di saggio .....	»	13
Sostanze in esame e di riferimento .....	»	14
Procedure operative standard .....	»	15
Esecuzione dello studio .....	»	16
Relazione sui risultati dello studio .....	»	18
Deposito e conservazione dei documenti e dei materiali .....	»	19

**Table of Contents**

SECTION A – GENERAL POLICIES	3
SECTION B – PERSONNEL QUALIFICATIONS	4
SECTION C – QUALITY ASSURANCE	6
SECTION D – HLA ALLELES AND ANTIGENS	16
SECTION E – SEROLOGICAL HLA CLASS I AND CLASS II TYPING	18
SECTION F – ANTIBODY SCREENING AND CROSSMATCHING	21
SECTION G – RENAL AND/OR PANCREAS TRANSPLANTATION	23
SECTION H – OTHER ORGAN TRANSPLANTATION	26
SECTION I – HAEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION	27
SECTION J – HLA / HPA / HNA AND TRANSFUSION	31
SECTION K – DISEASE ASSOCIATION	34
SECTION L – NUCLEIC ACID ANALYSIS	35
SECTION M – FLOW CYTOMETRY	43
SECTION N – ENZYME-LINKED IMMUNO SORBENT ASSAY (ELISA)	49
ABBREVIATIONS	51
DEFINITIONS	52

# Controllo del **processo** e validazioni: Standard EFI e buona pratica di laboratorio

- Sequenza finalizzata e interconnessa di attività e/o compiti con lo scopo di raggiungere il risultato previsto
- Tutte le attività che si svolgono in una struttura fanno parte di un processo: quindi attenzione alle singole attività e al modo in cui interagiscono tra loro. Tenendo ben presente il peso della componente umana

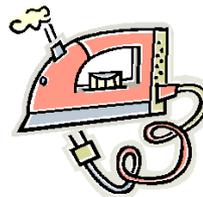
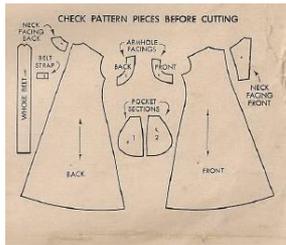
# Processo

La presenza di **attività strutturate scomponibili in operazioni elementari**

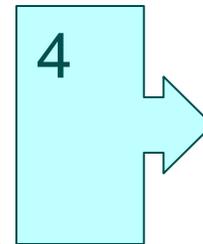
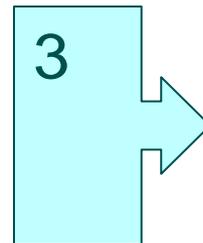
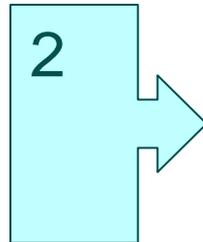
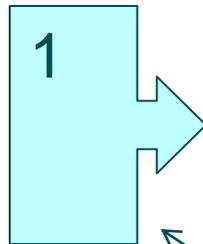
La **sequenza logico-temporale** di tali operazioni

La presenza di uno o più **input** che si trasformano in **output**

La presenza di un **destinatario** del valore prodotto.



Materia  
prima

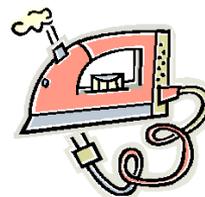
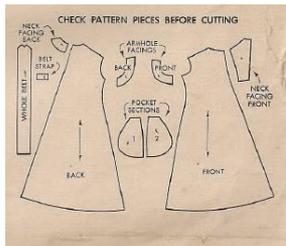


Prodotto

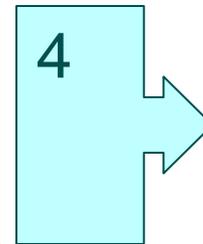
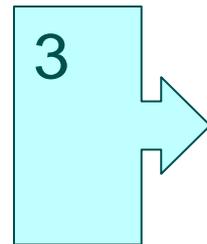
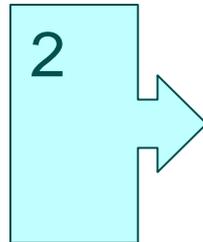
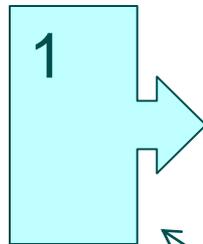
controlli

# Controllo di processo

- Connesso a fenomeni di produzione
- FDA pubblica una guida per l'industria sulla validazione di processo



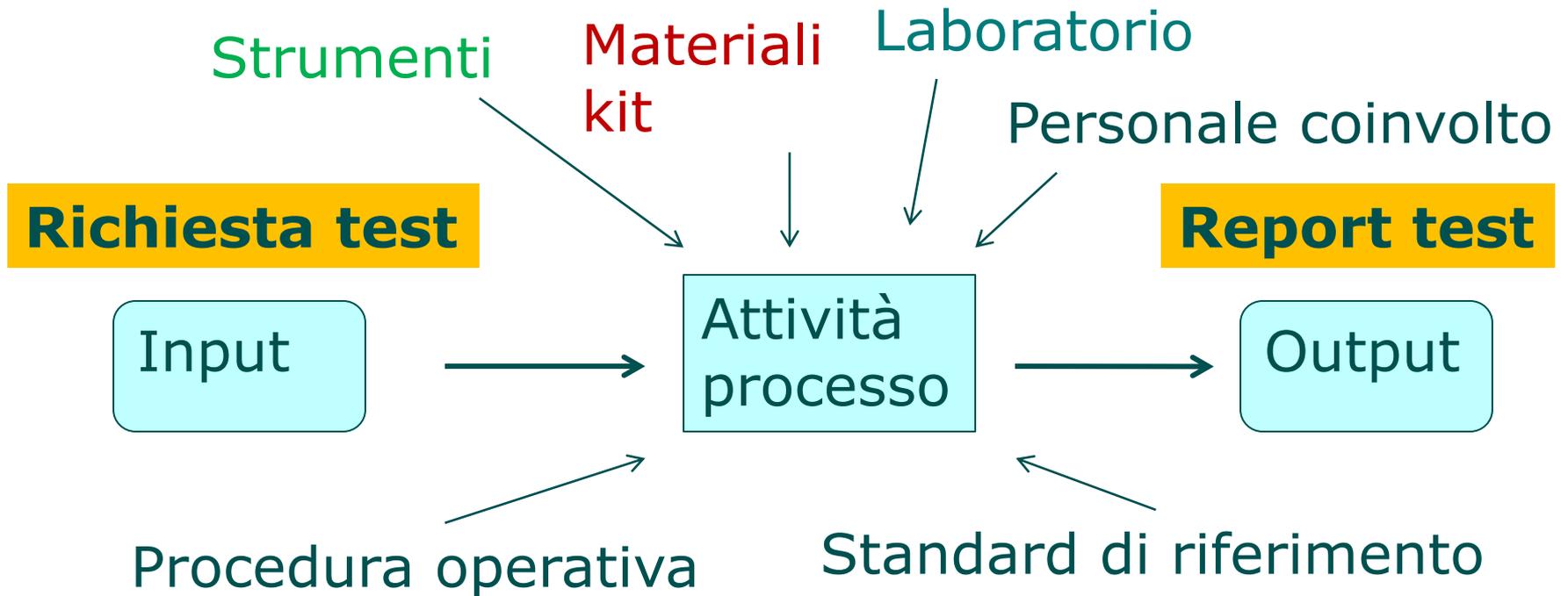
Materia  
prima



Prodotto

controlli

# Controllo del processo



# Differenza tra Processo e Procedura

- Il **processo** è una sequenza di attività svolte con modalità non predefinite e che, quindi, verranno scelte di volta in volta dagli attori del processo;
- la **procedura**, invece, è una sequenza di operazioni ben precise e definite (a volte stabilite dalla norma) che non lasciano alcun margine di discrezionalità agli operatori.

# Cosa dicono gli Standard

- *ISO 15189*
  - *3.17 Process: set of interrelated or interacting activities which transform inputs in outputs*
- JACIE
  - *Process control: The standardization of processes in order to produce predictable output*

# ISO 15189

ISO 15189:2012(E)

- 3.17 process set of interrelated or interacting activities which transform inputs in outputs

Contents	Page
Foreword .....	iv
Introduction .....	v
1 Scope .....	1
2 Normative references .....	1
3 Terms and definitions .....	1
4 Management requirements .....	5
4.1 Organization and management responsibility .....	5
4.2 Quality management system .....	8
4.3 Document control .....	9
4.4 Service agreements .....	10
4.5 Examination by referral laboratories .....	11
4.6 External services and supplies .....	12
4.7 Advisory services .....	12
4.8 Resolution of complaints .....	12
4.9 Identification and control of nonconformities .....	12
4.10 Corrective action .....	13
4.11 Preventive action .....	13
4.12 Continual improvement .....	14
4.13 Control of records .....	14
4.14 Evaluation and audits .....	15
4.15 Management review .....	17
5 Technical requirements .....	18
5.1 Personnel .....	18
5.2 Accommodation and environmental conditions .....	20
5.3 Laboratory equipment, reagents, and consumables .....	22
5.4 Pre-examination processes .....	25
5.5 Examination processes .....	28
5.6 Ensuring quality of examination results .....	31
5.7 Post-examination processes .....	33
5.8 Reporting of results .....	33
5.9 Release of results .....	35
5.10 Laboratory information management .....	36
Annex A (informative) Correlation with ISO 9001:2008 and ISO/IEC 17025:2005 .....	38
Annex B (informative) Comparison of ISO 15189:2007 to ISO 15189:2012 .....	43
Bibliography .....	47

# Jacie

- *Process control: The standardization of processes in order to produce predictable output.*
- PART CM Marrow collection facility standards  
CM8 **process controls**
- PART C APHERESIS COLLECTION FACILITY  
STANDARDS C8 **process controls**
- PART D: PROCESSING FACILITY STANDARDS  
D8 **process controls**

# Cosa dicono gli Standard

- **EFI**
  - **Non definisce la terminologia ma ... non parla d'altro**

***Ongoing monitoring process***



# Standards v.6.3

## C8 System for Continuous Test Evaluation and Monitoring

**C8.2** The laboratory must have mechanisms in place for **continuous monitoring of all test systems and equipment used**, including:

**C8.2.1 Validation/verification**, *before introduction into routine use, of all new tests, by systematic comparative evaluation of results obtained in parallel with the new and the standard system*

**C8.2.2** Regular evaluation of results obtained in external and internal QC testing

**C8.2.3** Regular monitoring of test validity in routine testing, by recording

observations diverging from the expected results (e.g. cross-reactivity of probes or primer mixes, day-to-day variations)

**C8.2.4** Comparing test results and documenting inconsistencies, if the same test is performed using different techniques

**C8.2.5** Identifying and evaluating inconsistencies between test results and clinical data or diagnostic parameters provided

**C8.2.6** **Written evidence of the ongoing monitoring process must be available in the laboratory for each method performed**

# EFI Standards v6.3

## Ongoing monitoring process

New test  
Policies and  
Procedures  
(C5, C8.2.1)



Perform according to  
Standards and requirements  
(C1,C2,C3,C4, C7,)

Identify  
and modify  
Corrective action  
Written evidence of monitoring  
(C8.2, C8.2.6, C10)

Validation/verification  
(C8.2.1, C8.2.3,C8.2.4)  
Quality control (C6)



## Standards v.6.3



### C8 System for Continuous Test Evaluation and Monitoring

**DO**

**C8.2.1** prima di introdurre un test in routine dobbiamo **VALIDARE E VERIFICARE** per mezzo del confronto sistematico dei risultati ottenuti con quelli del metodo standard

e

**C8.2.2** con quelli del controllo di qualità interno ed esterno



## Standards v.6.3



### C8 System for Continuous Test Evaluation and Monitoring

#### CHECK

**C8.2.3** registrare tutte le volte che il risultato si discosta dall'atteso (e.g. cross-reactivity of probes or primer mixes, day-to-day variations)

**C8.2.4** confrontare test eseguiti con tecniche diverse e documentare quando i risultati siano discordanti (NB nell'attività di routine)

#### ACT

**C8.2.5** identificare e valutare inconsistenza tra dati clinici e risultati dei test o altri parametri diagnostici forniti



## Standards v.6.3

### C8 System for Continuous Test Evaluation and Monitoring

**C8.2.6 Il controllo continuo dei dati deve essere documentato per iscritto per tutti i metodi eseguiti in laboratorio**



# Standards v.6.3



## **PLAN**

**A Applicare gli Standard e definire le nostre attività**

**C10 Azioni correttive**  
**Quality Assurance Evaluation**

**C5 Attività** descrivendole nel  
**Laboratory Procedure Manual**

**C7 Addestramento, aggiornamento e verifica della competenza**  
**Competency Evaluation and Continuous Education**

**TRUST** but Verify (*continuously*)

**Verify** but also Validate

**Verification** implica che un processo/prodotto rispetti norme, requisiti, caratteristiche specifiche o condizioni  
Connesso a Qualificazione es. di apparecchiature la verifica che funzionino correttamente e producano i risultati attesi

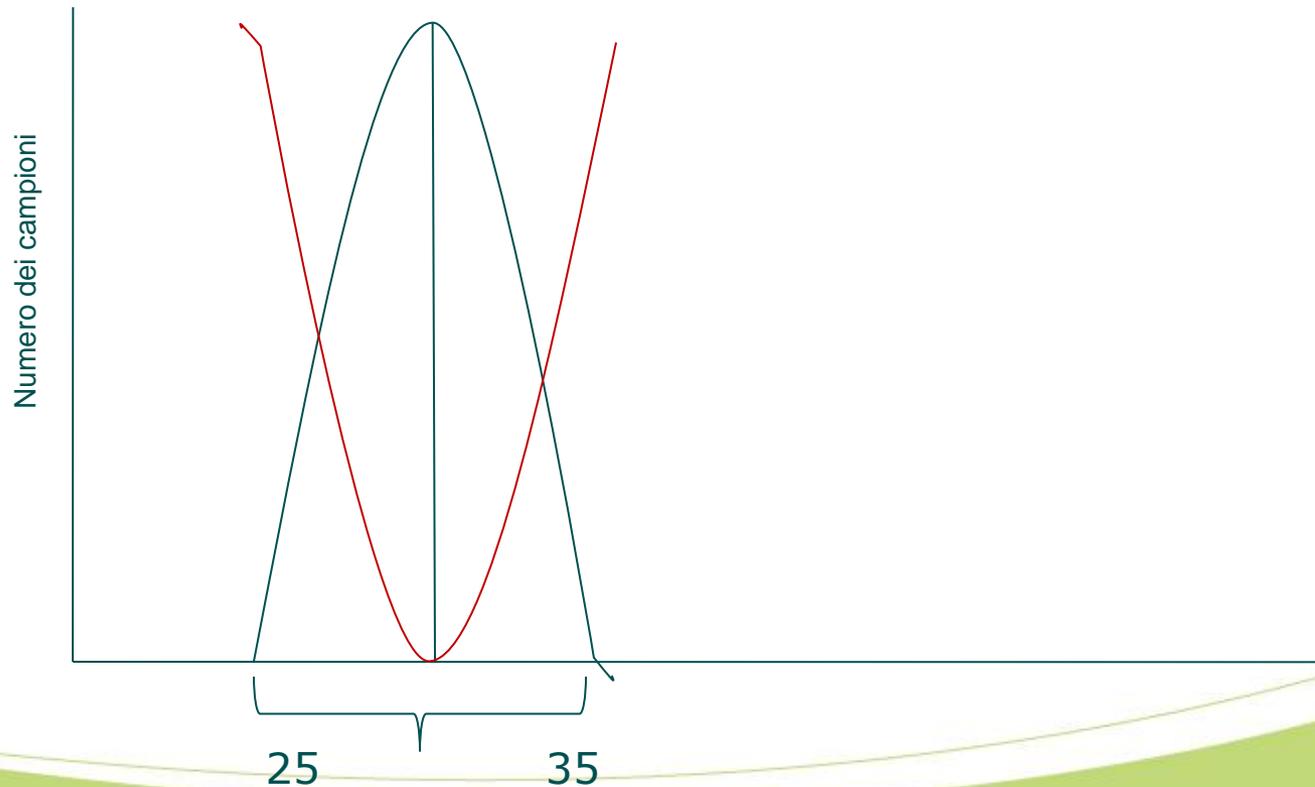
**Validation** implica che un prodotto servizio, sistema soddisfi la necessità operativa dell'utente  
Connesso ai *Processi* è l'evidenza documentata che un processo, attrezzatura, struttura o sistema, che opera secondo parametri stabiliti, possa operare in modo efficace e riproducibile, fornendo risultati che rispettano specifiche predeterminate



# Verificare/Validare

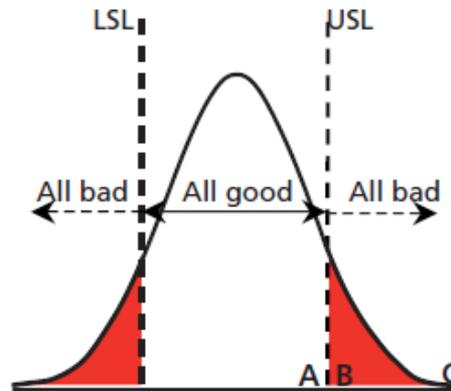
Accettabile [ ] DNA tra 25  
e 35 ng/ul

Valore  
ottimale



# Taguchi loss function curve

**Figure 1:** The original industrial view of variation.

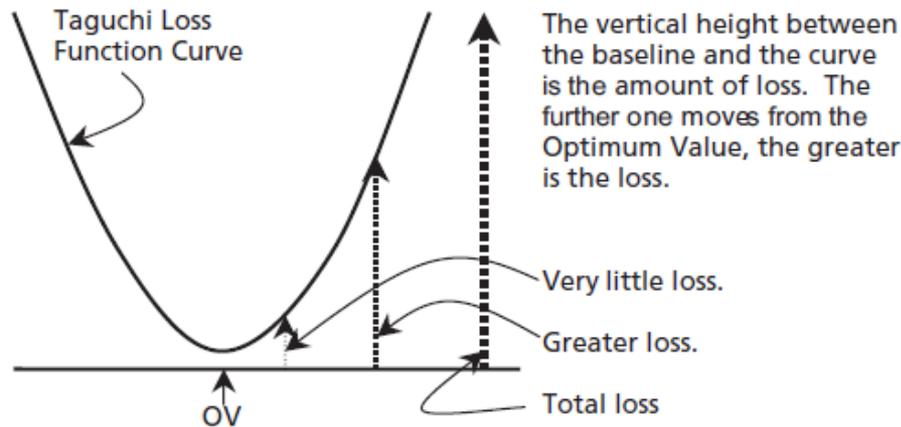


The old view states that **A** is a good result, and that **B** and **C** are equally bad.

However, in terms of their physical properties, **B** and **C** may be nearly identical.

Is there a better way to describe their varying degrees of 'goodness' or 'badness'?

**Figure 2:** The Taguchi Loss Function Curve.



The vertical height between the baseline and the curve is the amount of loss. The further one moves from the Optimum Value, the greater is the loss.

Very little loss.

Greater loss.

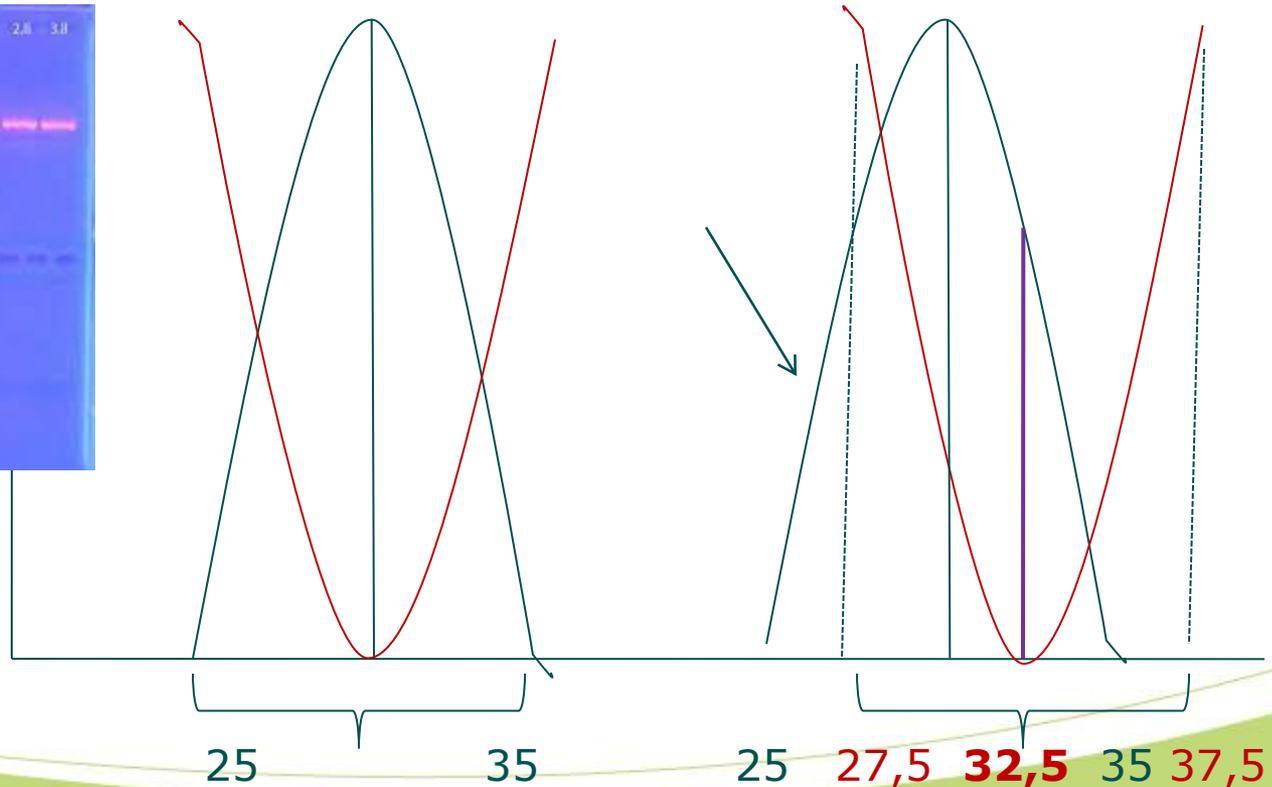
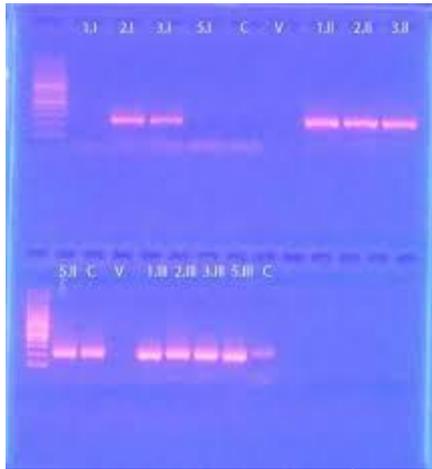
Total loss



# Verificare/Validare

Accettabile [ ] DNA tra 25  
e 35 ng/ul

Valore  
ottimale



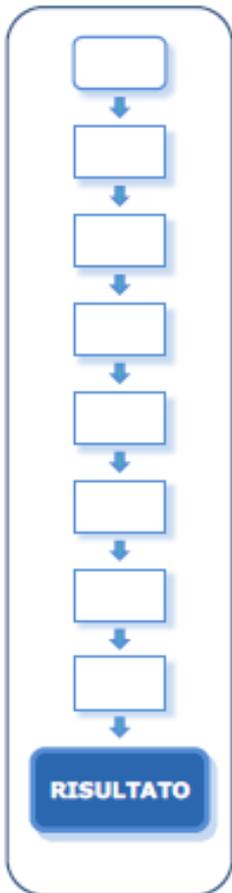
# Analisi di processo

- Smontare le proprie attività per migliorare la gestione e raggiungere un obiettivo prefissato



# SCOPO dell'analisi di processo:

- Semplificare
- Standardizzare
- Migliorare il risultato finale (prodotto)
- Ridurre sprechi (anche di tempo evitare attività ripetute)
- Evitare errori
- Inserire sistemi di monitoraggio



La descrizione/analisi di un processo dovrebbe prevedere sempre:

- la sequenza delle fasi (attività) in cui si sviluppa il processo;

e, per ogni fase, gli elementi che incidono in misura significativa sul livello di qualità dei risultati attesi per il processo, come:

- locali/aree in cui si esplicano le attività;
- materiali;
- apparecchiature;
- sistemi gestionali informatizzati;
- metodi;

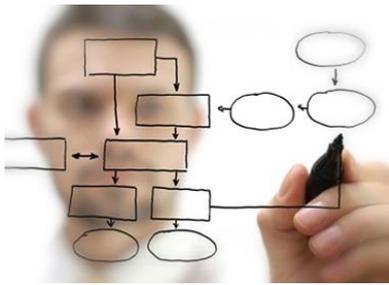
Può essere utile, in fase di analisi, indicare gli standard operativi applicati in ogni fase:

- parametri di processo (es. temperatura, tempi, velocità);
- procedure, piani o altri documenti che definiscono le modalità di svolgimento di determinate attività.

La descrizione e la analisi di un processo devono essere svolte dal soggetto responsabile del processo stesso (es. Responsabile di Settore) e da tutte le figure professionali coinvolte, con il supporto metodologico del Responsabile della Funzione di Garanzia della Qualità.

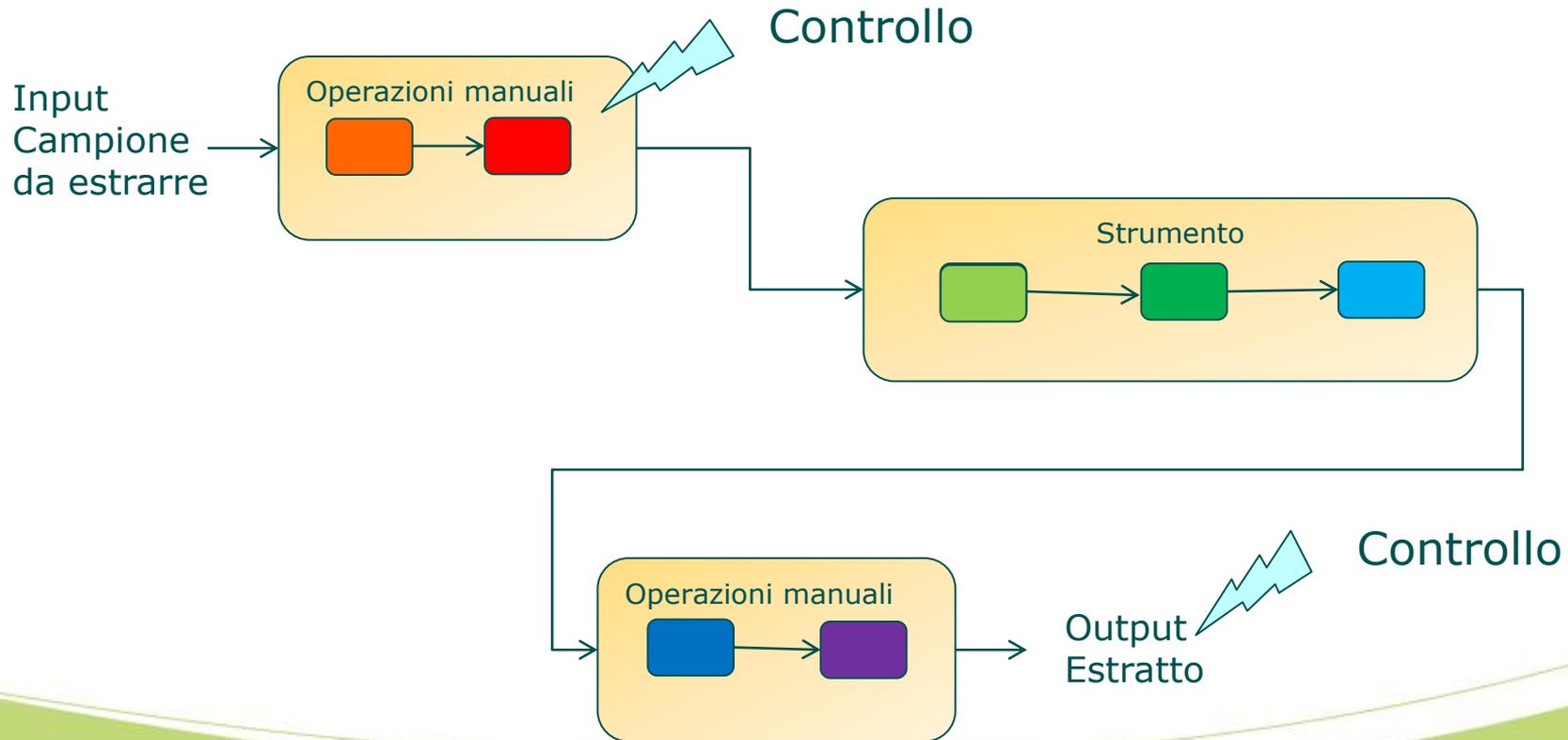
# ESEMPIO Estrazione di DNA con metodo semiautomatico

- **FASE**
- INPUT Prelievo
- Preparazione delle cuvette
- Preparazione dello strumento
- Introduzione cartucce
- Diluizione
- Trasferimento
- OUTPUT Estratto in uso

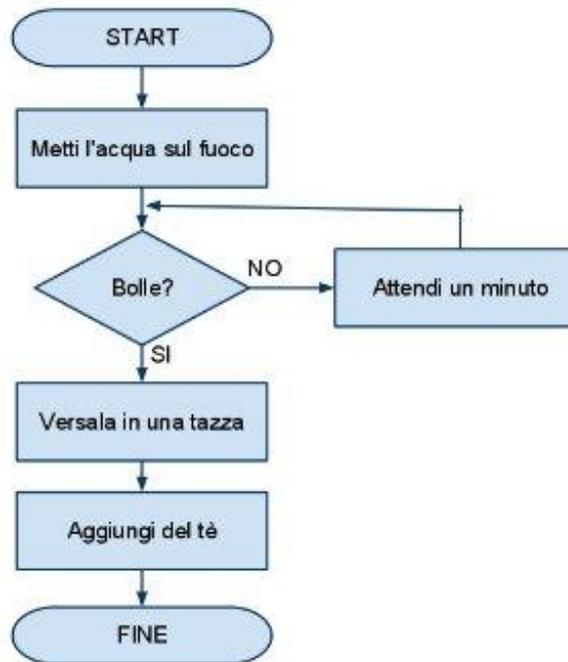


# Mappatura di processo

Identificarlo e conoscerlo:  
raccogliere tutte le informazioni e individuare i punti deboli



# Diagrammi di flusso



# Mappatura di processo

Fig.3 - Esempio di schema per la descrizione e la analisi di un processo

Fase processo	Locali/ aree	Apparecchiature	Sistemi gestionali informatizzati	Materiali	Metodi	Standard operativi	
						Parametri processo	Procedure, piani, altri documenti
1							
2							
3							
4							



**CENTRO  
NAZIONALE  
SANGUE**



**Guida alle attività di convalida dei processi  
nei Servizi Trasfusionali e nelle Unità di Raccolta del  
sangue e degli emocomponenti**

# ESEMPIO Estrazione DNA con Metodo semiautomatico

FASE	Variabili	Eventi critici	Controlli in essere
<p>Prelievo </p>	<p>Tipo di prelievo modalità conservazione campione</p>	<p>Numero di GB (per prelievo di sangue) Anticoagulante o no, malconservazione</p>	<p>Verifica visiva della provetta</p>
<p>Preparazione delle cuvette </p>	<p>Identificazione Quantitativo introdotto Caratteristiche del campione (BC,SI)</p>	<p>Presenza di omonimi Identificazione con numero apposto manualmente Assenza di piano di lavoro del gestionale</p>	<p>Controllo due operatori Predisposizione di piano di lavoro manuale</p>
<p>Preparazione dello strumento  </p>	<p>Check di funzionamento Pulizia Manutenzione</p>	<p>Malfunzionamento Contaminazione</p>	<p>Verifiche periodiche Pulizia Verifiche di contaminazione</p>
<p>Introduzione cartucce </p>	<p>Lotto Conservazione Posizione</p>	<p>Lotto non conforme Materiale alterato per malconservazione Posizionamento non corretto</p>	<p>Controllo dei lotti in entrata, Registrazione dei dati</p>
<p>Diluzione Trasferimento  </p>	<p>Operatore dipendenti</p>	<p>Identificazione Passaggio manuale</p>	<p>Predisposizione dei tubi di stoccaggio secondo schema semina</p>
<p>Estratto in uso</p>	<p>Concentrazione, purezza</p>	<p>Scarsa qualità, scambio del campione</p>	<p>Misurazione della concentrazione e ratio A260/A280</p>

# Analisi di processo

Necessario a questo punto trovare un modo per verificare l'andamento del fenomeno che osserviamo:

## L'indicatore



# Indicatori

Ciò che è misurabile  
misuralo, ciò che non è  
misurabile, rendilo tale

*Galileo Galilei*

Variabili misurabili che descrivono l'andamento di un fenomeno, possono essere espressi da valore numerico % media o altri parametri statistici

Tipo di indicatore

**Di esito:** misura quello che succede

**Di processo:** misura il percorso

Esempio di **indicatore di processo:**

## **Processo Test→Risultato**

QUANTE VOLTE UN ESAME NON DA' UN ESITO  
UTILIZZABILE

### **Numero di test ripetuti**

Definisco lo Standard: % ripetizioni/anno

Mi do di uno strumento di registrazione modulo  
di rilevazione

Individuo un responsabile della rilevazione



Esempio di **indicatore di esito o risultato**

**Processo**

**Estrazione di DNA → Quantità del DNA estratto**

Determinazioni di concentrazione  
DNA fuori dal range nell' unità di tempo  
(numero, %)



Standard



Strumento documento di registrazione



Responsabile della rilevazione

ISO 15189:2012

## **Indicatore di qualità**

Misura del grado con cui determinate caratteristiche inerenti un sistema rispettano i requisiti richiesti

**Gli indicatori di qualità** sono variabili quantitative o parametri qualitativi che registrano un certo fenomeno, ritenuto appunto "indicativo" di un fattore di qualità. (**Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 19 maggio 1995**)

**E gli Standard EFI** Capitolo C1 Quality Assurance

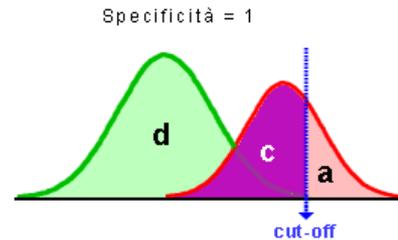
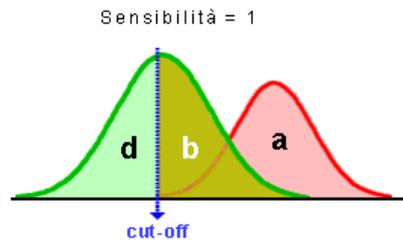
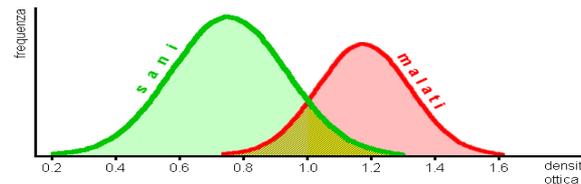
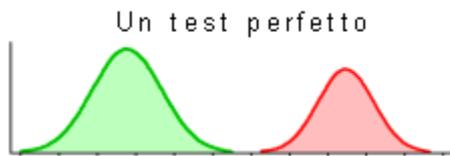
# Requisiti di un buon indicatore

Pertinenza: misura ciò che si vuole valutare

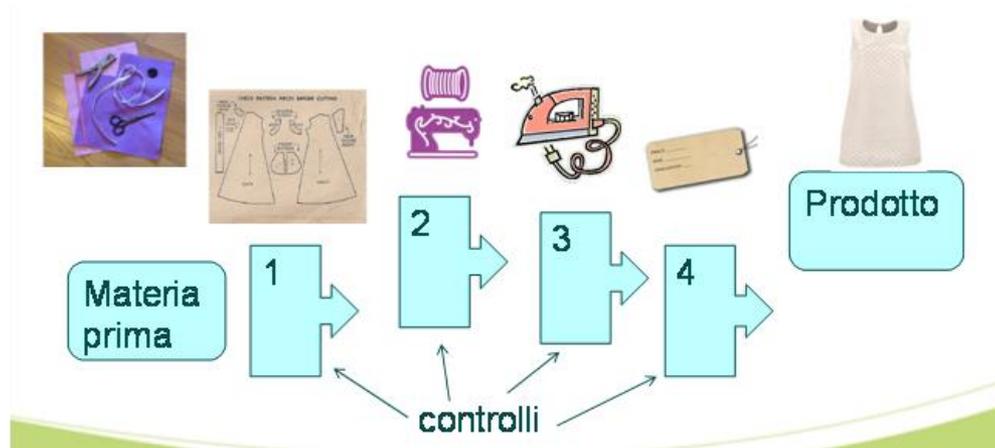
Specificità: misura solo quello

Sensibilità: individua tutti i fenomeni che interessano

Operatività: guida nelle scelte successive



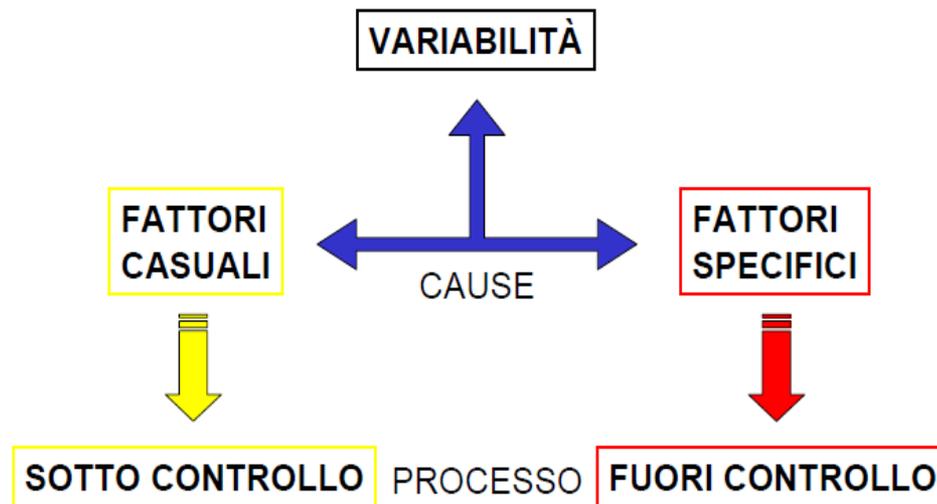
# Aspetti del processo da considerare



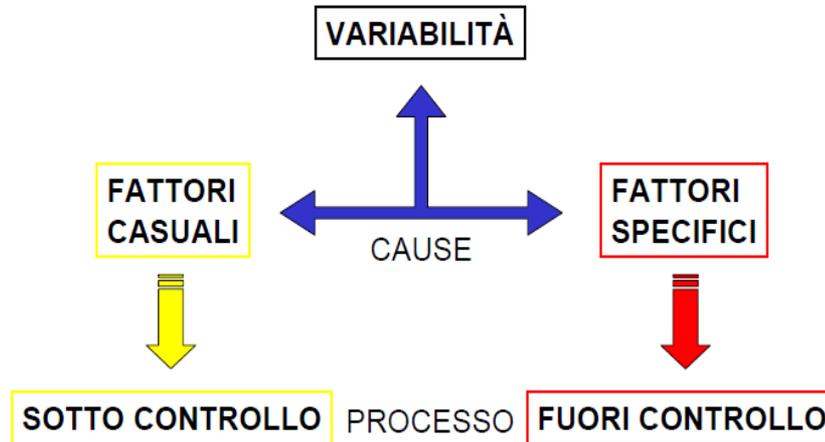
- **Stabilità**
- **Capacità**

# Stabilità/capacità di un processo

Ogni processo è soggetto a una variabilità intrinseca o naturale, dovuta all'effetto cumulato di tanti piccoli, ineliminabili fattori costanti o casuali.



# Stabilità di un processo



Le fonti di variabilità che non sono legate a fattori casuali sono dette "fattori specifici"

- strumenti non ben funzionanti
- errori degli operatori
- materiali difettosi

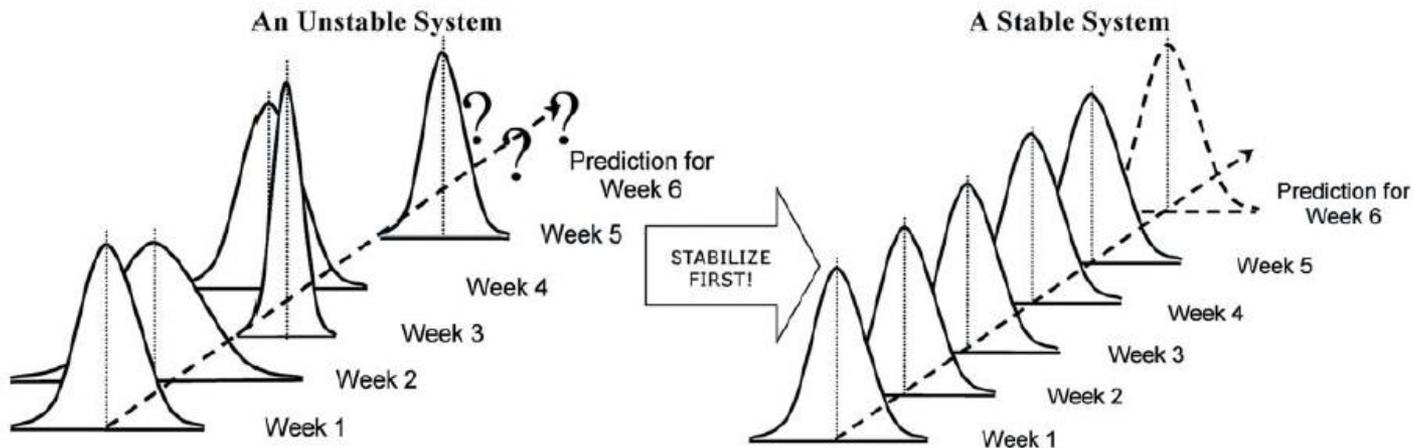
Questa variabilità dà luogo ad alterazioni del processo molto più evidenti e spesso inaccettabili

# Caratteristiche del processo

- **Stabilità**

Un processo è stabile quando si è in grado di controllarne la variabilità

Figure 4: The first principle; stabilize first.



# Caratteristiche del processo

- **Capacità**

Un processo è capace quando la variabilità naturale consente di rispettare i limiti stabiliti

Più un processo è bilanciato relativamente a ripetibilità degli output e coerenza dei parametri di riferimento, più alta è la capacità.

La capacità fa riferimento alla uniformità di comportamento del processo

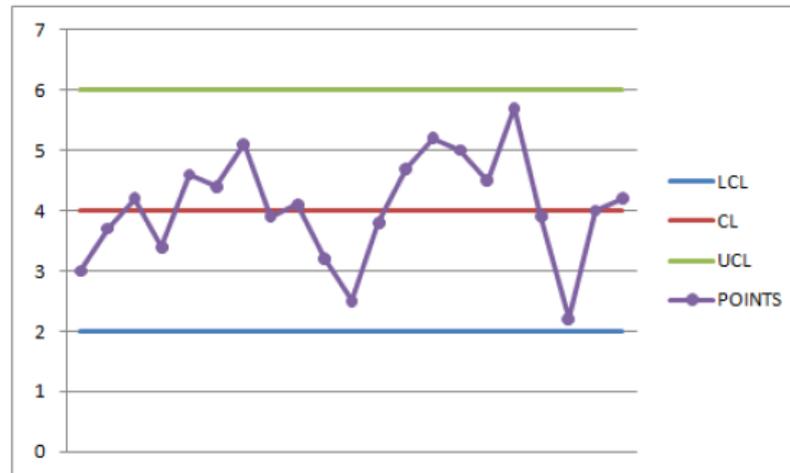
# Misurato il processo cosa faccio?

Può essere utile rappresentarlo

## 8.3.7 Utilizzo dei controlli di qualità per monitorare la stabilità del processo: le carte di controllo

Il monitoraggio della variabilità del processo produttivo (ossia della fluttuazione dei valori misurati intorno alla media) effettuato con i controlli di qualità avviene solitamente utilizzando una rappresentazione grafica data dalle *carte di controllo*.

Fig.22 - Rappresentazione di una carta di controllo



**Linea centrale (CL)** = valore desiderato quando il processo è sotto controllo (*Control Limit*)

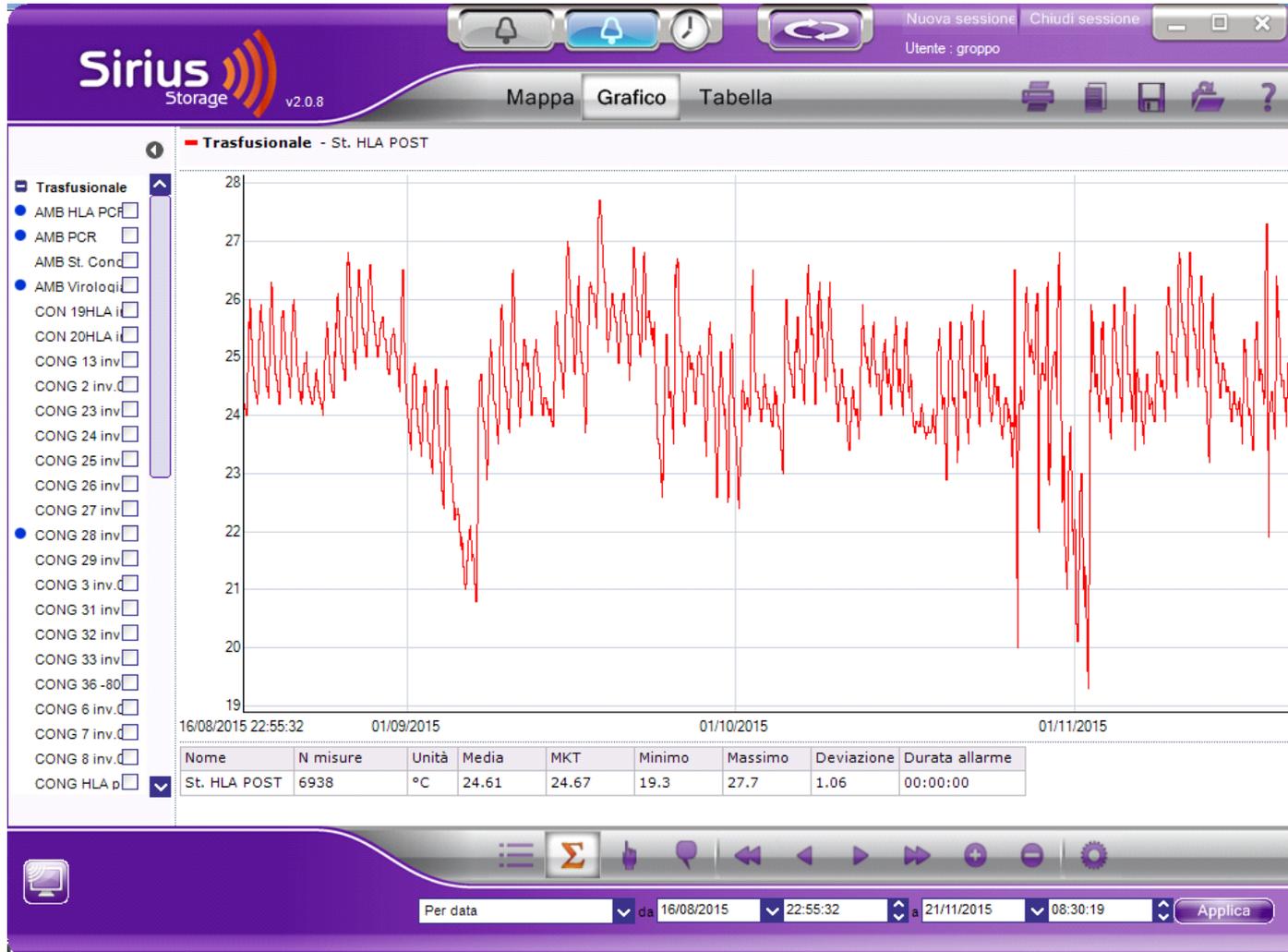
**Linea superiore (UCL)** = limite superiore di controllo (*Upper Control Limit*)

**Linea inferiore (LCL)** = limite inferiore di controllo (*Lower Control Limit*)

**Points:** valori della caratteristica misurata sui prodotti campionati per il controllo di qualità via via che si presentano

L'analisi dei dati va sotto il nome di controllo statistico di processo

# Controllo della temperatura ambientale

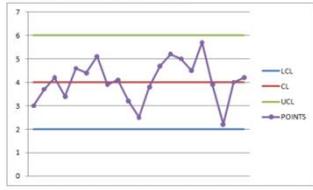


# Misurato il processo cosa faccio?

«Il controllo senza l'azione è semplicemente un hobby»

*Kaoro Hishikawa*

Fig.22 - Rappresentazione di una carta di controllo

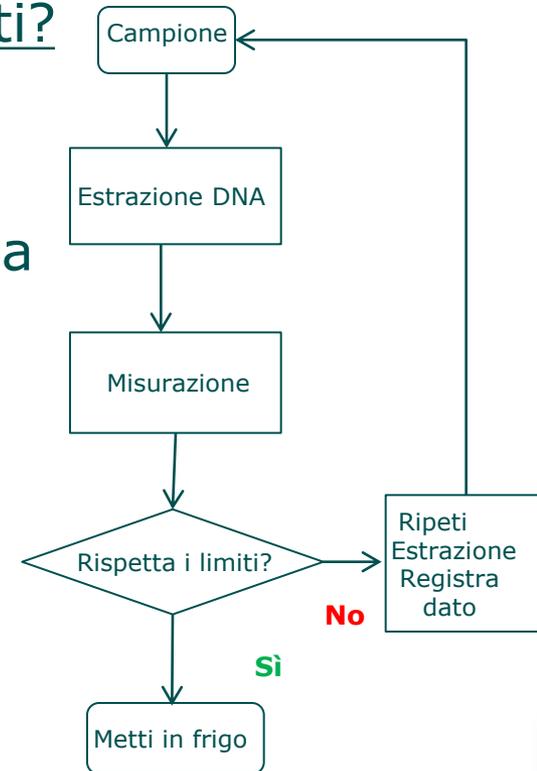


Linea centrale (CL) = valore desiderato quando il processo è sotto controllo (Control Limit)  
Linea superiore (UCL) = limite superiore di controllo (Upper Control Limit)  
Linea inferiore (LCL) = limite inferiore di controllo (Lower Control Limit)  
Points: valori della caratteristica misurata sui prodotti campionati per il controllo di qualità via via che si presentano

## Rispetta Standard o limiti prestabiliti?

- Si ok
- **No azione correttiva**
- Eventuale convalida o ri-convalida

C10	Quality Assurance Evaluation
C10.1	The laboratory must:
C10.1.1	Hold quality assurance reviews
C10.1.2	Document, assess problems identified in these reviews and discuss them with the staff
C10.1.3	Take corrective actions necessary to prevent recurrences
C10.1.4	Have an ongoing mechanism to evaluate corrective action taken. Ineffective policies and procedures must be revised based on the outcome of the evaluation
C10.2	The laboratory must maintain documentation of all quality assurance activities including problems identified and corrective actions taken, for a minimum of two years or longer, depending on local, or national regulations
C10.3	The laboratory must maintain permanent files of all internal and external quality control tests according to any regulation to which the laboratory is obliged to abide, but for a minimum of four years



# Strumenti per il controllo

- **Standard** *norme cui viene uniformata una data attività*
- **EFI, JACIE, ISO** (requirements for quality and competence in medical laboratories)
- **Linee guida** *insieme di raccomandazioni sviluppate sistematicamente, sulla base di conoscenze continuamente aggiornate e valide, redatto allo scopo di rendere appropriato, e con un elevato standard di qualità, un comportamento desiderato.*
- **Procedure** *Sequenza ordinata di operazioni da eseguire per raggiungere un determinato scopo, spec. in un contesto tecnico o informatico:*
- **Diagrammi di flusso** *rappresentazione grafica di processo utile per processi lunghi o complessi sintetizza e aiuta nell' identificazione dei punti critici*
- **Protocolli operativi** *documento che definisce le modalità operative per svolgere una determinata attività*
- **Istruzioni di lavoro** *documento che descrive in modo dettagliato le operazioni da eseguire per completare una certa operazione*

# Strumenti per il controllo

In definitiva gli Standard minimi di accreditamento non ci dicono nei dettagli ad esempio il range di accettabilità di un certo risultato

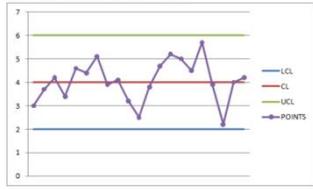
- Ma chiedono di documentare il processo attraverso il quale lo abbiamo ottenuto, individuando i criteri di accettabilità e riportando le NC
- Questo si può fare solo se ho analizzato il processo

# Misurato il processo cosa faccio?

«Il controllo senza l'azione è semplicemente un hobby»

*Kaoro Hishikawa*

Fig.22 - Rappresentazione di una carta di controllo

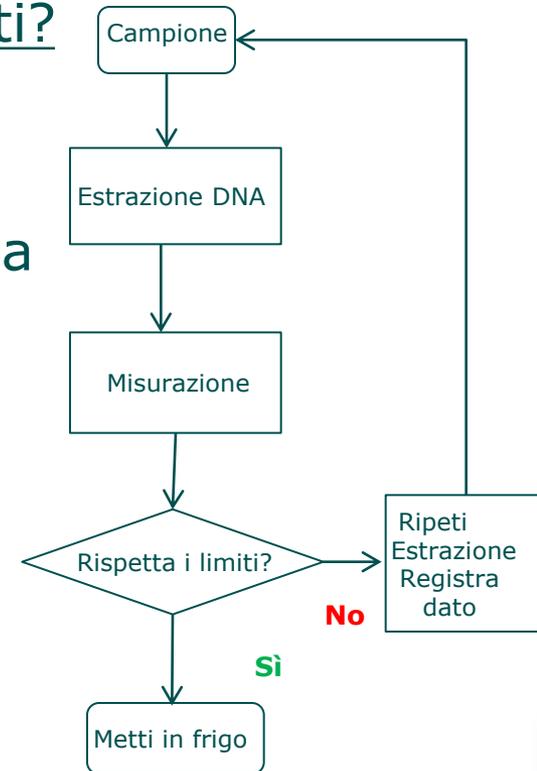


Linea centrale (CL) = valore desiderato quando il processo è sotto controllo (Control Limit)  
Linea superiore (UCL) = limite superiore di controllo (Upper Control Limit)  
Linea inferiore (LCL) = limite inferiore di controllo (Lower Control Limit)  
Points: valori della caratteristica misurata sui prodotti campionati per il controllo di qualità via via che si presentano

## Rispetta Standard o limiti prestabiliti?

- Si ok
- **No azione correttiva**
- Eventuale convalida o ri-convalida

C10	Quality Assurance Evaluation
C10.1	The laboratory must:
C10.1.1	Hold quality assurance reviews
C10.1.2	Document, assess problems identified in these reviews and discuss them with the staff
C10.1.3	Take corrective actions necessary to prevent recurrences
C10.1.4	Have an ongoing mechanism to evaluate corrective action taken. Ineffective policies and procedures must be revised based on the outcome of the evaluation
C10.2	The laboratory must maintain documentation of all quality assurance activities including problems identified and corrective actions taken, for a minimum of two years or longer, depending on local, or national regulations
C10.3	The laboratory must maintain permanent files of all internal and external quality control tests according to any regulation to which the laboratory is obliged to abide, but for a minimum of four years



# E' proprio necessario?

## Scopo

- Conoscere la realtà
- Riconoscere e individuare gli errori
- Imparare dagli errori
- Trovare soluzioni



# EFI

## *Qualificazione*

- C1 qualificazione di ambienti e apparecchiature
- C4 materiali

## *Validazione di processo*

- C2 computer assisted analysis
- C3 specimen submission and requisition **INPUT**
- C8 system for continuous test evaluation and monitoring
- C9 client service evaluation **OUTPUT**
- C10 quality assurance evaluation

# EFI

- C8 system for continuous test evaluation and monitoring
- C9 client service evaluation
- C10 quality assurance evaluation



## Differences between correction, corrective action and preventive action



**Correction**  
Put fire out  
(at the time)



**Corrective Action**  
What caused fire  
and how to prevent  
recurrence  
(after event)

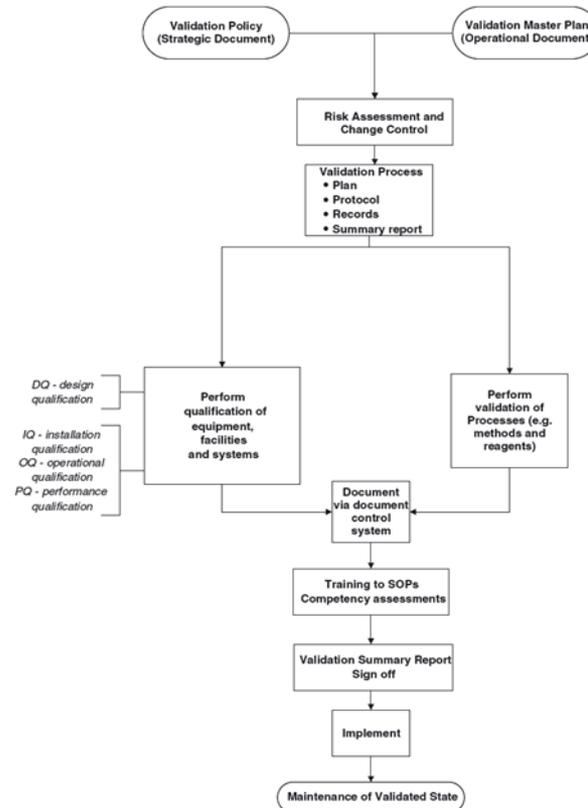
**Controllo  
del processo**



**Preventive Action**  
Stop fire from  
happening  
(before event)

# VALIDAZIONE

- Ho analizzato il mio processo, come faccio a validarlo?
- Devo proprio validare tutto?

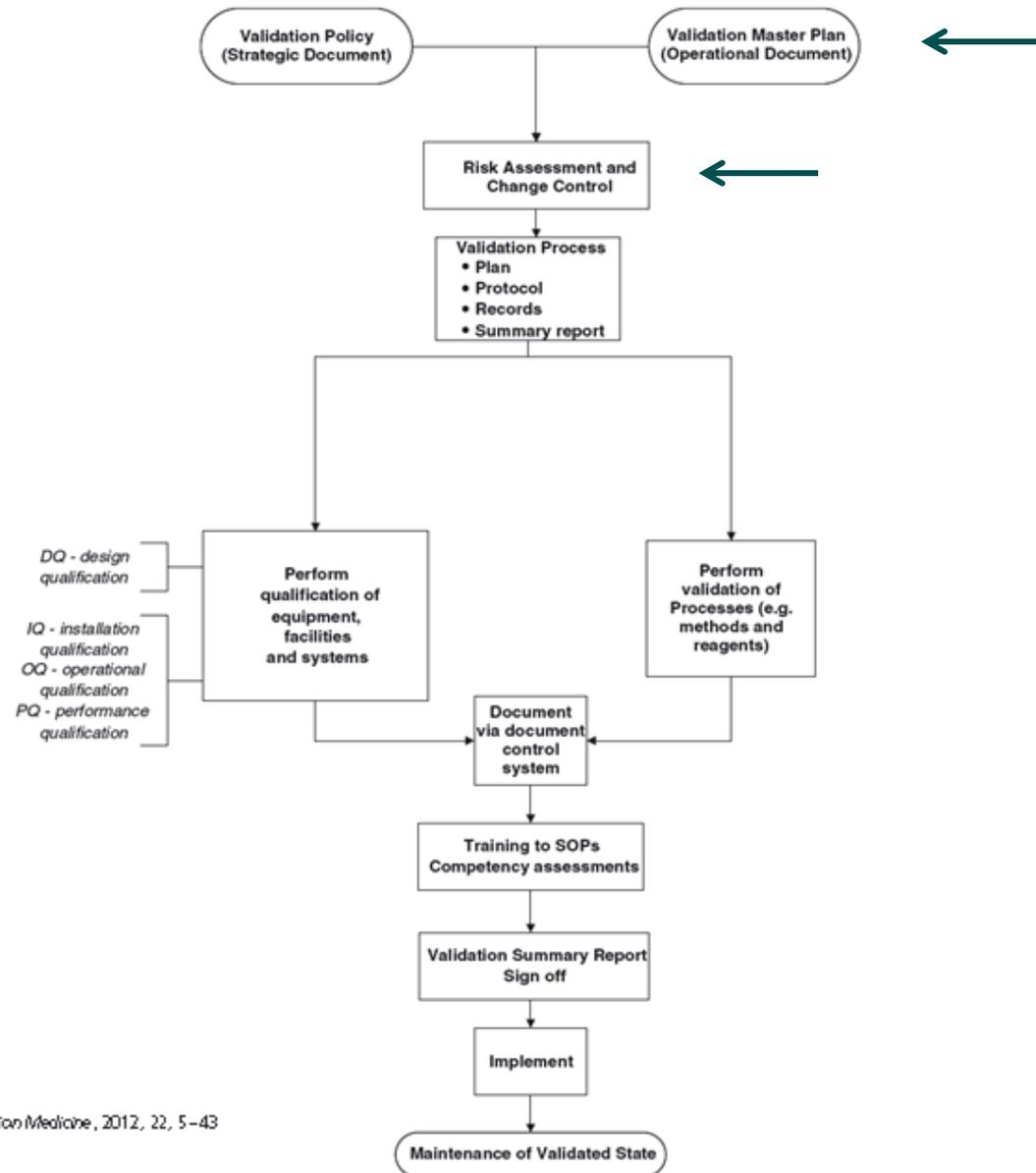


Transfusion Medicine, 2012, 22, 5-43

# EFI prevede la validazione di

- C2.2 Software interpretativi
- L10.5.3 Processo bioinformatico (in NGS)
- C8.2.1 Nuovi test prima dell'introduzione in routine
  
- Una rivalidazione é necessaria dopo cambiamenti o upgrade
- La validazione coinvolge i reagenti, ma anche la modalit  di interpretazione

# Validation Flowchart



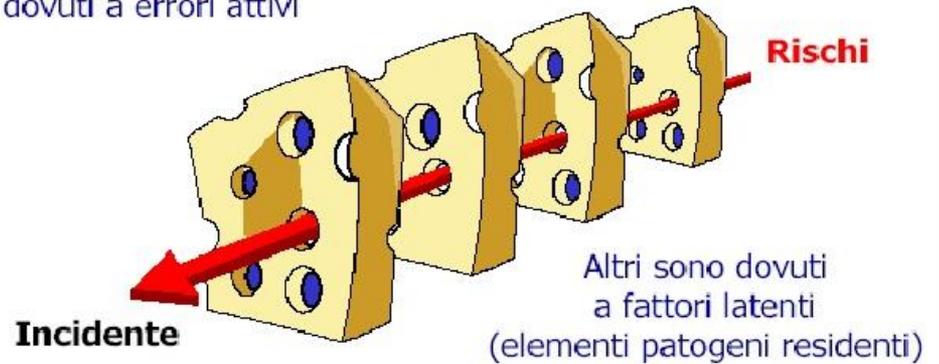
*Transfusion Medicine*, 2012, 22, 5-43

# Il processo di Validazione

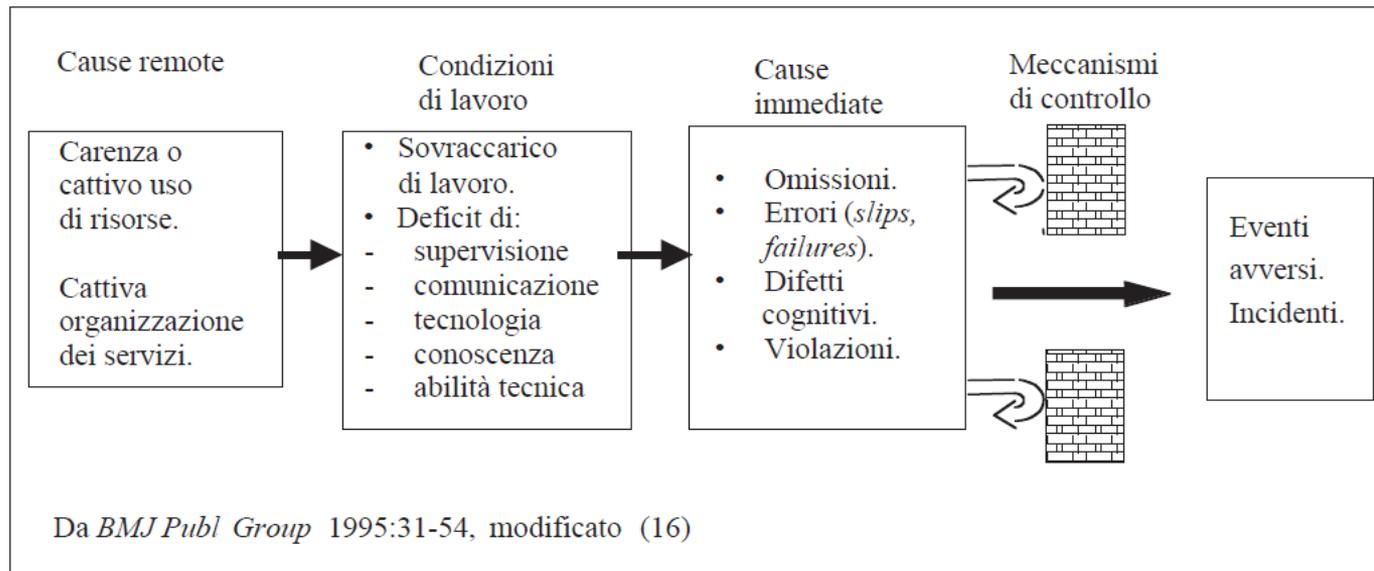
- La decisione di validare passa attraverso il cosiddetto **Validation Master Plan** che è un documento operativo che descrive cosa validare passando attraverso
- **Analisi dei Rischi *Risk Assessment***  
dall'Analisi dei Rischi otterrò le informazioni per definire quali processi devo validare
- **Analisi dei Cambiamenti *Change Control***  
in altre parole tutte le volte che cambio qualcosa devo ri-validare

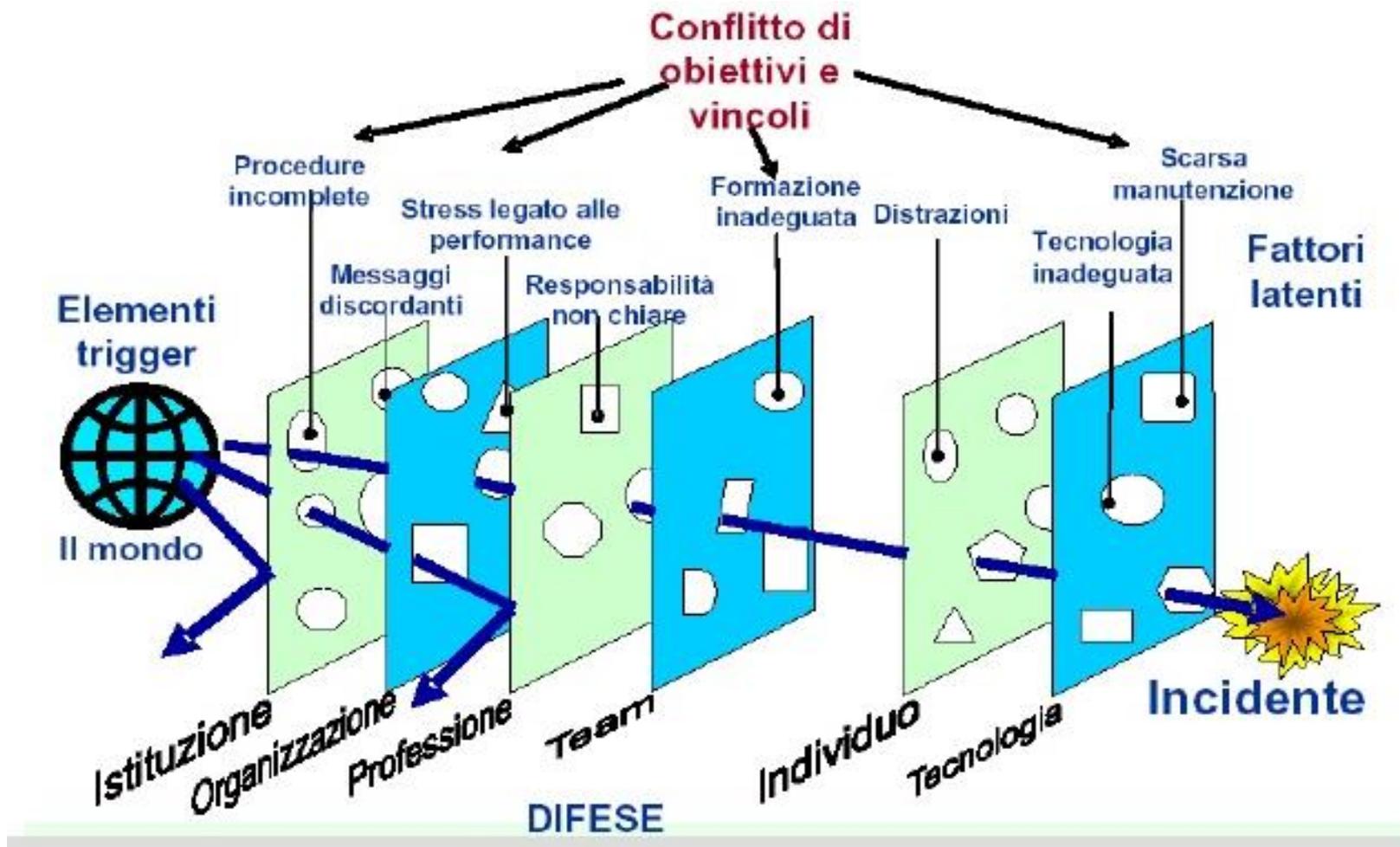
# Analisi dei rischi

Alcuni buchi sono dovuti a errori attivi



(Reason, 2002)



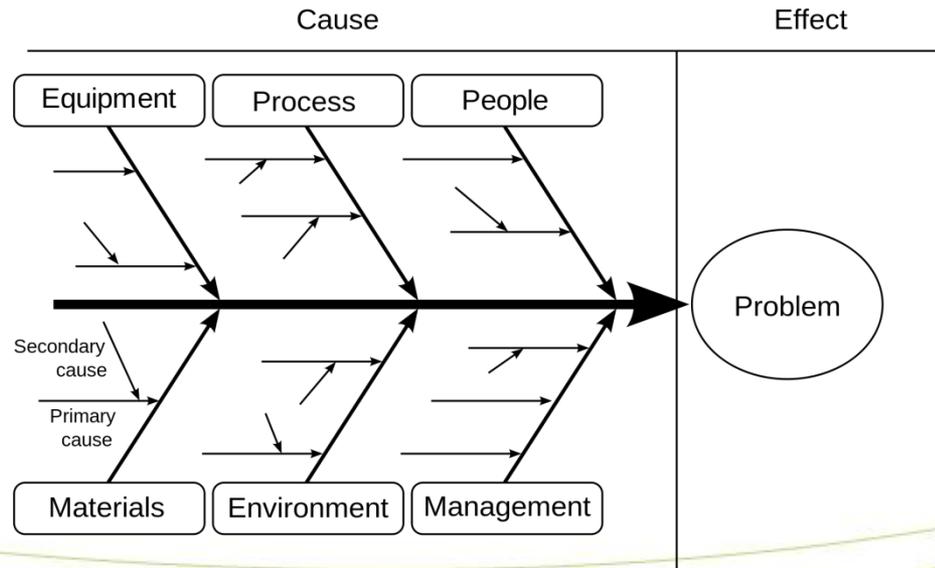


# Analisi di rischio

Necessario a questo punto trovare un modo per verificare l'andamento del fenomeno che osserviamo:

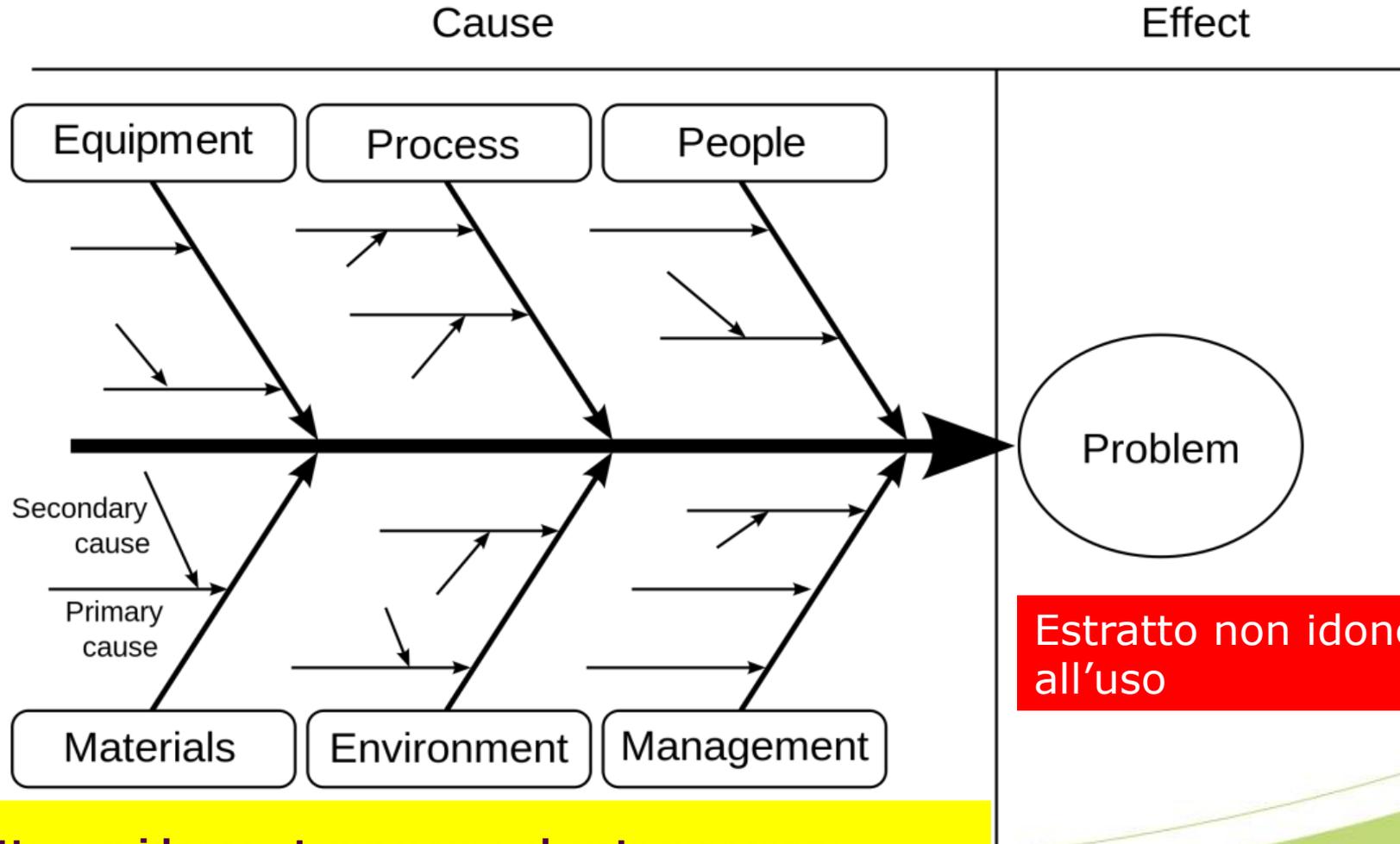
**Analizza i fatti e parla con i dati**

***Kaoro Hishikawa***



# Analisi di rischio

**Malfunzionamento Strumento**   **Processo**   **provetta non idonea**   **Errore dell'Operatore**



**Estratto non idoneo all'uso**

**Lotto non idoneo**   **temperatura elevata**   **mancanza piano di lavoro**

# Analisi dei rischi

# FMEA FMECA

**F**ailure  
**M**ode (and)  
**E**ffect  
**A**nalysis

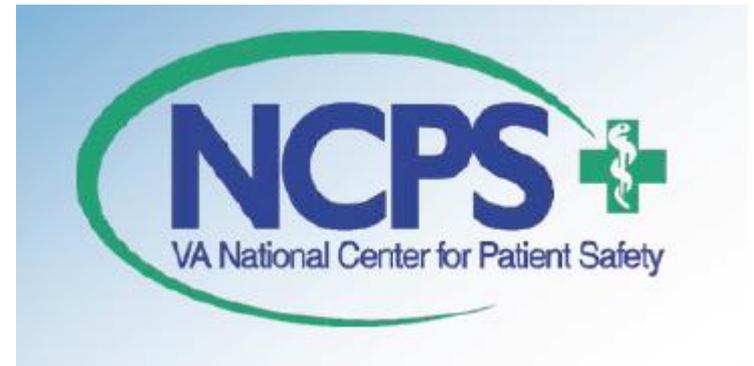
metodologia utilizzata per analizzare le modalità di guasto o di difetto di un processo, prodotto o sistema



M46 Patton Medium Tank, 1945



# Healthcare FMEA



- Analisi prospettica che ha lo scopo di identificare e migliorare gli steps in un processo in modo da garantire un risultato sicuro e clinicamente desiderabile
- Un approccio sistematico che ha lo scopo di identificare e prevenire problemi riguardanti un processo o un prodotto

# Analisi dei rischi FMEA

la metodica FMEA/FMECA è una analisi qualitativa/quantitativa che ha lo scopo di identificare e prevenire i problemi prima che si verifichino  
Applicare la FMEA vuol dire:

**1ª fase** identificare i requisiti normativi, organizzativi e strutturali che governano l'intero processo.

**2ª fase** scomporre del processo in attività.

**3ª fase** assegnare un punteggio che determina l'indice di priorità di rischio (**IPR**) di possibili errori umani procedurali o guasti strumentali latenti nel processo.

# Analisi dei rischi FMEA **Indice di Priorità di Rischio**

L'Indice di Priorità di Rischio (per gli anglofoni Risk Priority Number) viene calcolato sulla base di

**gravità (G)**, inteso come conseguenze del possibile errore/guasto in termini di danno al paziente/donatore/operatore/prodotto **(da 1 a 10)**

**probabilità (P)** che l'evento accada **(da 1 a 10)**

**rilevabilità (R)** possibilità che i controlli identifichino dell'errore/guasto quando questo si è verificato **(da 1 a 10)**

L'IPR è il prodotto derivante dai fattori  $G \times P \times R$ .

I livelli di rischio riscontrati sono così suddivisi:

IPR (da - a)	Livello di rischio riscontrato
1 - 100	Lieve basso-moderato
101 - 300	Medio alto
> 301	Elevato

**Sono da convalidare i processi che hanno ottenuto un IPR di grado medio alto e elevato**

# La scala dei valori per la valutazione del'I.P.R. deve essere elaborata ad hoc in relazione al tipo di processo analizzato

Fig.7 - Esempio di scala di valori per valutazione I.P.R.

I.P.R.	Valutazione finale del rischio
1-50	Bassissimo
51-100	Basso
101-300	Medio
301-500	Alto
501-1000	Altissimo

## Estrazione DNA :

Rischio di errore legato scambio di provette

Gravità 10

Probabilità 5

Rilevabilità 5

$IPR = 10 \times 5 \times 5 = 250$

# HFMEA

<b>Gravità</b>		<b>Probabilità</b>		<b>Rilevabilità identificato e corretto</b>	
Nessun danno al paziente	1-2	Estremamente improbabile, mai verificato	1-2	Quasi certamente	1-2
Minimi danni al paziente	3-4	Bassa, evento raro	3-4	Alta possibilità	3-4
Danni moderati a breve termine	5-6	Moderata, evento occasionale	5-6	Moderata possibilità	5-6
Danni significativi a lungo termine	7-8	Alta, evento ripetuto	7-8	Bassa possibilità	7-8
Danni permanenti	9-10	Altissima, quasi inevitabile	9-10	Quasi impossibile	9-10

**Fig.6 - Esempio di scale di valori per assegnazione indice di Gravità, Probabilità e Rilevabilità**

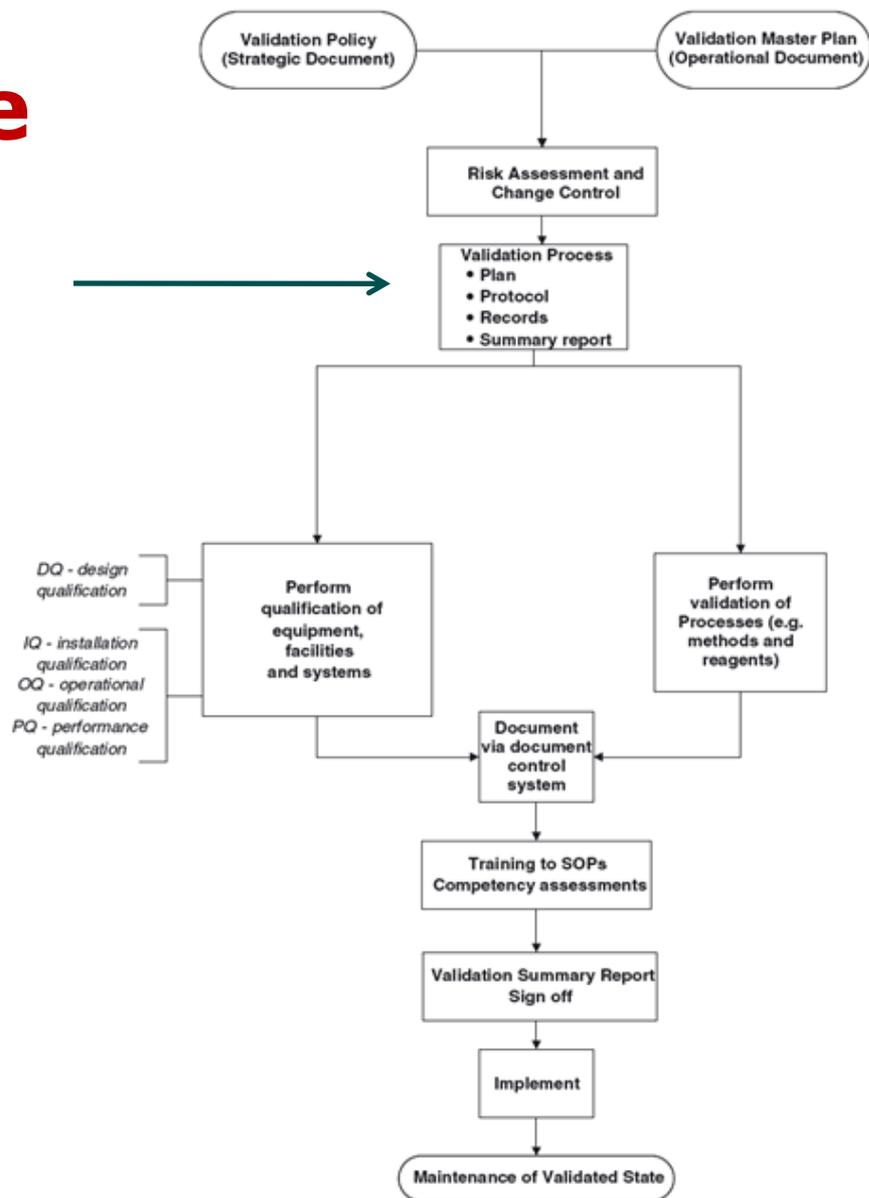
	<b>Criteri</b>	<b>Valore</b>
<b>Gravità</b>	Potenziali conseguenze molto gravi su sicurezza e qualità del prodotto	<b>10</b>
	Potenziali conseguenze mediamente gravi su sicurezza e qualità del prodotto	<b>7</b>
	Potenziali conseguenze tollerabili sulla sicurezza e qualità del prodotto	<b>4</b>
	Potenziali conseguenze trascurabili o nessuna conseguenza su sicurezza e qualità del prodotto	<b>1</b>
<b>Probabilità</b>	Probabilità altissima: molti casi documentati	<b>10</b>
	Probabilità media: diversi casi documentati	<b>7</b>
	Probabilità bassa: pochi casi documentati	<b>4</b>
	Probabilità quasi nulla: non esistono casi noti	<b>1</b>
<b>Rilevabilità</b>	Rilevabilità altissima (oppure: rilevabilità prima dell'inizio della attività successiva)	<b>1</b>
	Rilevabilità media (oppure: rilevabilità prima che la attività venga completata)	<b>4</b>
	Rilevabilità bassa (oppure: rilevabilità nel corso della attività)	<b>7</b>
	Nessuna probabilità di rilevazione dell'evento	<b>10</b>

In ambito medico eventi con elevata gravità vanno considerati anche se probabilità che si verifichino è bassa

## Esempio di foglio di lavoro per analisi FMEA

Fase processo	Evento critico	Potenziali effetti	GRAVITÀ	Potenziali cause	PROBABILITÀ	Controlli in essere	RILEVABILITÀ	IPR	Azioni/misure da intraprendere
1. ....	.....	.....		.....		.....			/
2. ....	.....	.....		.....		.....			/
	.....	.....		.....		.....			/
	.....	.....		.....		.....			.....

# Validazione



# Validazione

- “prospettiva” (da rilasciare prima di implementare nuovi processi o in caso di processi oggetto di modifiche rilevanti);
- “concomitante” (rilasciata durante le attività di routine);
- “retrospettiva” (rilasciata in riferimento a dati storici disponibili per i processi in esame).

# Il processo di Validazione prevede

- 1 **Un piano** (cosa, dove, perché, passaggi richiesti, quando, come verrà istruito il personale prima dell'introduzione del test/cambiamento)

# Piano di convalida



- I Piani di convalida definiscono i parametri da tenere sotto controllo nel tempo, in raccordo con gli indicatori di monitoraggio (di risultato e di processo) previsti nell'ambito del Sistema Qualità, al fine di verificare l'effettivo mantenimento dello stato di convalida dei processi, nonché il mantenimento dello stato di qualificazione delle apparecchiature, nel caso in cui questi non vengano modificati e dunque non siano oggetto dei meccanismi di *change control*
- La responsabilità di elaborare ed aggiornare, per quanto necessario, i Piani di convalida spetta ai Responsabili di area con la corresponsabilità del Responsabile Sistema Qualità ed eventualmente con la collaborazione degli operatori coinvolti nelle attività.

# ESEMPIO Piano di convalida

## Analisi del rischio

FASE	G	P	R	Tot	Variabili	Eventi critici	Controlli in essere
<u>Prelievo</u>	5	2	1	10	Tipo di prelievo modalità conservazione campione	Numero di GB (per prelievo di sangue) Anticoagulante o no, malconservazione	Verifica visiva della provetta
Preparazione delle cuvette	10	5	8	400	Identificazione Quantitativo introdotto Caratteristiche del campione (BC,SI)	Presenza di omonimi Identificazione con numero apposto manualmente Assenza di piano di lavoro del gestionale	Controllo due operatori Predisposizione di piano di lavoro manuale
Preparazione dello strumento	10	4	2	80	Check di funzionamento Pulizia Manutenzione	Malfunzionamento Contaminazione	Verifiche periodiche Pulizia Verifiche di contaminazione
Introduzione cartucce	4	2	2	16	Lotto Conservazione Posizione	Lotto non conforme Materiale alterato per malconservazione Posizionamento non corretto	Controllo dei lotti in entrata, Registrazione dei dati
Diluzione Trasferimento	10	5	6	300	Operatore dipendenti	Identificazione Passaggio manuale	Predisposizione dei tubi di stoccaggio secondo schema semina
Estratto in uso	5	4	2	40	Concentrazione, purezza,	Scarsa qualità, scambio del campione	Misurazione della concentrazione e ratio A260/A280

## Analisi dei punti critici

I punti critici del processo sono i passaggi manuali per i quali deve essere previsto controllo in doppio.  
Per quanto riguarda le altre fasi i controlli in essere e il rispetto della procedura di accettazione dei campioni-

### Indicatori:

Campioni estratti con più di 1000 GB con risultato entro i limiti stabiliti.  
Registrazione: foglio excel /su spettrofotometro

## Piano di convalida : Estrazione di DNA con metodo semiautomatico

Gruppo di lavoro: Xxxx,Yyyy,Zzzz

### Premessa

L'automazione dell'attività di estrazione aumenta la standardizzazione dell'attività e riduce i passaggi manuali, con riduzione del rischio di errore e consente al personale tecnico di svolgere altre attività.

### Strumenti e Gestionali applicati:

Estrattore automatico WWWW  
Spettrofotometro per verifica concentrazione/purezza DNA XXXX  
Foglio di lavoro Excel  
Gestionale di laboratorio

### Fasi del processo:

- Accettazione/verifica idoneità del campione
- Preparazione piano di lavoro
- Distribuzione dei campioni
- Preparazione e avvio dello strumento
- Diluzione dell'estratto
- Misurazione dell'estratto
- Aggiustamento alla concentrazione desiderata
- Conservazione

### Risultato desiderato

Campione di DNA con concentrazione compresa tra x e y rapporto A260/A280 pari xxx

### Analisi dei punti critici

I punti critici del processo sono i passaggi manuali per i quali deve essere previsto controllo in doppio.

Per quanto riguarda le altre fasi i controlli in essere e il rispetto della procedura di accettazione dei campioni-

### Indicatori:

Campioni estratti con più di 1000 GB con risultato entro i limiti stabiliti.  
Registrazione: foglio excel /su spettrofotometro

### Istruzione del personale all'uso dello strumento:

In fase di prova di funzionamento dello strumento ad opera dei fornitori per gli incaricati alla convalida  
Dagli incaricati alla convalida subito dopo validazione

### Istruzione del personale alla verifica del processo:

Dagli incaricati alla convalida subito dopo validazione

# Il processo di Validazione prevede

- 2 **Un protocollo** (descrive la fase di qualificazione o validazione, il test da fare, in che modo, i criteri di accettabilità del test, la numerosità del campione, gli standards, linee guida, norme di riferimento)

# Protocollo di convalida

I protocolli di convalida devono stabilire:

- i parametri da misurare/verificare ai fini della convalida del processo, identificati attraverso la analisi dei rischi
  - per ogni parametro, gli standard di riferimento applicabili (previsti dalla normativa vigente/dalle linee guida disponibili);
  - i criteri ed i limiti di accettabilità da considerare nelle verifiche, ove applicabili;
- le modalità di verifica (strumentale, visiva, altro);
- gli eventuali strumenti di misurazione/controllo da impiegare nel corso delle prove ed eventuali materiali da impiegare nel caso di prove simulate;
- la durata del periodo di prova;
- le modalità da seguire per la raccolta/valutazione dei dati.

# Protocollo di convalida

- I protocolli di convalida devono inoltre prevedere sempre:
- le condizioni in cui le prove dovranno essere effettuate, in relazione alle variabili critiche che possono incidere sull'esito delle stesse (il processo deve essere testato in tutte le condizioni che si possono verificare, comprese le peggiori);
- il numero delle prove da effettuare, che deve essere tale da fornire dati sufficienti per la valutazione della variabilità del processo.
- Le prove devono essere effettuate sotto la responsabilità dei Responsabili di area con la corresponsabilità del Responsabile Sistema Qualità

# Numerosità del campione

Non è possibile indicare a priori il numero delle prove da eseguire, perché questo dipende dal numero di variabili in gioco nel processo.

Ai fini della validazione è più importante la qualità del campione usato per validare che un elevato numero di campioni

Utili i Controlli di qualità Esterni

# Numerosità del campione

Estrazione: variabili legate al campione  
tipo di prelievo  
numero dei Globuli Bianchi  
età del prelievo  
terapia del paziente

Se seleziono 30 prelievi di donatori di sangue  
Non verificherò la mia effettiva popolazione  
Potrei validare il test/kit/metodo ma non nelle mie  
condizioni standard

Altro aspetto da considerare: effettuare il test in  
quelle che considero la "*worst condition*" per  
individuare i limiti del metodo

# Qualità del campione 3 aspetti

La **replicazione** ovvero la ripetizione in condizioni di processo stabili, per verificare se le differenze riscontrate sino compatibili con la "variabilità tollerabile"



Batch con i prelievi pervenuti nei giorni stabiliti

La **stratificazione** che prevede di eseguire le prove considerando i "fattori critici" per valutare la variabilità che essi introducono sul risultato



3 campioni con bassa conta leucocitaria  
3 campioni conservati per 1 settimana a TL  
3 campioni conservati a -20° C per un mese  
3 campioni da BC

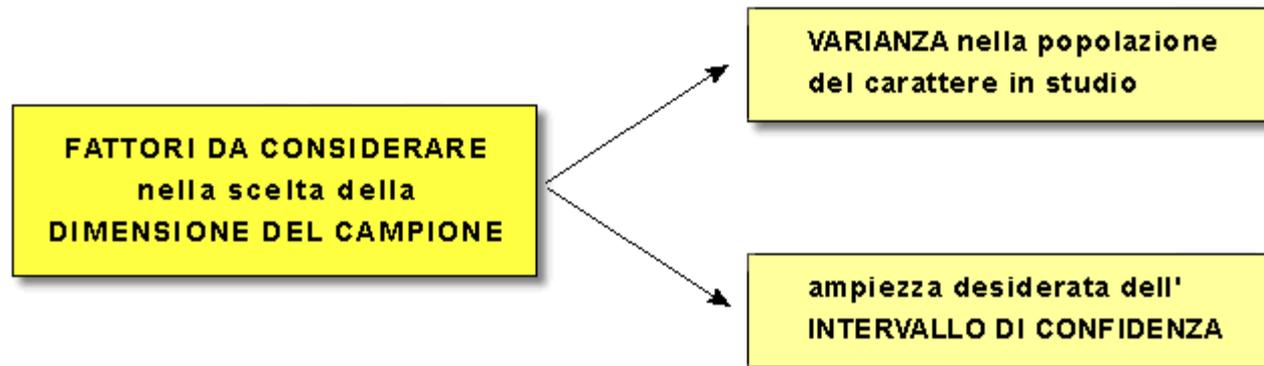
La **casualizzazione** cioè l'ordine casuale di esecuzione delle prove che nel processo di convalida è sostituita dalla **consecutività delle prove**



Eseguiti in 3 giorni successivi

# Numerosità del campione

- Variabilità del carattere che voglio verificare



- Misura della sicurezza della stima es i.c.95% significa che nel 95% dei casi il valore cade nell'intervallo trovato

Precisione: errore massimo che siamo disposti ad accettare

# Numerosità del campione

Prendendo a riferimento le indicazioni della letteratura attualmente riconosciuta per la convalida di processi farmaceutici, il numero minimo di prove per ogni combinazione da convalidare è dato da **3 batch/run** consecutivi che diano risultati TUTTI conformi rispetto agli standard definiti.

A condizione che sia possibile effettuare almeno una misura per ognuno dei parametri del risultato in relazione ad ogni combinazione di fattori di stratificazione/variabili/critici individuata.

Altrimenti il numero minimo sarà dato da almeno 3 misure per ogni combinazione di fattori di stratificazione/variabili/critici individuata.

3 è infatti il numero minimo di prove necessarie a valutare la variabilità tra cicli produttivi

# Il processo di Validazione prevede

- 3 La registrazione dei dati (che devono essere completati e approvati)

# Registrazioni

- I risultati delle diverse verifiche/prove effettuati nel corso delle attività di qualificazione delle componenti critiche dei processi, devono essere documentati.

# Il processo di Validazione prevede

- 4 **Un report riassuntivo finale** (che descriva l'esito della validazione, con documentata revisione e approvazione)

# Report di convalida



- Il Report di convalida deve:
  - riassumere le attività svolte ed i relativi responsabili coinvolti;
  - riassumere l'esito delle prove effettuate in riferimento al protocollo di convalida applicato;
  - descrivere eventuali deviazioni riscontrate in sede di prova, nonché le relative azioni avviate;
  - indicare i documenti prescrittivi (procedure, piani di manutenzione, etc.) prodotti o modificati;
  - contenere uno statement finale di autorizzazione dal parte del responsabile di area alla implementazione del processo (e dunque alla applicazione delle relative procedure) a seguito della convalida



# ***PIANIFICAZIONE ED ATTUAZIONE DELL'ADDESTRAMENTO DEL PERSONALE***

- Contestualmente alle attività di convalida, è responsabilità del Responsabile Sistema Qualità attivare i soggetti competenti per la verifica delle competenze, l'addestramento e l'eventuale riqualificazione degli Operatori coinvolti nei processi interessati

# Mantenimento dello stato di convalida ovvero Ongoing monitoring process



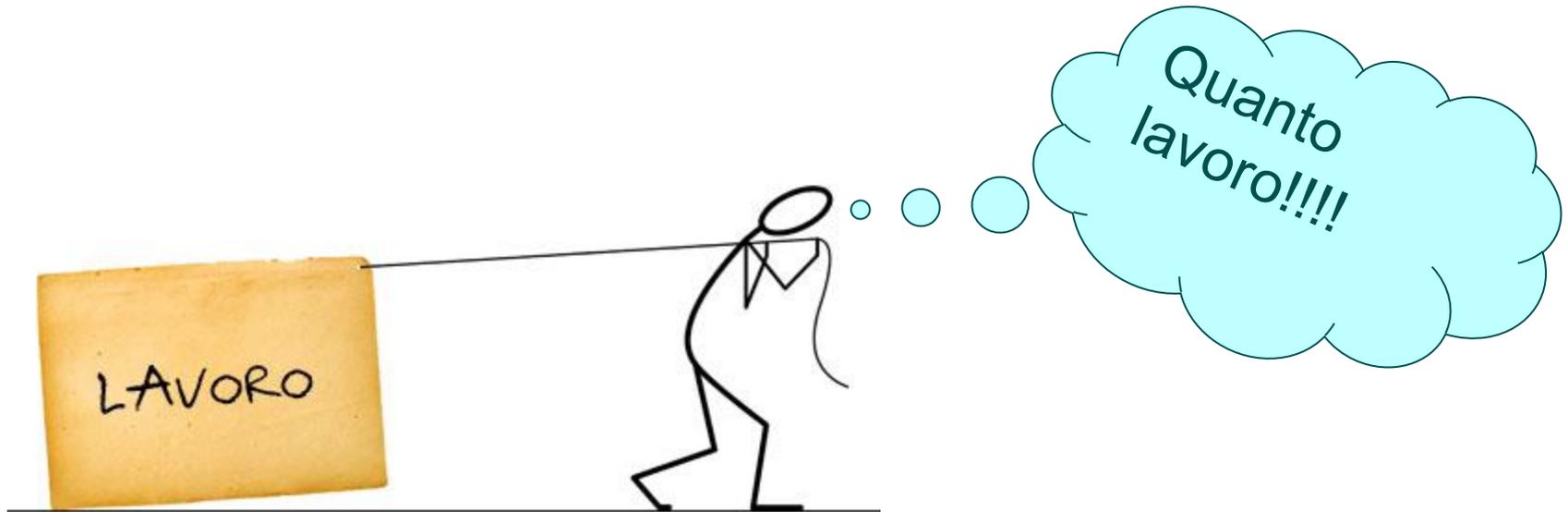


## Ongoing Monitoring process

Nel Lab. di Immunogenetica spesso non si ha a che fare con variabili continue, nella definizione delle quali si può calcolare precisione, accuratezza, varianza.

Per questo è fondamentale che anche dopo la validazione, la registrazione della deviazione da risultati attesi sia registrata

Infatti può rendersi necessaria l'introduzione di cambiamenti e la ri-validazione della metodica



.... e se provassi così?

## Legal Regulation, investigation and EFI Standards compliance

Medieval CISSP by T.L.Ford, 2010, [www.Cattail.Nu](http://www.Cattail.Nu)

Legal, Regulations, Investigations,  
and Compliance

You really think the auditor will believe this, Sir?



THANK  
YOU



