



IZSAM G.CAPORALE  
TERAMO



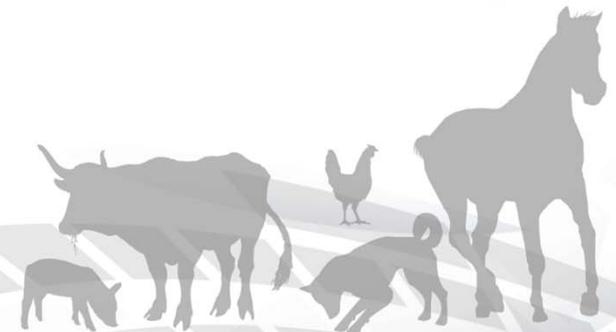
CESME

Centro di Referenza Nazionale

# Risultati del circuito interlaboratorio sierologico per la Bluetongue.

Manuela Tittarelli

3/10/2013





 CESME  
Centro di Riferenza Nazionale

## *XI° distribuzione*

 Campioni inviati nel mese di dicembre 2012.

Ciascun laboratorio partecipante ha ricevuto 30 campioni di siero da esaminare mediante c-ELISA.

I 36 laboratori ai quali erano stati inviati i campioni hanno inserito i risultati nella pagina  web.





 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

# Preparazione

 Il pannello di sieri è stato preparato utilizzando sieri ovini e bovini di campo sicuramente positivi e sicuramente negativi al test c-ELISA e alla sieroneutralizzazione virale per BT.

I sieri raccolti sono stati filtrati, aliquotati e liofilizzati.





 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

# Campioni



## Composizione

1	Positivo	11	Positivo	21	Negativo
2	Positivo	12	Positivo	22	Negativo
3	Positivo	13	Positivo	23	Negativo
4	Positivo	14	Positivo	24	Negativo
5	Positivo	15	Positivo	25	Negativo
6	Positivo	16	Positivo	26	Negativo
7	Positivo	17	Positivo	27	Negativo
8	Positivo	18	Positivo	28	Negativo
9	Positivo	19	Negativo	29	Negativo
10	Positivo	20	Negativo	30	Negativo





 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

# Omogeneità

 Per ciascun campione sono state effettuate 10 ripetizioni di 15 aliquote; i campioni positivi sono risultati sempre positivi e i campioni negativi sempre negativi. (il Q di Cochran è risultato, quindi, non calcolabile). I campioni sono da ritenersi tutti omogenei.





 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

# Stabilità

10 aliquote di ciascun campione è stato analizzato nei 4 intervalli di tempo prestabiliti (ai gg 0, 3, 6 e 9), mantenendo le aliquote a 37°C. Sono stati ottenuti risultati sempre positivi per i campioni positivi e sempre negativi per quelli negativi. Anche in questo caso il Q di Cochran risulta non calcolabile. I campioni sono da ritenersi stabili.



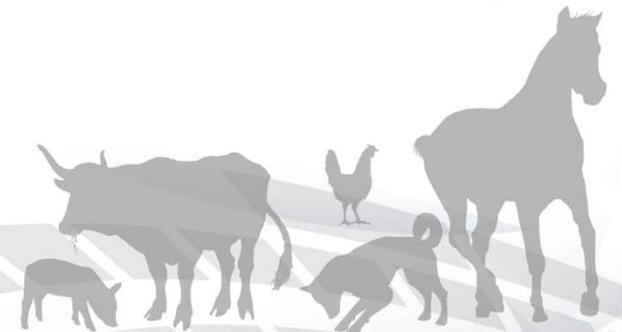
# Valutazione statistica



Per ogni distribuzione è quindi stimata la probabilità che il laboratorio fornisca risultati esatti attraverso l'impiego di una distribuzione Beta ( $s+1; n-s+1$ ):

$s$  = numero di risultati corretti forniti da ciascun laboratorio

$n$  = numero di risultati totali forniti da ciascun laboratorio





 **CESME**  
Centro di Riferenza Nazionale

## *Invio dei campioni*

 Ciascun laboratorio partecipante ha ricevuto il pannello di sieri numerati in cieco singolarmente per essere esaminati tramite metodica ELISA.

La decodifica dei campioni inviati ai laboratori partecipanti è stata inserita nel report finale.



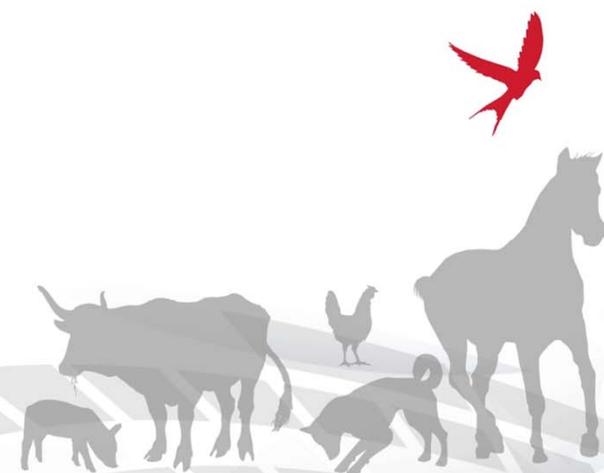


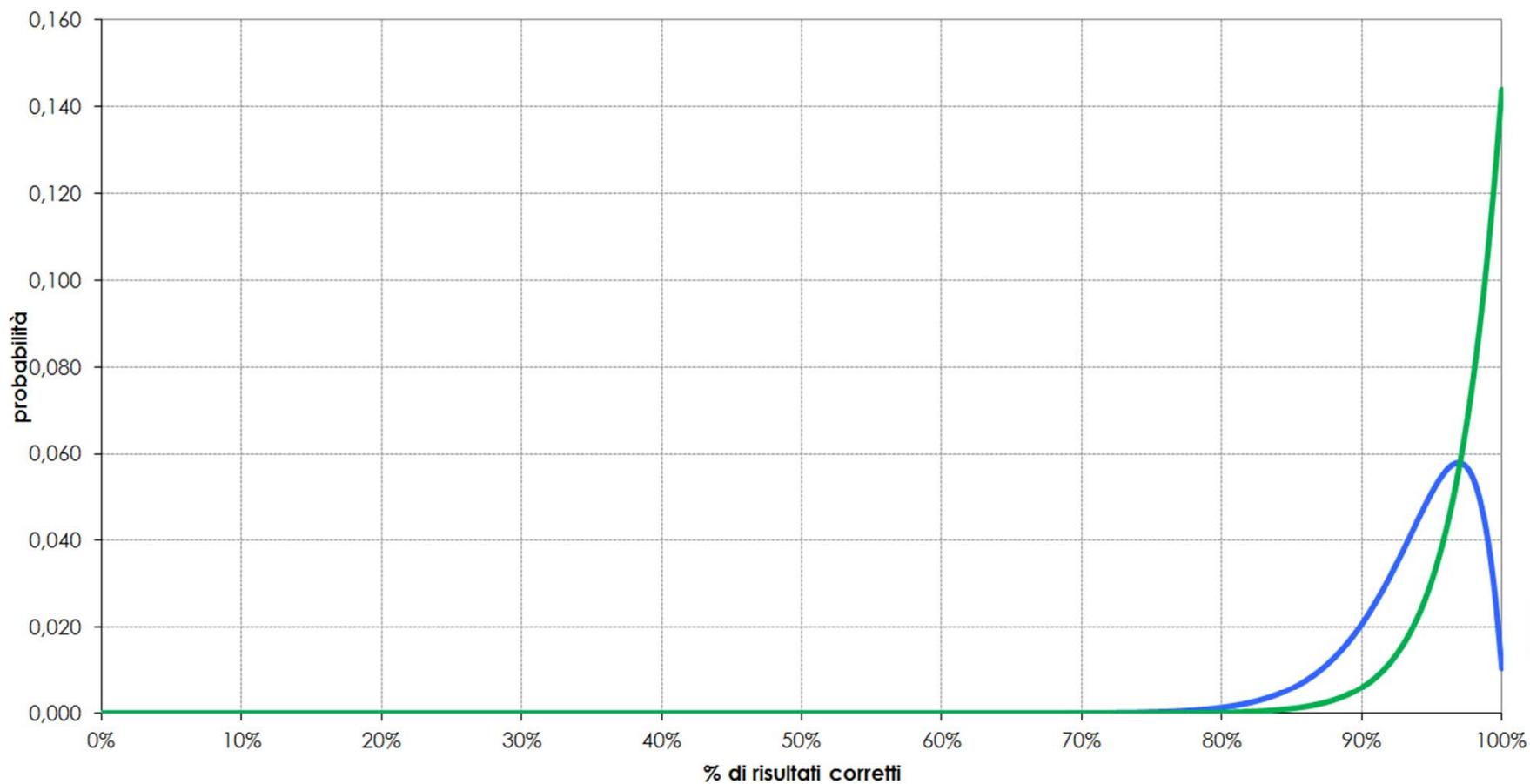
 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

## *Risultati*

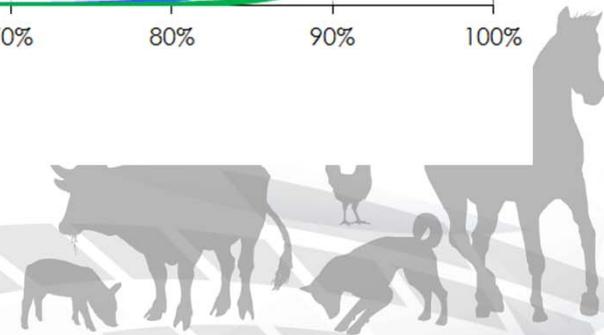


Dei 36 laboratori partecipanti, 35 hanno individuato correttamente tutti i 30 campioni, mentre un laboratorio ne ha individuati 29 su 30.





n° risultati corretti     29     30

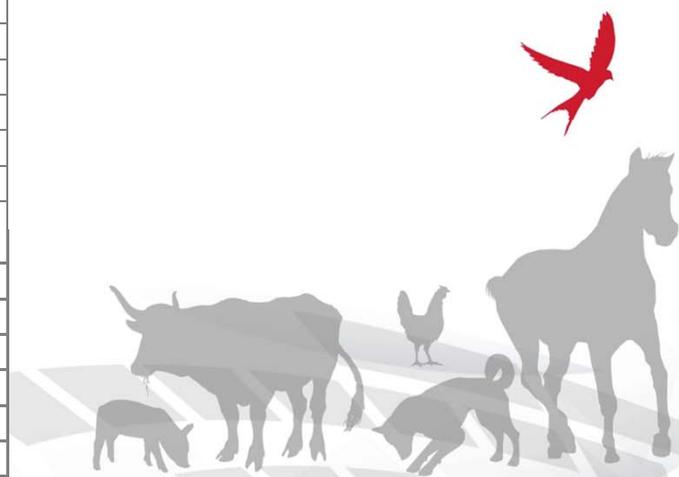




 **CESME**  
Centro di Riferenza Nazionale



Laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (I.c. 95%)
180	329	330	98,57%
182	324	330	96,45%
183	296	300	96,98%
187	237	240	96,81%
188	294	300	96,10%
192	324	330	96,45%
195	295	300	96,54%
196	297	300	97,44%
197	328	330	98,11%
198	298	300	97,92%
199	327	330	97,67%
200	319	330	94,56%
202	328	330	98,11%
203	328	330	98,11%
204	293	300	95,68%
205	299	300	98,43%
206	326	330	97,26%
207	296	300	96,98%
208	297	300	97,44%
209	295	300	96,54%
210	325	330	96,85%
211	328	329	98,57%
212	299	300	98,43%
213	325	330	96,85%
214	328	330	98,11%
215	293	300	95,68%
216	299	300	98,43%
217	266	270	96,65%
330	210	210	98,59%
350	180	180	98,36%
505	150	150	98,04%
508	144	150	92,31%
509	135	150	85,12%
511	150	150	98,04%
518	120	120	97,55%
677	60	60	95,21%





 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

# Ricerca



Sviluppo e standardizzazione di un test immunometrico per la diagnosi sierologia della bluetongue.

*Responsabile scientifico: Giovanni Savini*





 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

 L'obiettivo del progetto è stato quello di sviluppare e standardizzare un test immunometrico per la diagnosi sierologica della bluetongue. A tal fine sono stati identificati gli obiettivi di seguito elencati:

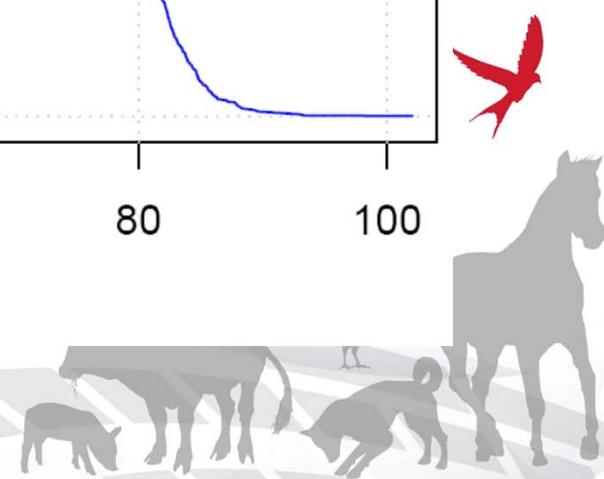
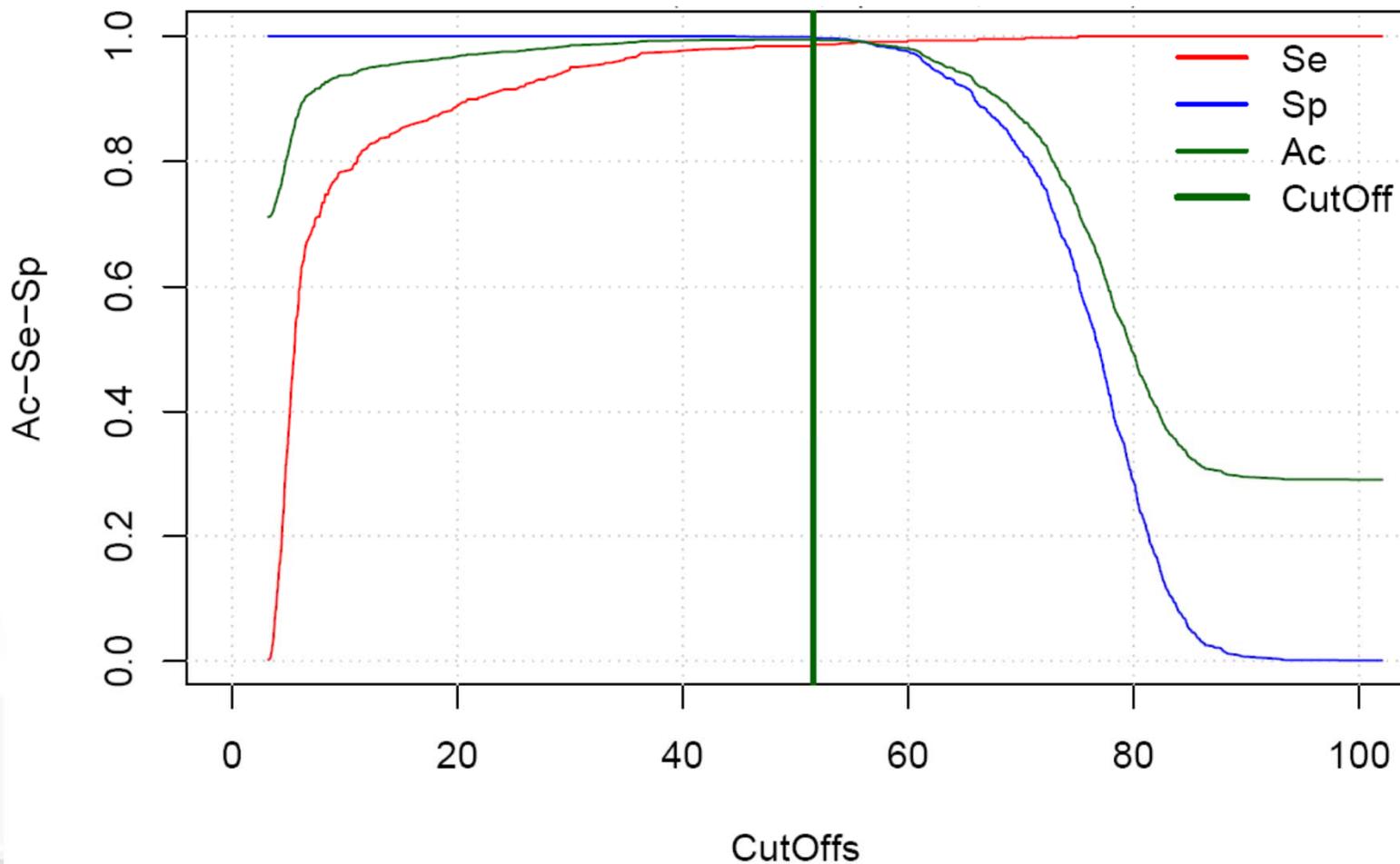
- Creazione una banca dati sulle sequenze delle VP7 dei ceppi italiani di BTV;
- Espressione della VP7 del BTV nel sistema eterologo baculovirus;
- Scale-up della produzione e purificazione della proteina ricombinante VP7 del BTV
- Produzione di anticorpi monoclonali nei confronti del Bluetongue virus;
- Sviluppo un test immunometrico per la diagnosi sierologica della Bluetongue.



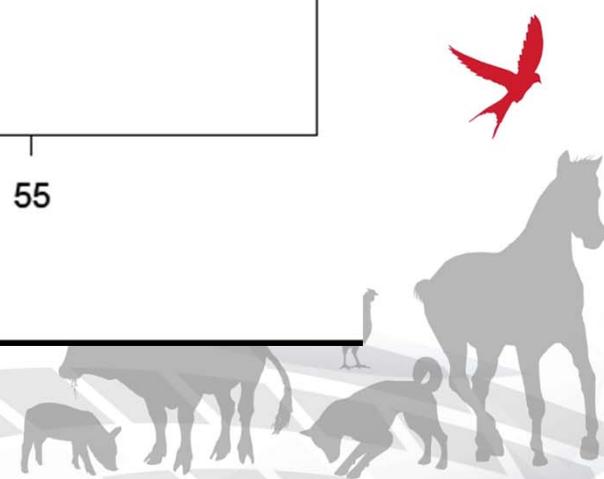
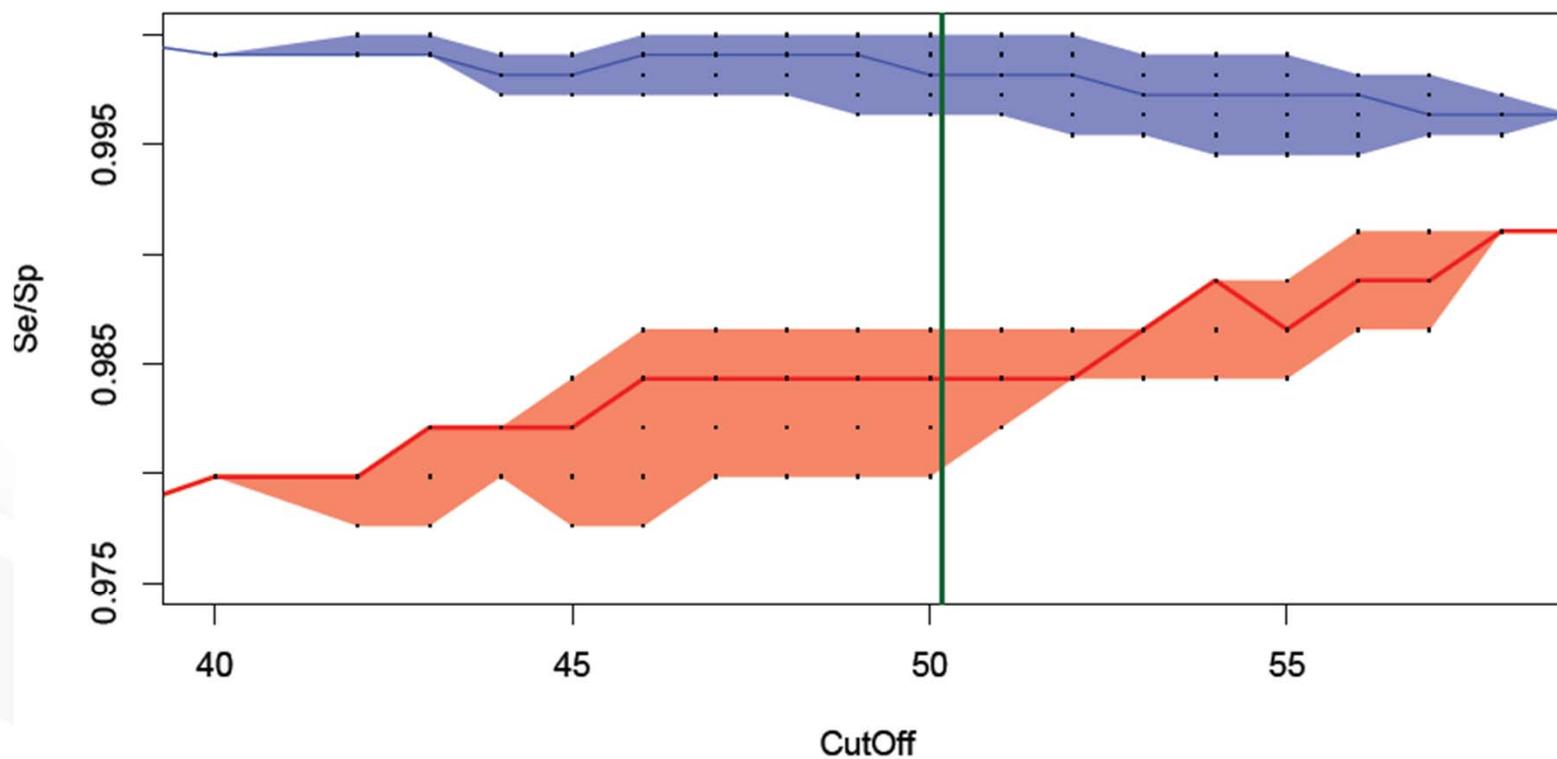


CESME  
Centro di Referenza Nazionale

# Valore di cut-off calcolato per il test c-ELISA



Se/Sp vs CutOff

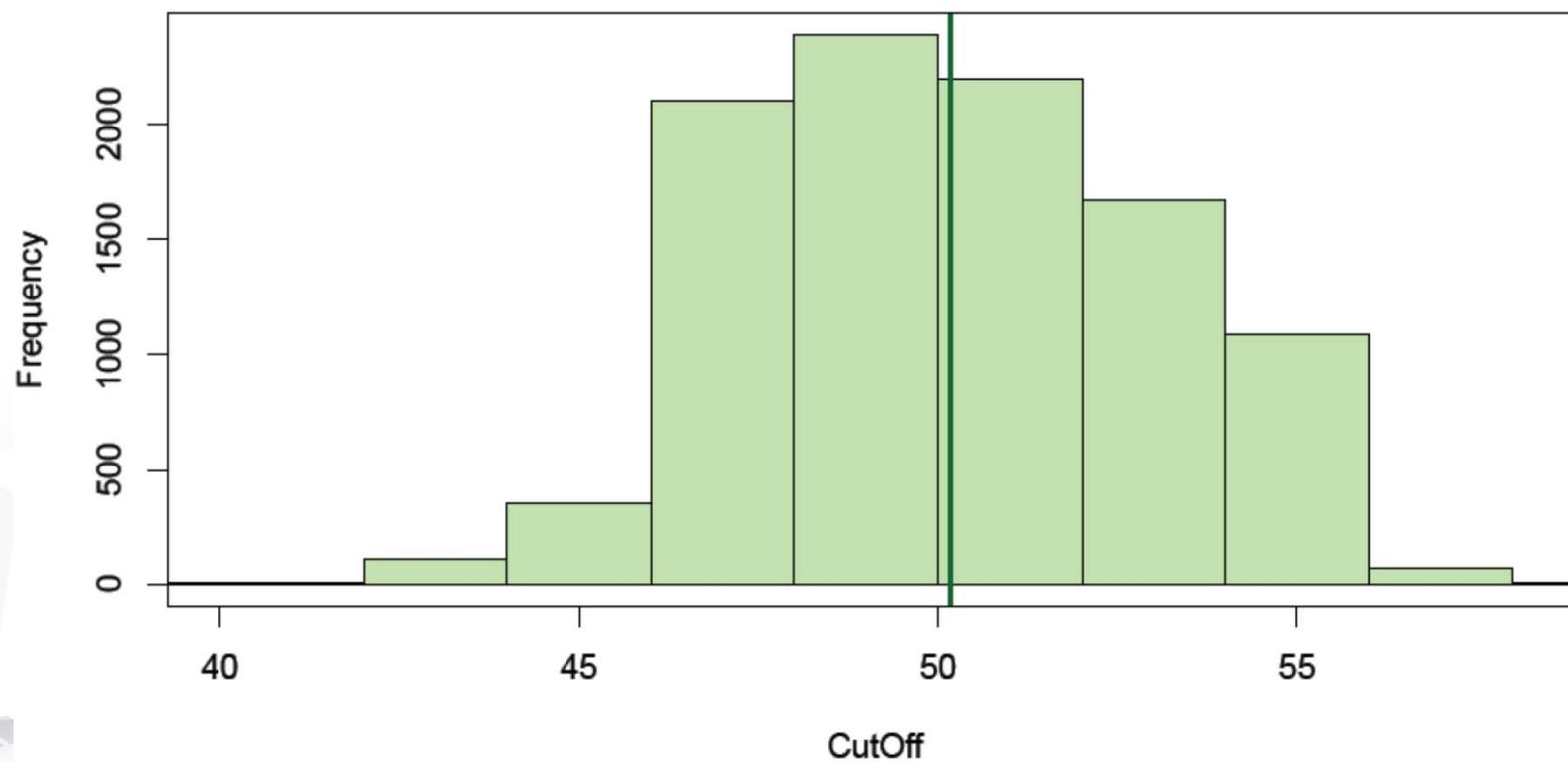




 **CESME**  
Centro di Riferenza Nazionale



### Simulated CutOff distribution



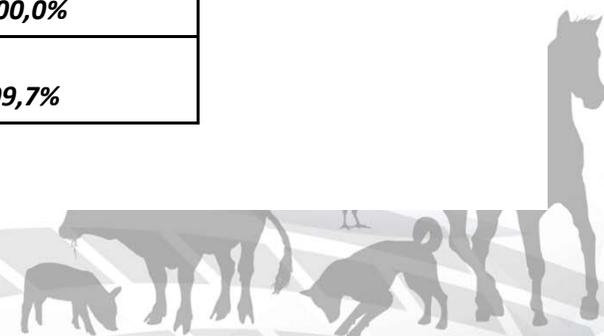


**CESME**  
Centro di Riferenza Nazionale



		STATO VERO		<i>Tot</i>
		NEG	POS	
<b>K964</b>	<b>NEG</b>	1097	7	<b>1104</b>
	<b>POS</b>	1	440	<b>441</b>
<b>Tot</b>		<b>1098</b>	<b>447</b>	<b>1545</b>

	<i>valore</i>	<i>l.c.i.</i>	<i>l.c.s.</i>
<b>Se</b>	<b>98,4%</b>	<b>96,8%</b>	<b>99,2%</b>
<b>Sp</b>	<b>99,9%</b>	<b>99,5%</b>	<b>100,0%</b>
<b>Ac</b>	<b>99,5%</b>	<b>99,0%</b>	<b>99,7%</b>





IZSAM G. CAPORALE  
TERAMO

 **CESME**  
Centro di Referenza Nazionale

# *Grazie per l'attenzione*

