

*«Giornata di studio sulla West Nile Disease»,
CIFIV-IZS A&M «G. Caporale»
Teramo, 8 maggio 2015.*



CESME

Centro di Riferenza Nazionale

**CIRCUITO INTER-LABORATORIO WEST NILE DISEASE
SIEROLOGICO**

DISTRIBUZIONI 1/2013 -1/2014

Annapia Di Gennaro





 **CESME**
Centro di Referenza Nazionale

Circuito inter-laboratorio West Nile Disease Sierologico

Distribuzioni 1/2013-1/2014

- Novembre 2013: primo circuito inter-laboratorio (1/2013) per la diagnosi sierologica della West Nile Disease
 - 4 laboratori partecipanti
 - 2 pannelli di campioni di siero equino





 **CESME**
Centro di Referenza Nazionale

Circuito inter-laboratorio West Nile Disease Sierologico

Distribuzioni 1/2013-1/2014

- Gennaio 2015: secondo circuito inter-laboratorio (1/2014) per la diagnosi sierologica della West Nile Disease
 - 11 laboratori partecipanti
 - 1 pannello di campioni di siero equino

Ogni campione è stato analizzato con metodo ELISA per Ab WND (IgG e IgM)



CAMPIONI: preparazione

- I pannelli di sieri sono stati preparati utilizzando sieri equini di campo sicuramente positivi e sicuramente negativi ai test ELISA IgG e IgM
- I sieri raccolti sono stati aliquotati e mantenuti alla temperatura di $+5 \pm 3^{\circ}$ C fino al momento dell'invio.
- Per tutti i campioni è stata valutata l'omogeneità e la stabilità



CAMPIONI: prove di omogeneità

- Per ciascun campione sono state esaminate 10 aliquote
- I valori trovati, espressi come risultato dicotomico, sono stati confrontati mediante il test Q di Cochran
- I campioni sono risultati tutti omogenei



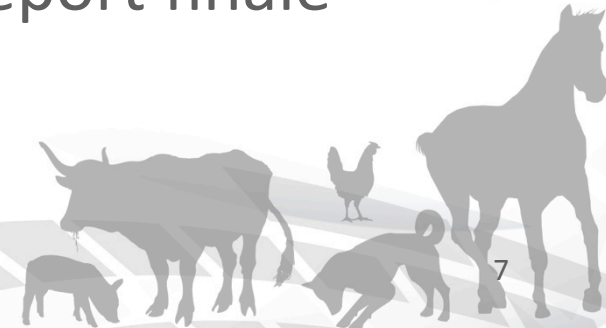
CAMPIONI: prove di stabilità

- 10 aliquote di ciascun campione sono state sottoposte a stress termici (T ambiente) ed esaminate a diversi intervalli di tempo
 - 24h, 72h, 6gg - 1/2013
 - 72h, 6gg, 10gg - 1/2014
- I campioni positivi e negativi hanno fornito i risultati attesi
- I campioni sono risultati stabili



Invio dei campioni e dei risultati

- Ciascun laboratorio partecipante ha ricevuto il pannello di sieri identificati singolarmente con codice numerico
- I risultati sono stati inseriti dai partecipanti nella pagina web dedicata dell'IZSAM
- La decodifica dei campioni inviati ai laboratori partecipanti è stata inserita nel report finale



Distribuzione 1/2013

N° progressivo	Risultato atteso	N° progressivo	Risultato atteso
1	Positivo	11	Positivo
2	Negativo	12	Negativo
3	Positivo	13	Negativo
4	Positivo	14	Positivo
5	Positivo	15	Positivo
6	Positivo	16	Positivo
7	Negativo	17	Negativo
8	Negativo	18	Positivo
9	Positivo	19	Negativo
10	Negativo	20	Positivo

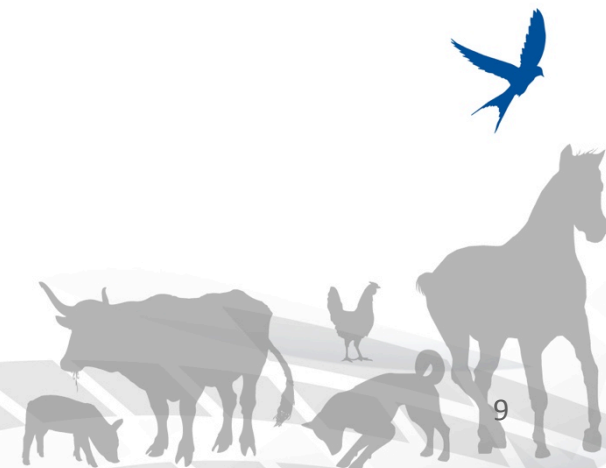
Composizione pannello IgG



Distribuzione 1/2013

Identificativo campione	Identificativo laboratorio		
	750	782	785
1	59	26	5
2	70	98	30
3	40	140	105
4	39	44	107
5	129	86	25
6	128	68	17
7	15	41	48
8	79	63	64
9	122	18	23
10	65	133	27
11	138	16	95
12	97	2	74
13	60	115	50
14	13	104	24
15	11	61	54
16	119	38	49
17	62	96	32
18	35	117	80
19	108	55	29
20	82	77	110

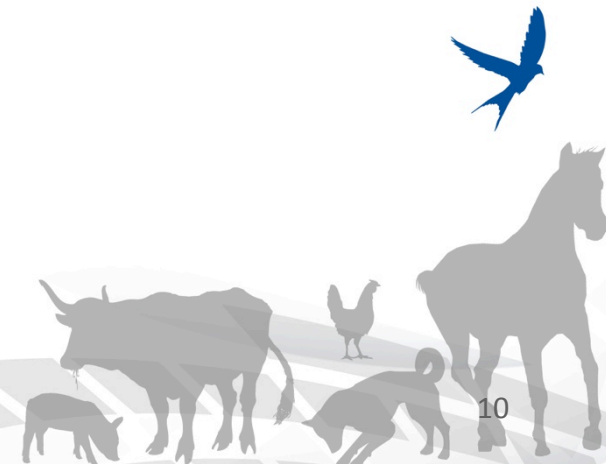
**Decodifica
campioni IgG**



Distribuzione 1/2013

N° progressivo	Risultato atteso	N° progressivo	Risultato atteso
1	Positivo	9	Negativo
2	Negativo	10	Positivo
3	Negativo	11	Negativo
4	Positivo	12	Positivo
5	Positivo	13	Positivo
6	Negativo	14	Positivo
7	Positivo	15	Positivo
8	Positivo		

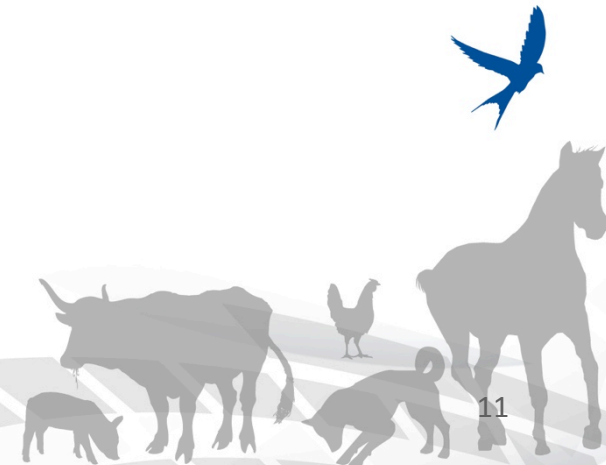
Composizione pannello IgM



Distribuzione 1/2013


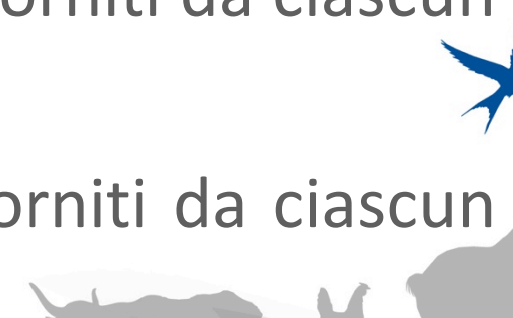
Identificativo campione	Identificativo laboratorio			
	750	782	785	788
1	35	64	101	53
2	7	13	61	76
3	78	58	9	10
4	42	79	92	40
5	97	12	85	88
6	69	20	99	77
7	54	45	6	84
8	31	3	96	52
9	66	68	80	41
10	49	24	38	36
11	39	19	103	67
12	91	46	89	43
13	21	33	70	51
14	57	75	8	73
15	16	2	17	56

Decodifica campioni IgM



Distribuzione 1/2013

Valutazione statistica dei risultati

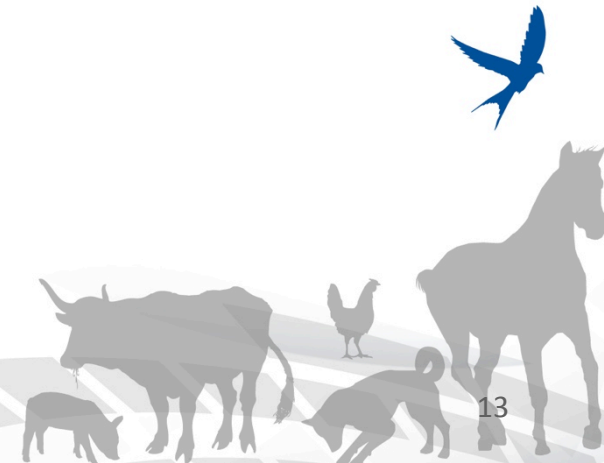
- 
- Ciascun campione esaminato è indicato come corretto o errato dall'ente organizzatore
 - La probabilità che il laboratorio fornisca risultati esatti è stimata attraverso l'impiego di una distribuzione Beta ($s+1;n-s+1$):
 - s = numero di risultati corretti forniti da ciascun laboratorio
 - n = numero di risultati totali forniti da ciascun laboratorio
- 

Distribuzione 1/2013

Risultati ELISA WND IgG

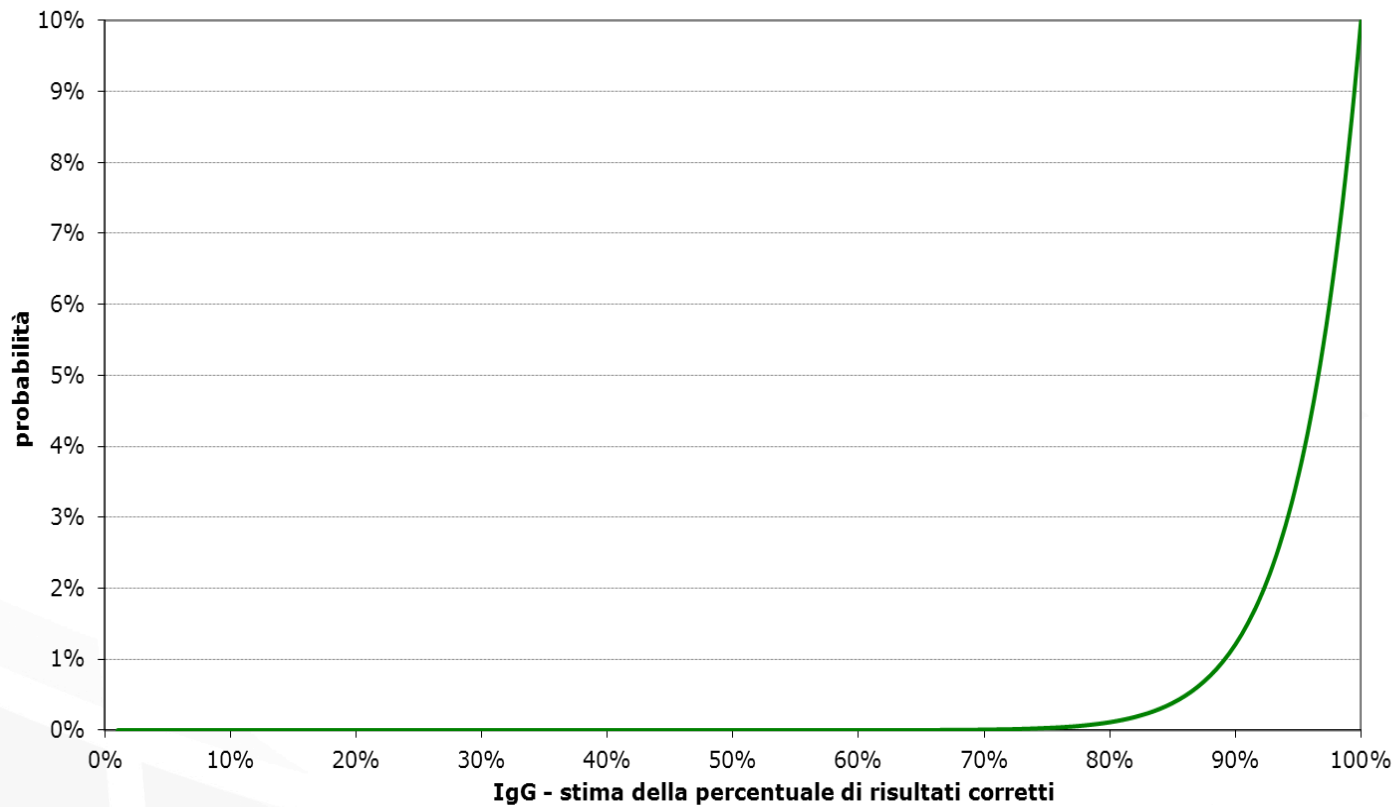
Identificativo laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (I.C. 95%)*
750	20	20	87%
782	20	20	87%
785	20	20	87%

*Nel 95 % dei casi il laboratorio è in grado di fornire una percentuale di risultati corretti superiore al valore riportato in colonna



Distribuzione 1/2013

Risultati ELISA WND IgG



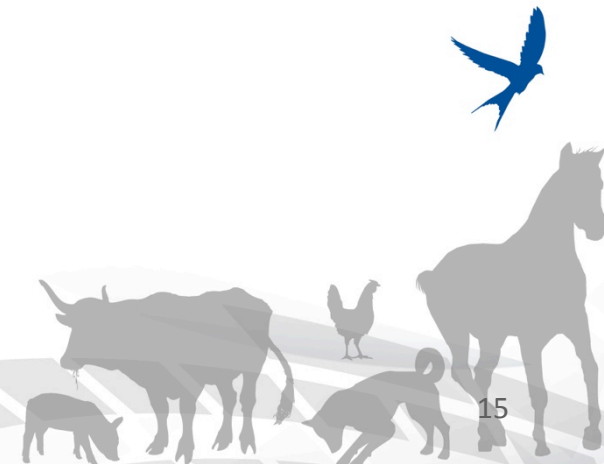
n° risultati corretti = — 20/20

Distribuzione 1/2013

Risultati ELISA WND IgM

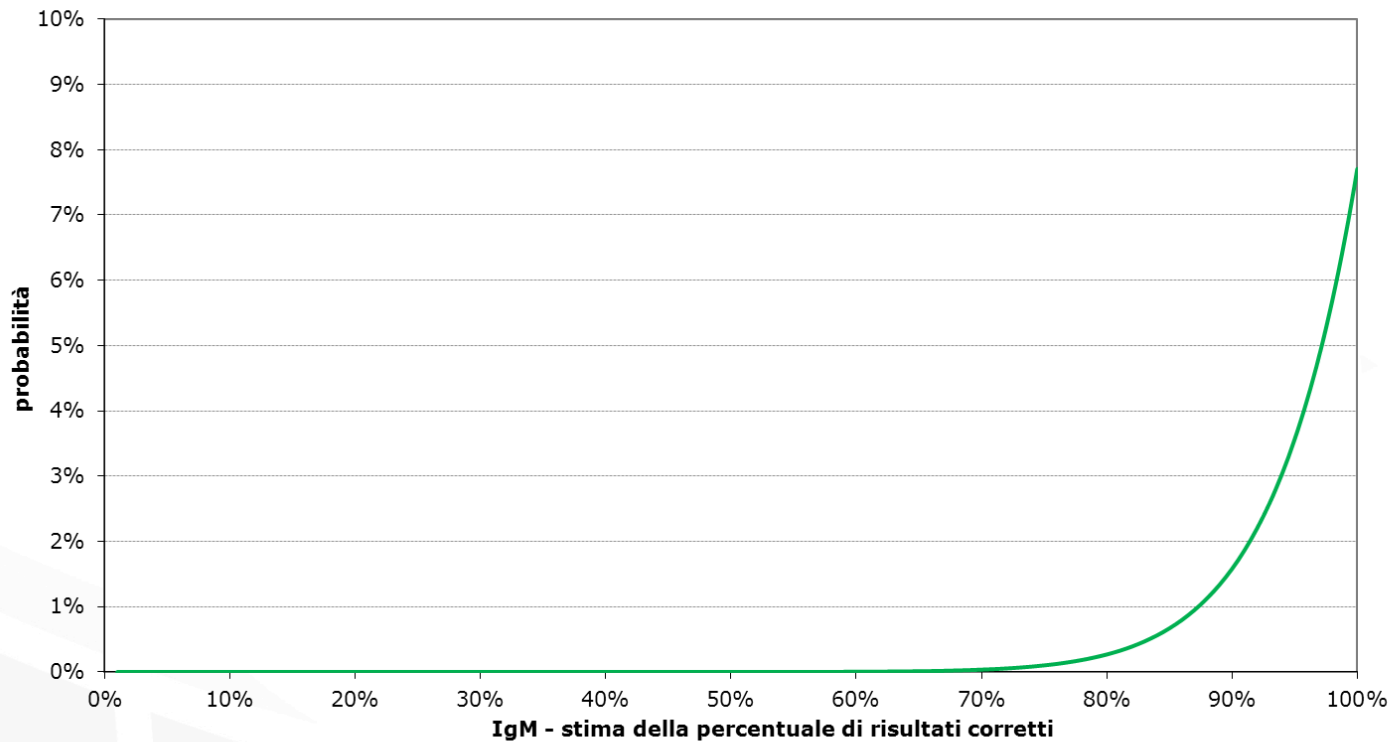
Identificativo laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (I.c. 95%)*
750	15	15	83%
782	15	15	83%
785	15	15	83%
788	15	15	83%

*Nel 95 % dei casi il laboratorio è in grado di fornire una percentuale di risultati corretti superiore al valore riportato in colonna




Distribuzione 1/2013

Risultati ELISA WND IgM



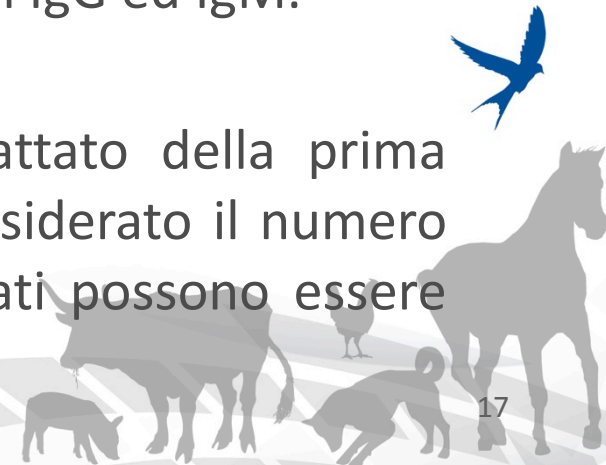
n° risultati corretti = 15/15

Distribuzione 1/2013



Gli obiettivi di questo circuito inter-laboratorio erano di verificare la prestazione dei laboratori partecipanti sulla base dei metodi utilizzati e armonizzare le procedure analitiche per la diagnosi sierologica della WND.

- ✓ I 4 laboratori partecipanti hanno identificato correttamente tutti i campioni esaminati a testimonianza che i test ELISA usati, sono in grado di individuare, nei campioni di siero equino, la presenza di anticorpi nei confronti della WND appartenenti ad entrambi le classi anticorpali IgG ed IgM.
- ✓ Con i limiti dettati dal fatto che si è trattato della prima edizione del circuito interlaboratorio e, considerato il numero limitato dei laboratori partecipanti, i risultati possono essere considerati soddisfacenti.



Distribuzione 1/2014

Composizione pannello

N° progressivo	Risultato atteso IgG	Risultato atteso IgM	N° progressivo	Risultato atteso IgG	Risultato atteso IgM
1	Positivo	Negativo	11	Negativo	Negativo
2	Positivo	Negativo	12	Negativo	Negativo
3	Positivo	Negativo	13	Negativo	Negativo
4	Positivo	Negativo	14	Negativo	Negativo
5	Positivo	Negativo	15	Negativo	Negativo
6	Positivo	Negativo	16	Negativo	Negativo
7	Positivo	Negativo	17	Negativo	Negativo
8	Positivo	Positivo	18	Negativo	Negativo
9	Positivo	Positivo	19	Negativo	Negativo
10	Positivo	Positivo	20	Negativo	Negativo

Distribuzione 1/2014

Decodifica campioni

Identificativo campione	Identificativo laboratorio										
	750	782	785	788	829	831	832	837	838	841	843
1	85	9	31	18	195	206	116	79	130	10	201
2	75	112	117	105	216	78	35	2	100	185	38
3	135	125	34	147	136	72	134	61	194	58	1
4	165	188	14	119	27	23	126	178	77	205	87
5	22	19	109	200	21	94	98	28	93	197	189
6	155	203	55	122	66	183	65	128	162	41	220
7	30	42	209	139	158	175	17	219	143	46	69
8	102	90	215	3	160	141	170	182	153	44	190
9	81	6	121	151	40	95	91	49	208	15	82
10	179	63	106	156	64	214	173	177	29	36	184
11	20	123	192	13	5	71	53	176	131	103	210
12	181	88	129	172	168	152	96	138	145	32	127
13	150	73	191	198	163	83	43	204	57	180	84
14	115	212	12	7	45	68	144	124	16	110	114
15	11	8	97	217	140	161	33	48	154	107	213
16	4	80	199	167	166	142	186	101	47	60	26
17	86	56	25	52	148	111	207	218	24	196	99
18	50	92	62	113	164	120	59	146	211	137	149
19	171	118	157	169	202	133	187	174	193	89	37
20	54	76	132	104	67	108	51	70	159	74	39

Distribuzione 1/2014

Valutazione statistica dei risultati

- Ciascun campione esaminato è indicato come corretto o errato dall'ente organizzatore
- La probabilità che il laboratorio fornisca risultati esatti è stimata 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

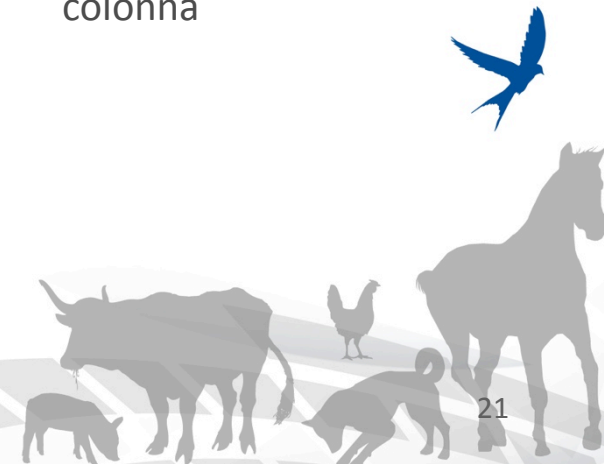


Distribuzione 1/2014

Risultati ELISA WND IgG

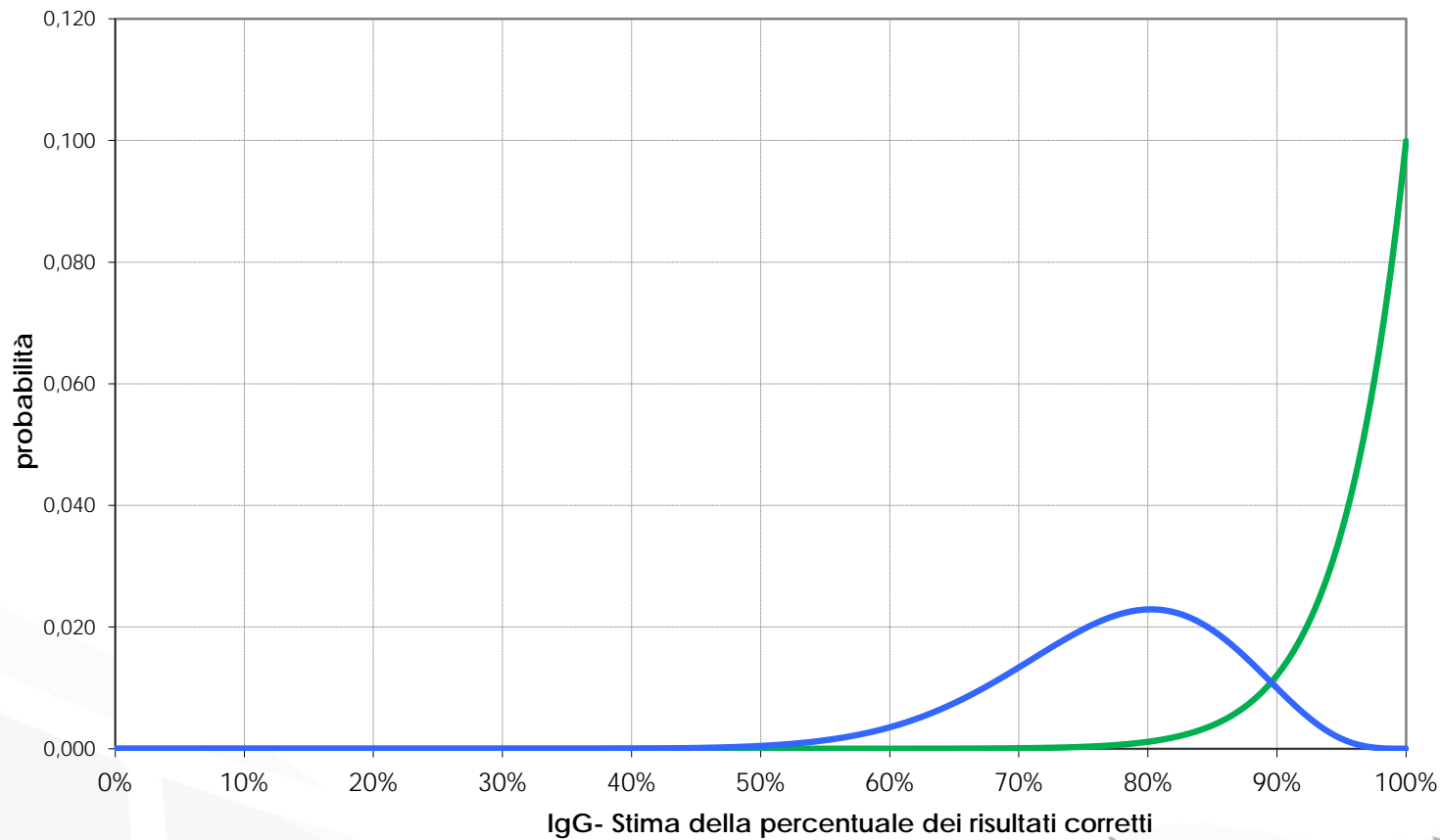
Identificativo laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (l.c. 95%)*
750	20	20	87%
782	20	20	87%
785	16	20	58%
829	20	20	87%
831	20	20	87%
832	20	20	87%

*Nel 95 % dei casi il laboratorio è in grado di fornire una percentuale di risultati corretti superiore al valore riportato in colonna



Distribuzione 1/2014

Risultati ELISA WND IgG



— 20/20

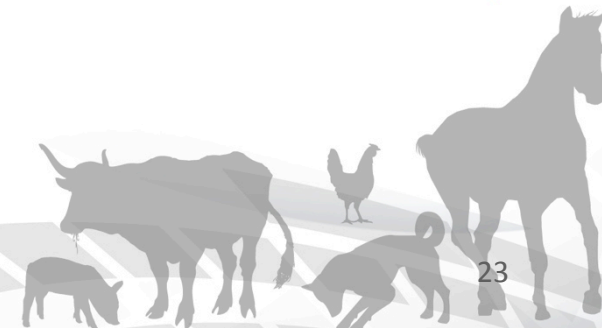
— 16/20

Distribuzione 1/2014

Risultati ELISA WND IgM

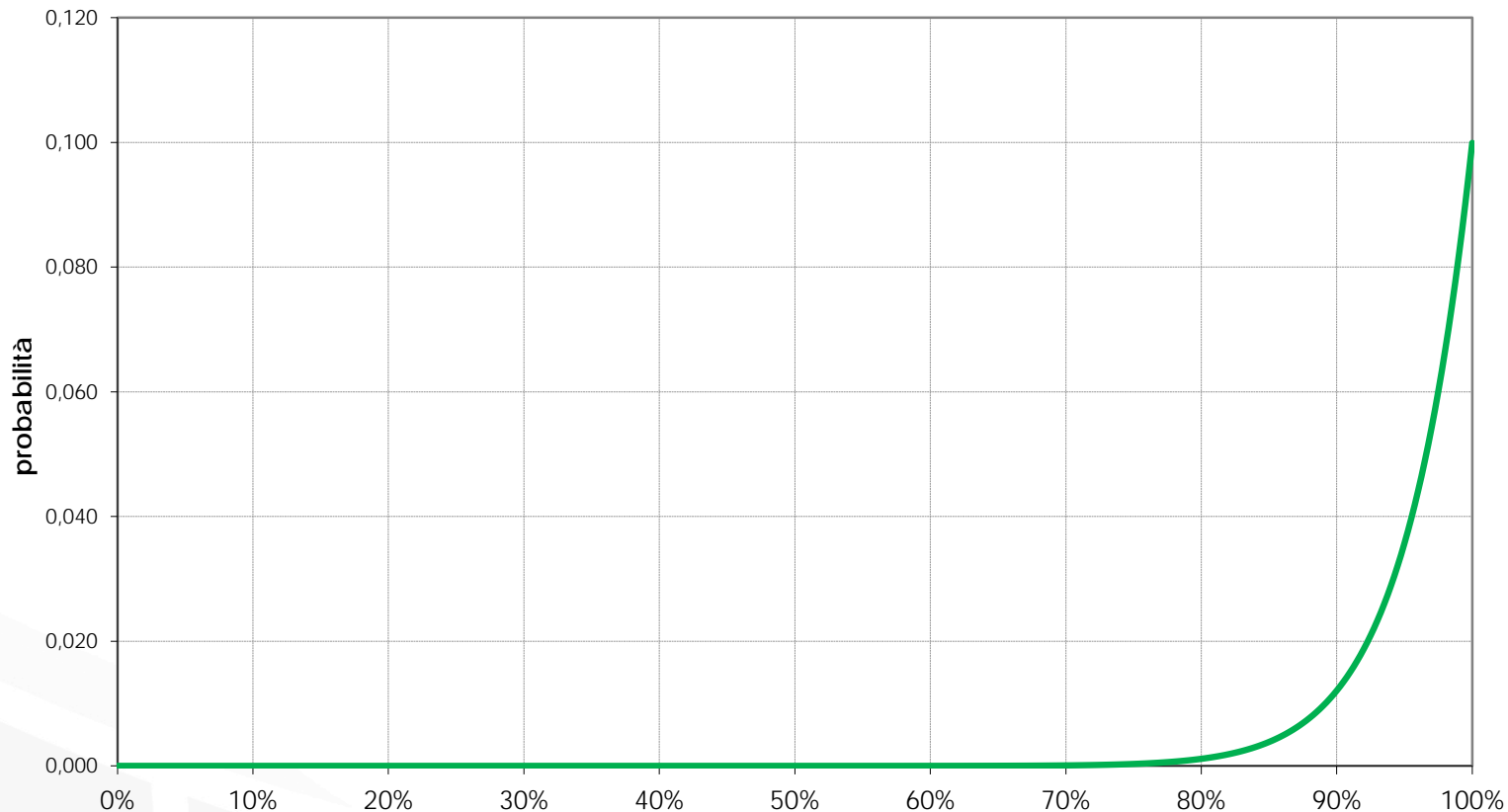
Identificativo laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (I.c. 95%)*
750	20	20	87%
782	20	20	87%
785	20	20	87%
788	20	20	87%
829	20	20	87%
831	20	20	87%
832	20	20	87%
837	20	20	87%
838	20	20	87%
841	20	20	87%
843	20	20	87%

*Nel 95 % dei casi il laboratorio è in grado di fornire una percentuale di risultati corretti superiore al valore riportato in colonna



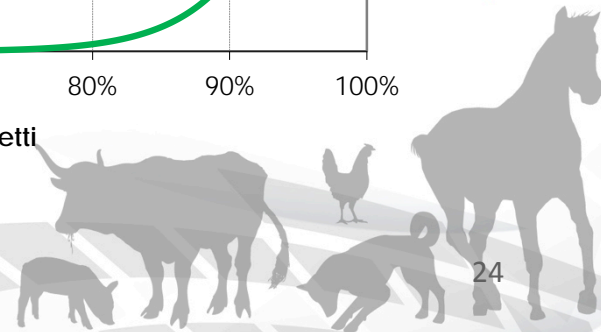
Distribuzione 1/2014

Risultati ELISA WND IgM



IgG- Stima della percentuale dei risultati corretti

— 20/20



Distribuzione 1/2014

Valutazione globale dei Laboratori

Permette di stimare la percentuale di tutti i risultati corretti forniti da un laboratorio dalla prima distribuzione a quella in corso

Distribuzione Beta ($s+1;n-s+1$):

- s : somma di tutti i risultati corretti
- n : somma di tutti i risultati forniti

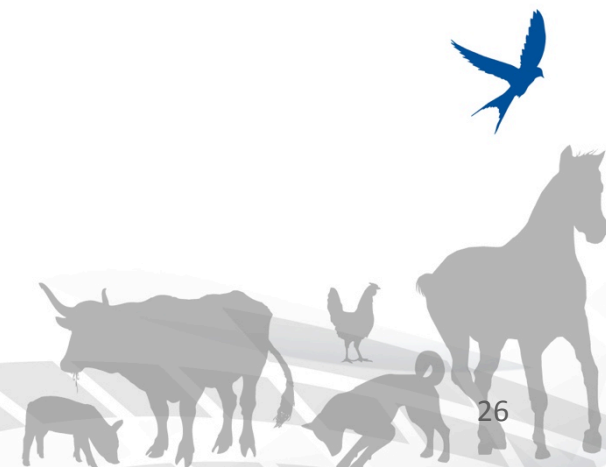


Distribuzione 1/2014

Valutazione globale dei Laboratori - IgG

Identificativo laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (I.c. 95%)*
750	40	40	93%
782	40	40	93%
785	36	40	77%
829	20	20	87%
831	20	20	87%
832	20	20	87%

*Nel 95 % dei casi il laboratorio è in grado di fornire una percentuale di risultati corretti superiore al valore riportato in colonna

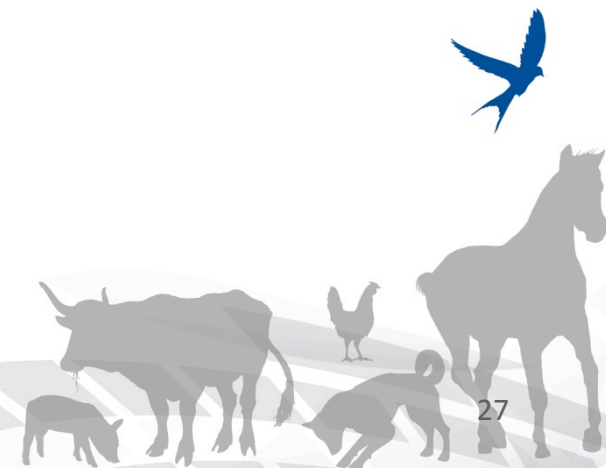


Distribuzione 1/2014


Valutazione globale dei Laboratori - IgM

Identificativo laboratorio	Corretti	Esaminati	Stima della % di risultati corretti (I.C. 95%)*
750	35	35	92%
782	35	35	92%
785	35	35	92%
788	35	35	92%
829	20	20	87%
831	20	20	87%
832	20	20	87%
837	20	20	87%
838	20	20	87%
841	20	20	87%
843	20	20	87%

*Nel 95 % dei casi il laboratorio è in grado di fornire una percentuale di risultati corretti superiore al valore riportato in colonna



Distribuzione 1/2014



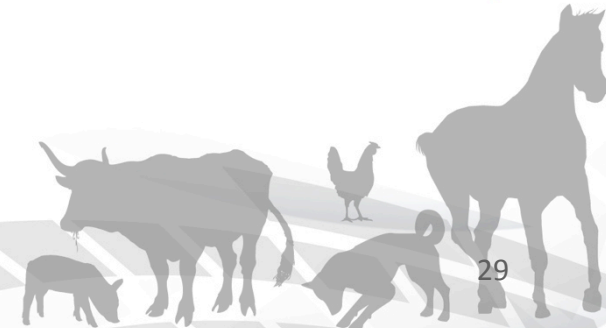
L'obiettivo principale di questo circuito inter-laboratorio era verificare l'armonizzazione delle procedure analitiche per la diagnosi sierologica della WND in seguito allo stage effettuato dal LRN, rivolto al personale degli II.ZZ.SS impegnati nel Piano di Sorveglianza Nazionale della West Nile Disease

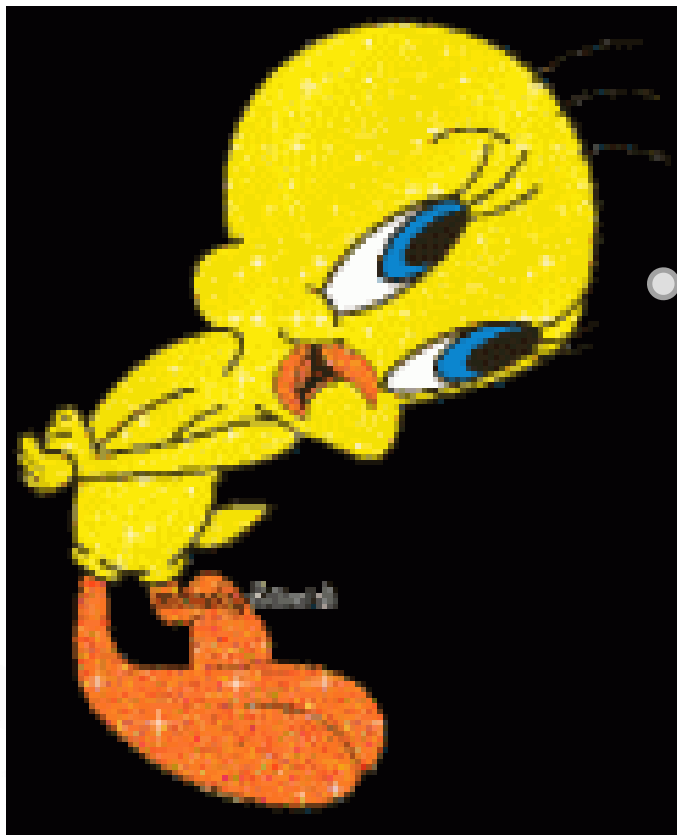
- ✓ Nel circuito 1/2014 tutti i laboratori partecipanti sono stati in grado di identificare correttamente la presenza di anticorpi IgM nei confronti della WND. Nella ricerca di anticorpi IgG, un solo laboratorio (cod 785), non è stato in grado di evidenziare correttamente tutte le positività sierologiche.

Distribuzione 1/2014

Conclusioni

- ✓ Nella valutazione finale, tenendo conto anche delle performances cumulative di alcuni laboratori partecipanti ai due circuiti, i risultati ottenuti possono ritenersi complessivamente soddisfacenti.
- ✓ Con il laboratorio 785 saranno concordate le opportune azioni correttive.





Grazie per
l'attenzione

