



IZSAM G.CAPORALE  
TERAMO



Brucellosi

Centro di Referenza Nazionale

## Circuiti interlaboratorio 2012

Romolo Salini





# Prove Interlaboratorio Brucellosi

 **Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale



L'Istituto 'G. Caporale' in qualità di Centro di Referenza Nazionale per le Brucellosi (D.M. 4 OTTOBRE 1999) ha, tra gli altri compiti, quello di organizzare ring test tra gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali.

Per questa ragione organizza circuiti di prove interlaboratorio che consentono di monitorare nel tempo le prestazioni dei laboratori coinvolti nel piano di sorveglianza della Brucellosi.



# Prove Interlaboratorio Brucellosi

Bluetongue	<<
Bluetongue PCR	<<
Brucella - Alimenti	<<
<b>Brucella - Diagnostica</b>	<<
<b>Brucellosi</b>	<<
Campylobacter Alimenti	<<
Campylobacter Diagnostica	<<
Interlab Salmonella	<<
Listeria e Salmonella	<<
Listeria monocytogenes	<<
Morbo Coitale Maligno	<<
PPCB	<<
Rift Valley Fever	<<
Trichinella - Digestione enzimatica	<<
Virus Schmallenberg	<<
West Nile Disease	<<
West Nile Disease RT-PCR	<<
West Nile Disease Sierologico	<<

Fino al 2012 venivano organizzati due circuiti interlaboratorio per la diagnosi della Brucellosi: uno per la **sierologia**, l'altro per la **microbiologia**.

A partire dal 2013 i circuiti microbiologici saranno 2: uno per gli alimenti e uno di diagnostica



ISTITUTO G. CAPORALE TERAMO

**Prove Interlaboratorio** Vers. 1.0  
Build 6

## Brucellosi

Per poter accedere al servizio,  
selezionare l'Organizzazione ed inserire la password

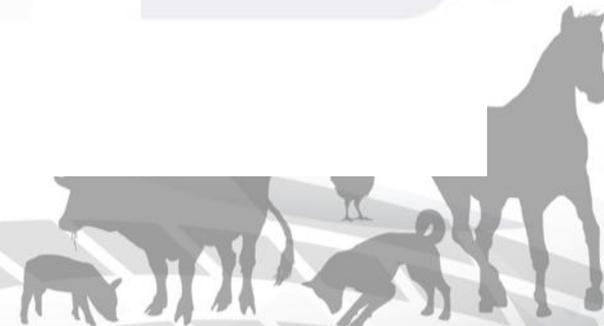
**Organizzazione/Laboratorio:**  
CENTRAL VETERINARY LABORATORY - WINDHOEK

**Password:**



**Ho dimenticato la password**

 **Iscrizione nuovo utente**



# Sierologia – esame qualitativo



Ad ogni laboratorio è assegnato un codice numerico univoco di identificazione.

- Il pannello di sieri utilizzato per le prove del ring test viene preparato a partire da sieri di campo positivi e negativi.
- Il pannello di campioni da esaminare è composto da 30 sieri positivi e negativi.
- Ogni campione viene univocamente codificato
- La prova è di tipo qualitativo e viene eseguita secondo la metodica SAR e ELISA latte.



# Omogeneità e stabilità dei campioni

- **Omogeneità:** 15 aliquote di ciascun campione componente il pannello, sulle quali sono effettuate 10 ripetizioni (test Q di Cochran).
- **Stabilità:** 3 ripetizioni per ogni istante di tempo ( $t_0$ ,  $t_6$ ,  $t_9$ ). Analisi di regressione. Valutazione dell'intervallo di confidenza del coefficiente angolare della retta di regressione.



# Analisi statistica dati qualitativi



Ciascun campione esaminato viene indicato dal laboratorio organizzatore come **errato** o **corretto**.

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

dove:

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

$n$  = numero di campioni esaminati da ciascun laboratorio



# Analisi statistica dati qualitativi

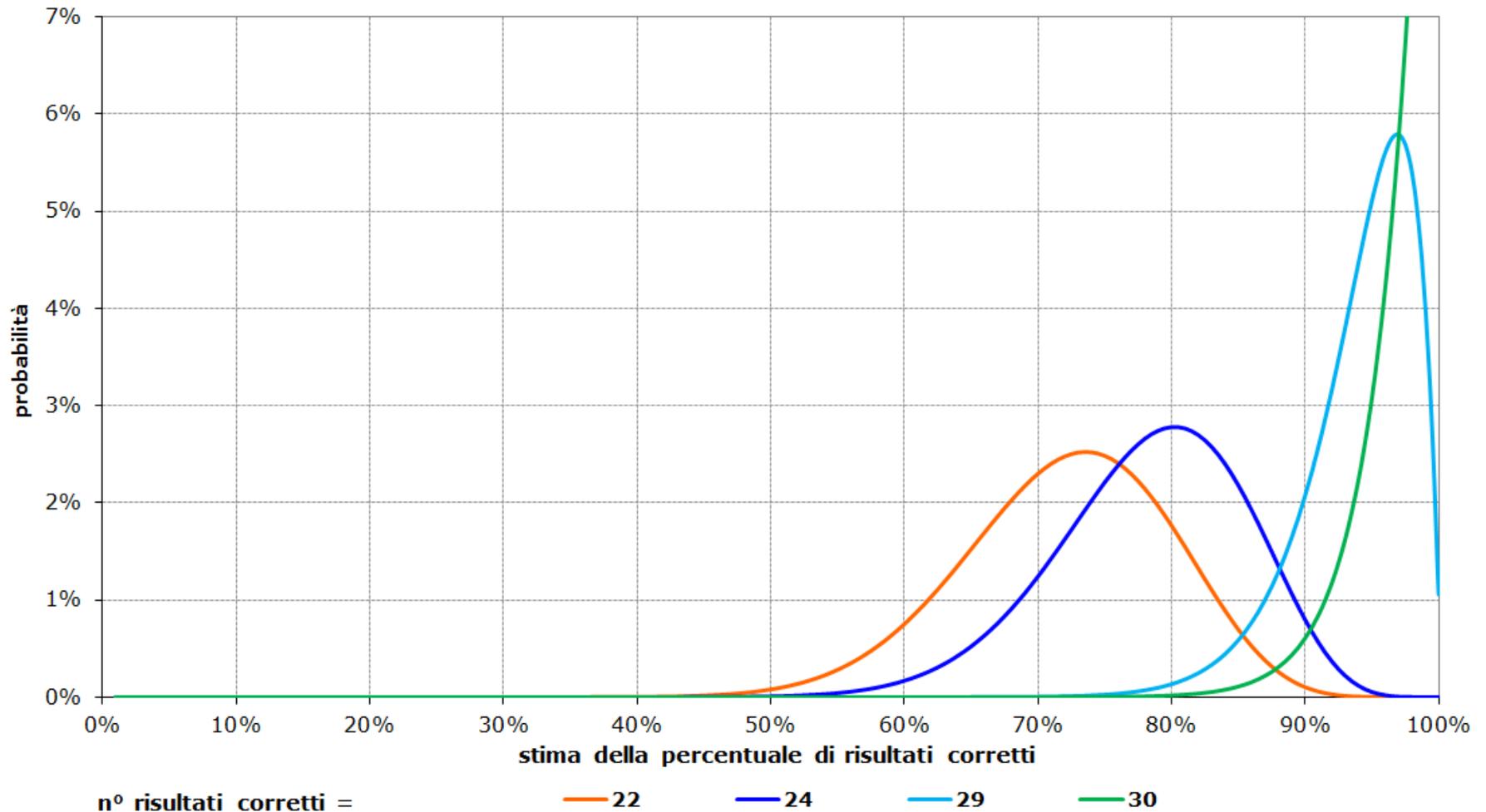


Dalla seconda distribuzione in poi è effettuata anche una valutazione globale del laboratorio che permette di stimare la percentuale (e la sua incertezza) di tutti i risultati corretti forniti da un laboratorio, dalla prima distribuzione a quella in corso.



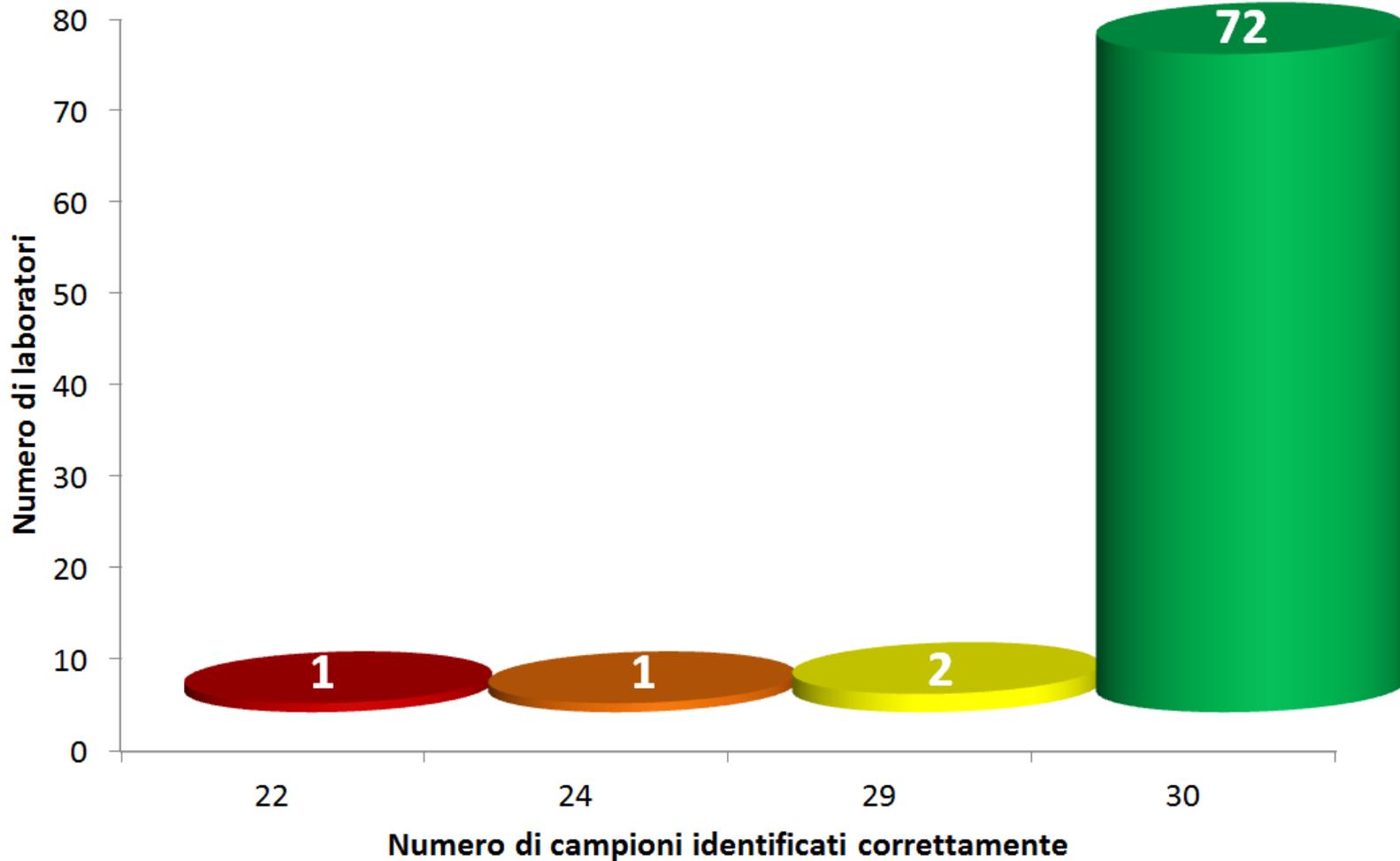
# Analisi statistica qualitativa

 Brucellosi  
Centro di Referenza Nazionale



# Analisi statistica qualitativa

 **Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale



## **SAR**

Dalla valutazione della prova qualitativa SAR risulta che 72 dei 76 laboratori partecipanti alla prova, hanno individuato correttamente i 30 campioni, rappresentando l' 95% del totale dei laboratori. Dei restanti, due laboratori hanno individuato correttamente 29 campioni su 30, uno 24 su 30 e uno 22 su 30.

## ***m-ELISA***

La prova qualitativa ELISA latte è stata eseguita da 23 laboratori, che hanno individuato correttamente i 30 campioni esaminati.

# Analisi statistica quantitativa



I risultati vengono valutati attraverso il calcolo del valore di z-score, previa trasformazione logaritmica dei dati:

$$z - score = \frac{x_i - x_a}{NIQ}$$

dove :

$x_i$  = risultato fornito dal laboratorio i-esimo

$x_a$  = valore assegnato

NIQ = intervallo interquartile normalizzato =  $(Q3 - Q1) * 0,7413$



# Analisi statistica quantitativa



I laboratori potranno valutare la propria attività secondo i seguenti criteri:

$$|z| \leq 2$$

soddisfacente

$$2 < |z| < 3$$

discutibile

$$|z| \geq 3$$

insoddisfacente



# Analisi statistica quantitativa



Al fine di **valutare la prestazione globale** del laboratorio nell'ambito della singola distribuzione, è stato calcolato un indice definito dalla somma dei quadrati dei valori di z-score del singolo laboratorio (**SQZ<sub>lab</sub>**):

$$SQZ_{lab} = \sum_{i=1}^n z_i^2$$

dove:

$n$  = numero di campioni analizzati per ciascun laboratorio

$z_i$  = valore di z-score relativo al campione  $i$ -esimo



# Analisi statistica quantitativa

Limiti accettabilità  
SQZ



n° di valori di z-score per laboratorio	SQZ ( $\alpha=0,0455$ )	SQZ ( $\alpha=0,0027$ )
2	6,180	11,829
3	8,025	14,156
4	9,716	16,251
5	11,314	18,205
6	12,849	20,062
7	14,337	21,846
8	15,789	23,574
9	17,212	25,257
10	18,610	26,901
11	19,988	28,513
12	21,349	30,097
13	22,694	31,657
14	24,025	33,195
15	25,345	34,714
16	26,653	36,216
17	27,952	37,702
18	29,242	39,174
19	30,524	40,633
20	31,798	42,080

I criteri di valutazione sono i seguenti:

$$SQZ_{lab} \leq SQZ (\alpha = 0,0455; n)$$

$$SQZ (\alpha = 0,0455; n) < SQZ_{lab} < SQZ (\alpha = 0,0027; n)$$

$$SQZ_{lab} \geq SQZ (\alpha = 0,0027; n)$$

soddisfacente

discutibile

insoddisfacente



# Analisi statistica quantitativa



La valutazione degli **errori sistematici** viene effettuata attraverso il calcolo dell'indice **RSZ** per ciascun laboratorio partecipante.

$$RSZ_{lab} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i}{\sqrt{n}}$$

dove:

$n$  = numero di campioni analizzati da ciascun laboratorio

$z_i$  = valore di z-score relativo al campione  $i$ -esimo



# Analisi statistica quantitativa

La valutazione dell'indice RSZ si effettua allo stesso modo degli z-score e cioè:

$$|\text{RSZ}| \leq 2$$

soddisfacente

$$2 < |\text{RSZ}| < 3$$

discutibile

$$|\text{RSZ}| \geq 3$$

insoddisfacente

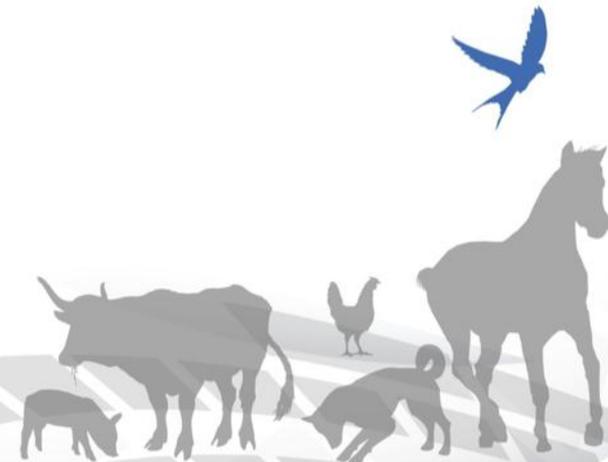
N.B. Il segno dell'indice RSZ ci indica se siamo in presenza di sovrastima (+) o di sottostima (-)



# Analisi statistica quantitativa



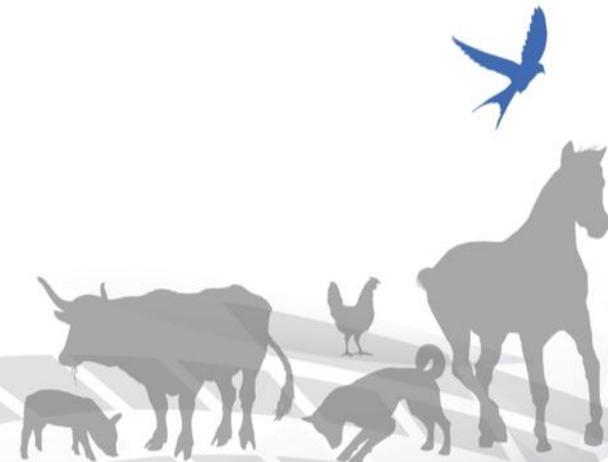
Sino alla precedente distribuzione Il valore atteso  $X_a$  veniva determinato calcolando la media geometrica dei risultati forniti dai 5 laboratori di riferimento (selezionati casualmente tra i 10 laboratori che avevano ottenuto i migliori risultati, in termini di SQZ e RSZ, nelle 3 precedenti distribuzioni).



# Analisi statistica quantitativa

A partire dalla distribuzione corrente si è deciso di considerare 10 laboratori di riferimento (considerando i migliori 10 delle 3 precedenti distribuzioni). Ogni laboratorio effettua 10 ripetizioni per ciascuno dei 5 campioni inviati.

Il valore atteso è determinato come media geometrica dei risultati dei laboratori di riferimento.





# Analisi statistica quantitativa

 **Brucellosi**  
Centro di Referenza Nazionale

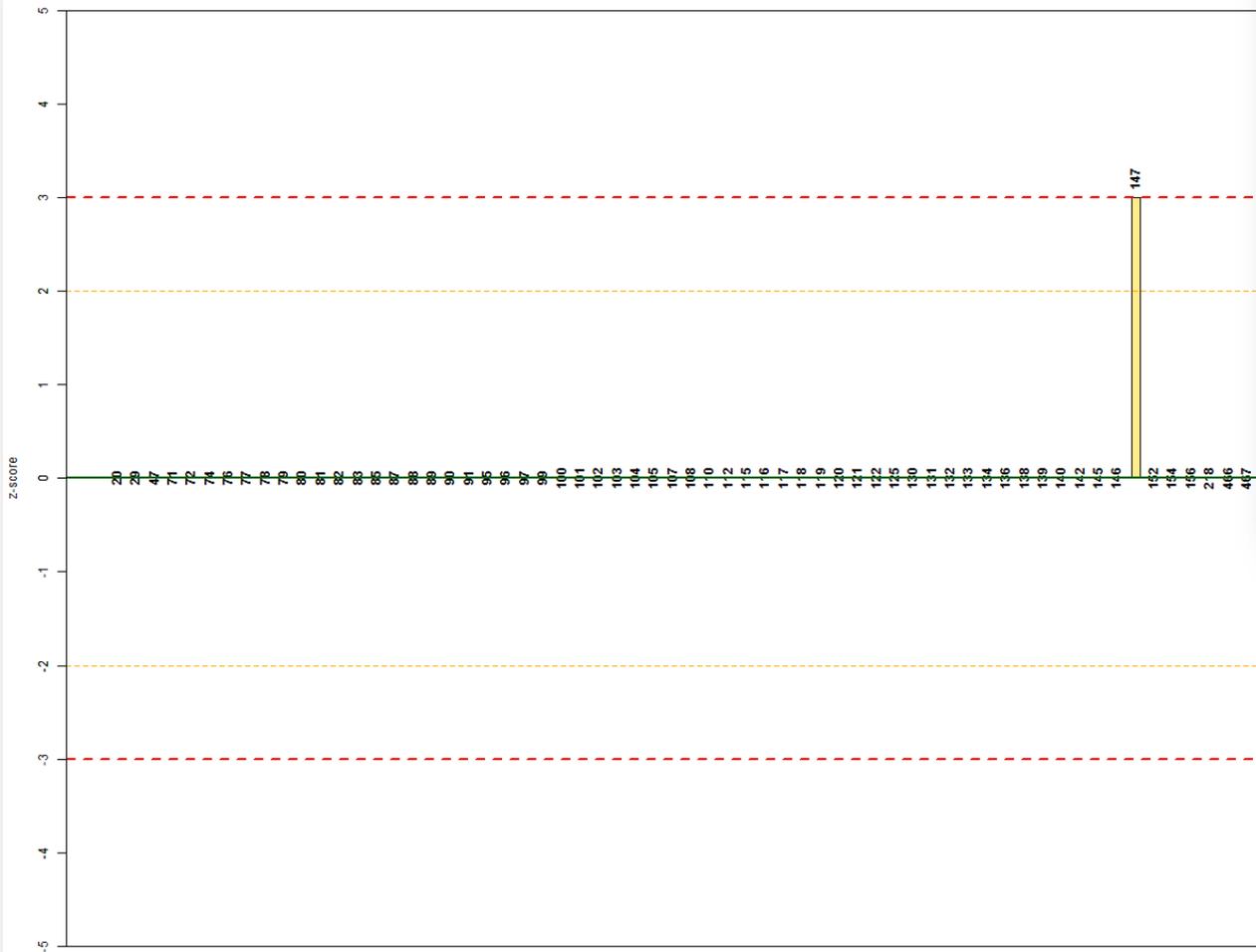


N.B. I laboratori che forniscono dei risultati anomali (individuati attraverso l'analisi degli outlier) vengono esclusi dal calcolo della media geometrica. L'analisi degli outlier viene effettuata in maniera ricorsiva, ogni qual volta viene individuato un outlier quel laboratorio viene escluso dal calcolo del valore atteso, fino ad utilizzare un minimo di 7 risultati.

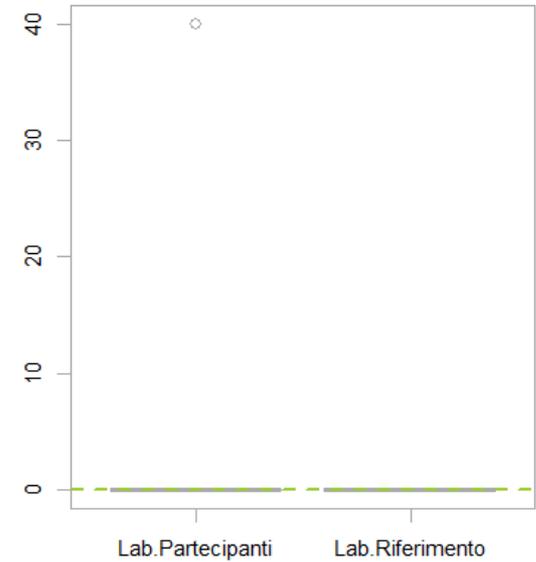


# Analisi statistica quantitativa

Grafico 2 : Andamento dei valori di z-score (FdC) - campione 61



Campione 61 - Valore assegnato: 0



# Analisi statistica quantitativa

Campione 62 - Valore assegnato: 111.9

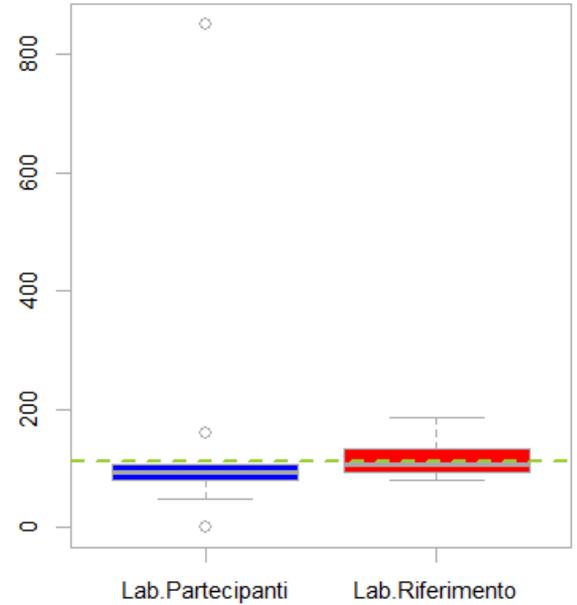
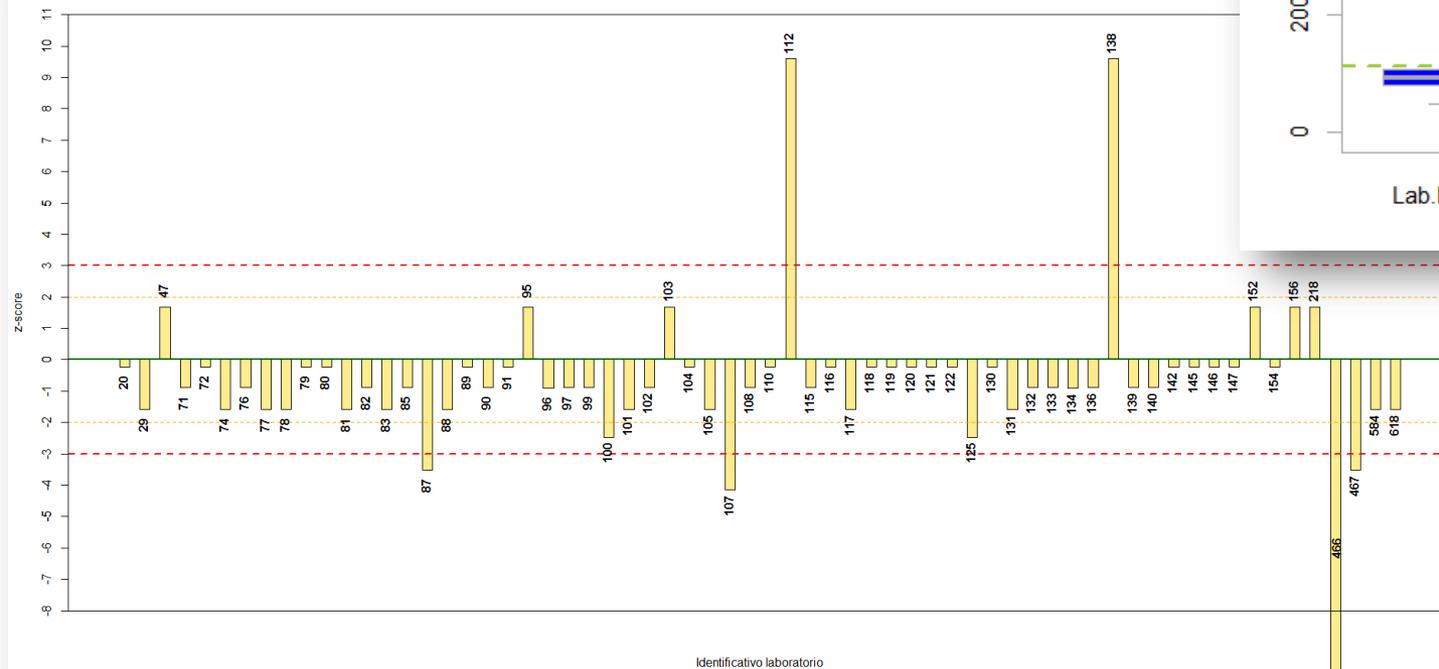
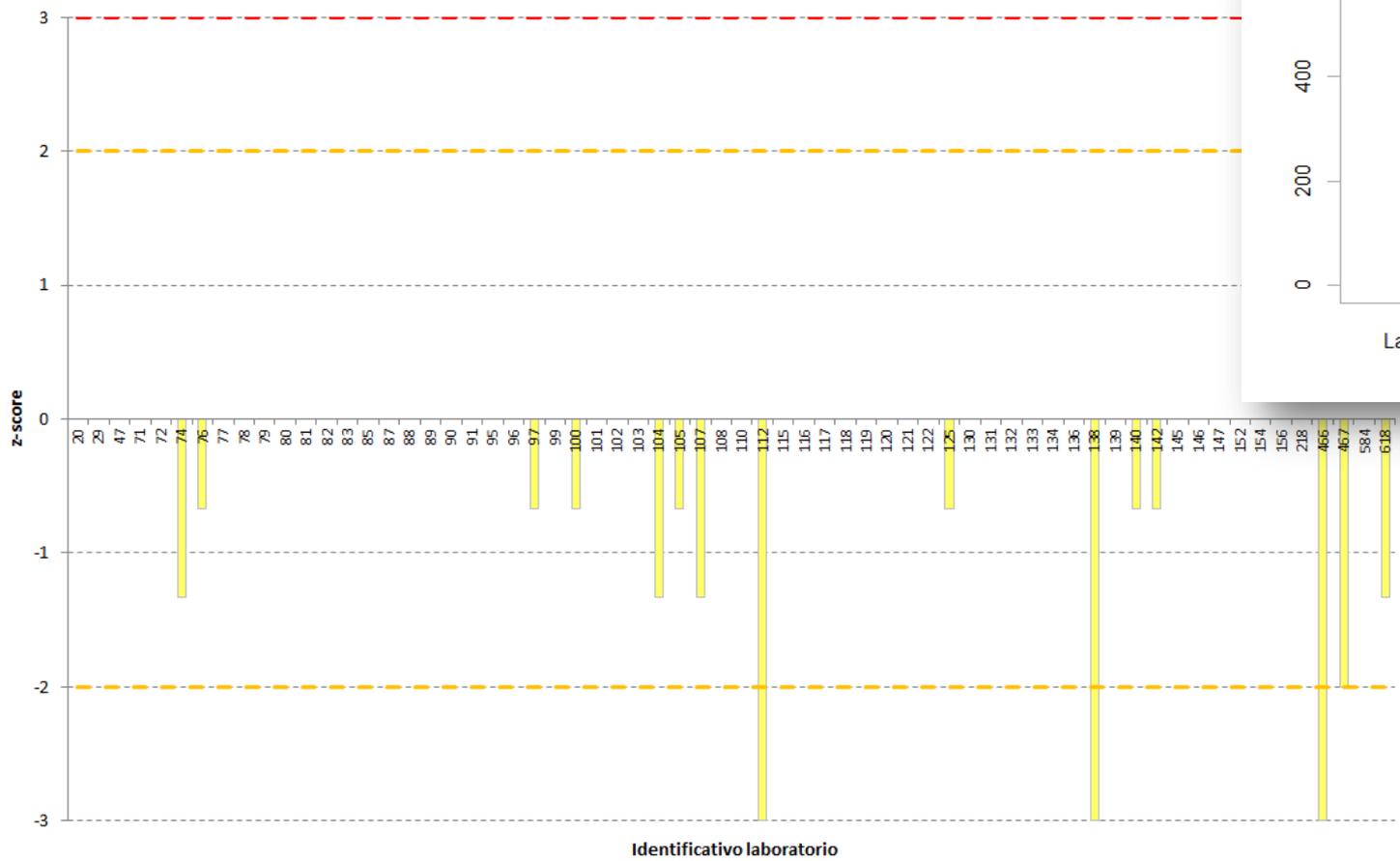


Grafico 3 : Andamento dei valori di z-score (FdC) - campione 62

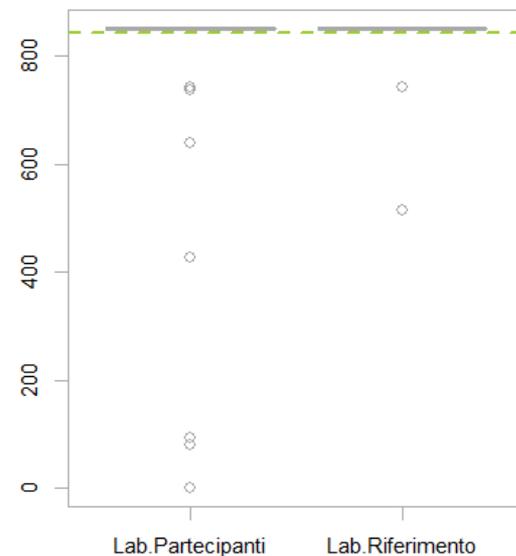


# Analisi statistica quantitativa

Grafico 4: Andamento dei valori di z-score (FDC) - campione 63



Campione 63 - Valore assegnato: 843.4



# Analisi statistica quantitativa

Campione 64 - Valore assegnato: 110.3

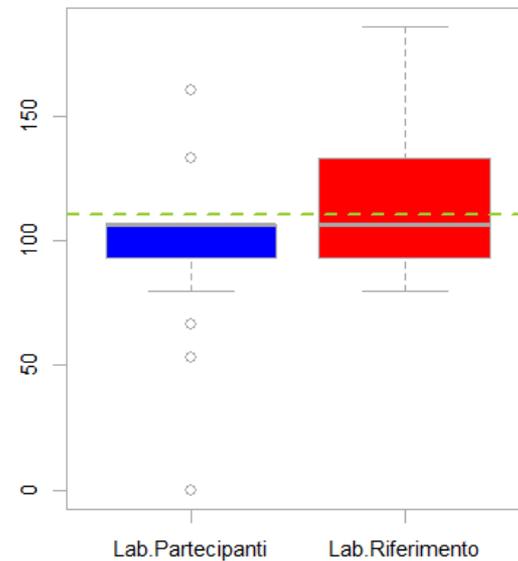
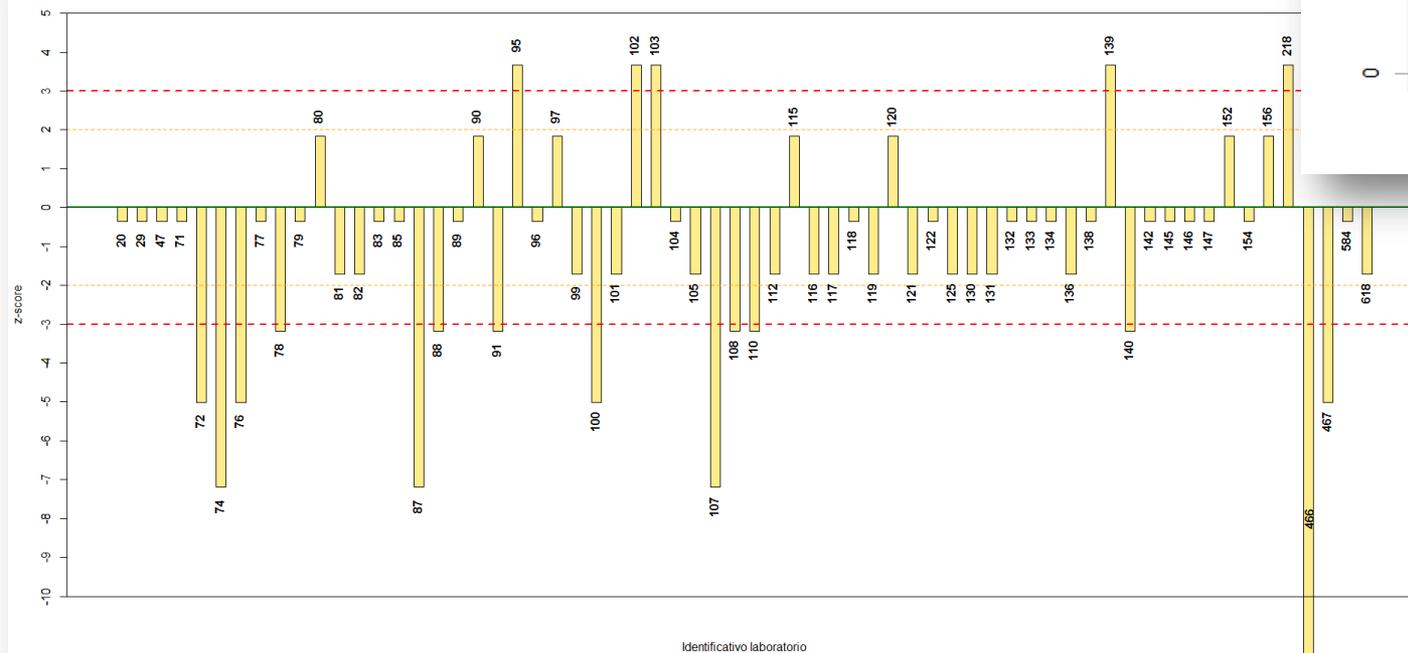


Grafico 5 : Andamento dei valori di z-score (FdC) - campione 64



# Analisi statistica quantitativa

Campione 65 - Valore assegnato: 43.8

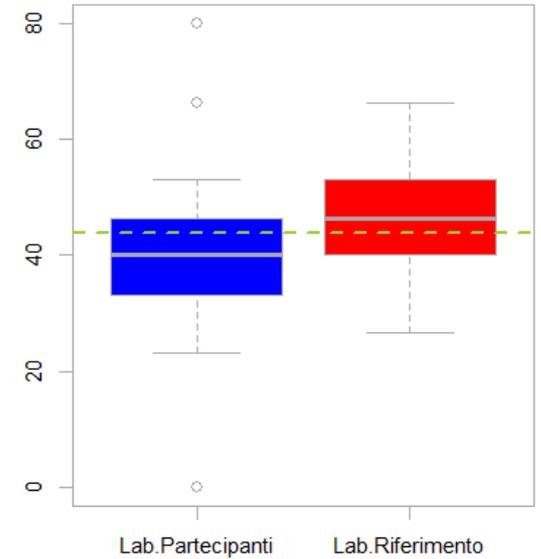
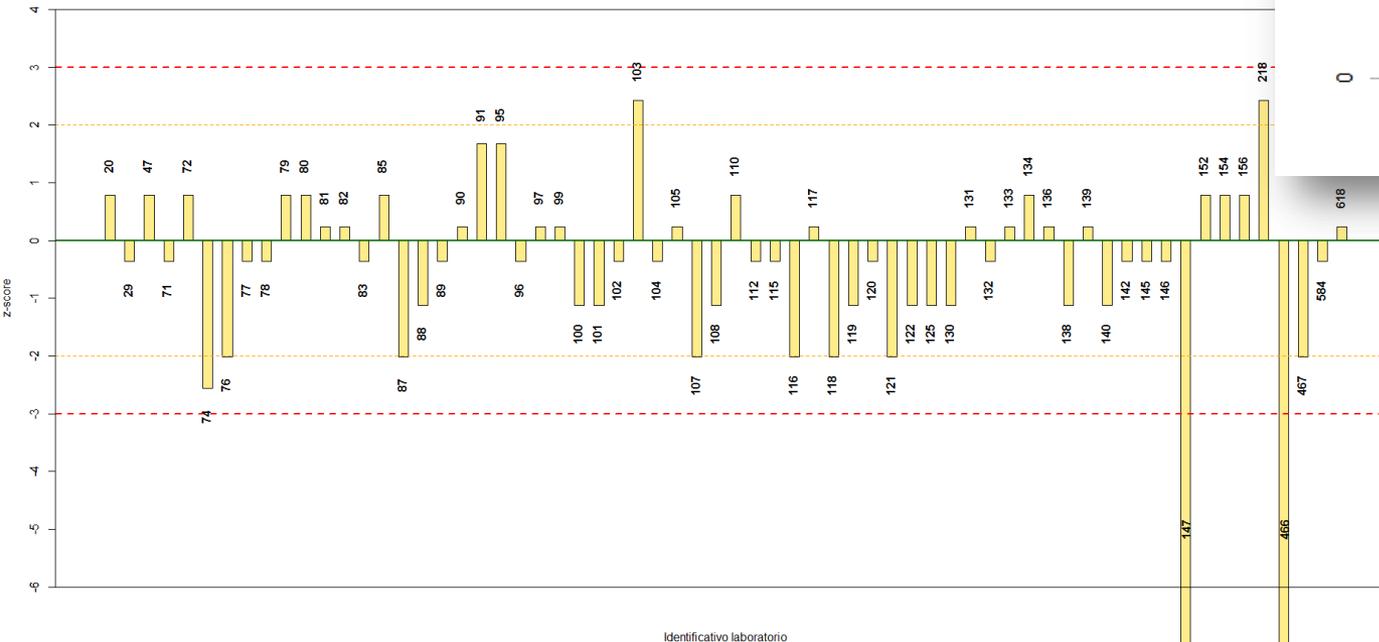
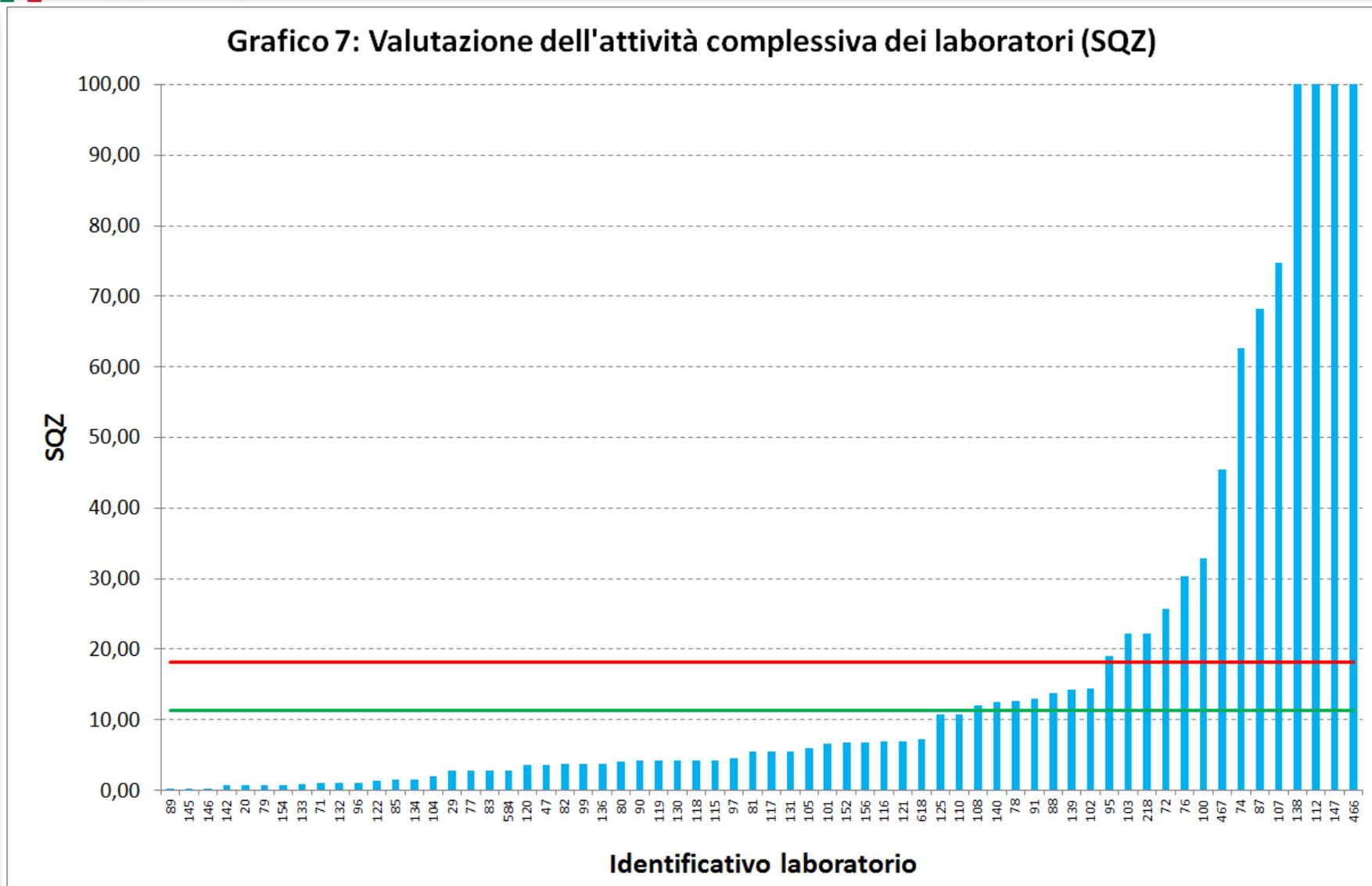


Gráfico 6 : Andamento dei valori di z-score (FdC) - campione 65



■ ■ Brucellosi

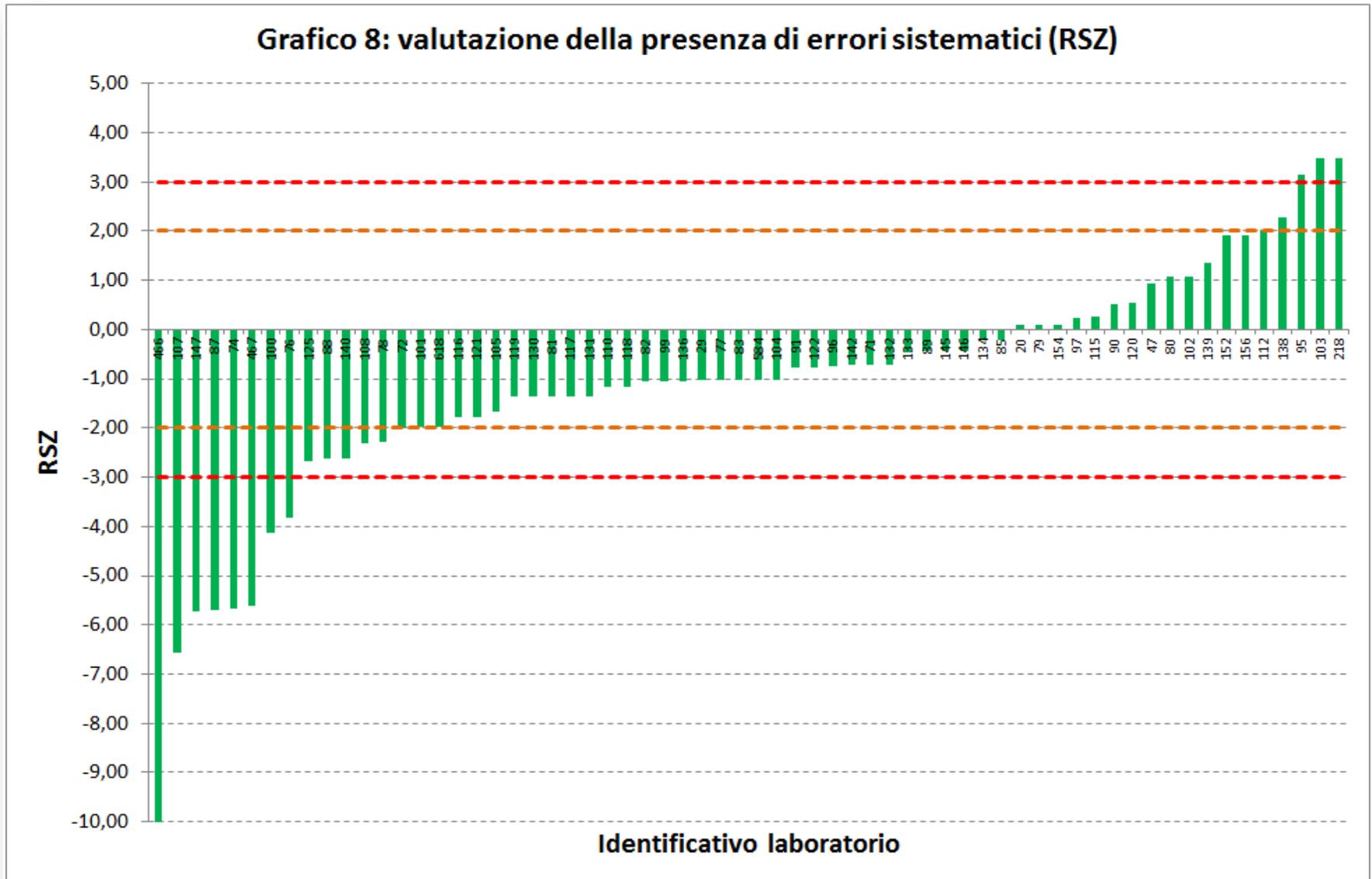
**Grafico 7: Valutazione dell'attività complessiva dei laboratori (SQZ)**



# Analisi statistica quantitativa –RSZ

■ Brucellosi

**Grafico 8: valutazione della presenza di errori sistematici (RSZ)**



# Risoluzione non conformità



La risoluzione delle non conformità viene effettuata in base alle possibili cause che hanno determinato le non conformità stesse e viene di volta in volta concordata con il laboratorio partecipante:

- *Ripetizione pannello*
- *Addestramento personale*
- *Verifica reagenti*
- .....





ISTITUTO G. CAPORALE TERAMO

Vers. 1.0 Build 6

## Brucellosi - Microbiologia

Per poter accedere al servizio,  
selezionare l'organizzazione ed inserire la password

**Organizzazione/Laboratorio:**  
ENTE ORGANIZZATORE - TERAMO

**Password:**

Accedi



Protocollo  
per l'esecuzione di prove  
valutative tra laboratori



Report finale  
distribuzione BR5/2011

[Ho dimenticato la password](#)

[Iscrizione nuovo utente](#)



- 
- Ad ogni laboratorio è assegnato un codice numerico univoco di identificazione
  - Il pannello di campioni viene opportunamente preparato
  - Ogni campione è univocamente codificato
  - Ad ogni laboratorio vengono inviati 15 campioni
  - Le prove sono di tipo qualitativo (presenza/assenza)



# Omogeneità e stabilità dei campioni



**Omogeneità:** ad ogni intervallo di tempo viene valutato l'adattamento dei dati empirici alla distribuzione binomiale negativa, attraverso test di Kolmogorov-Smirnov, per calcolare la probabilità di ottenere un n° di Brucelle pari a zero. Se  $p < 0,01$  omogeneità verificata.

- **Stabilità:** Analisi di regressione. Valutazione dell'intervallo di confidenza del coefficiente angolare della retta di regressione.



# Analisi statistica qualitativa



Ciascun campione esaminato viene indicato dal laboratorio organizzatore come errato o corretto.

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

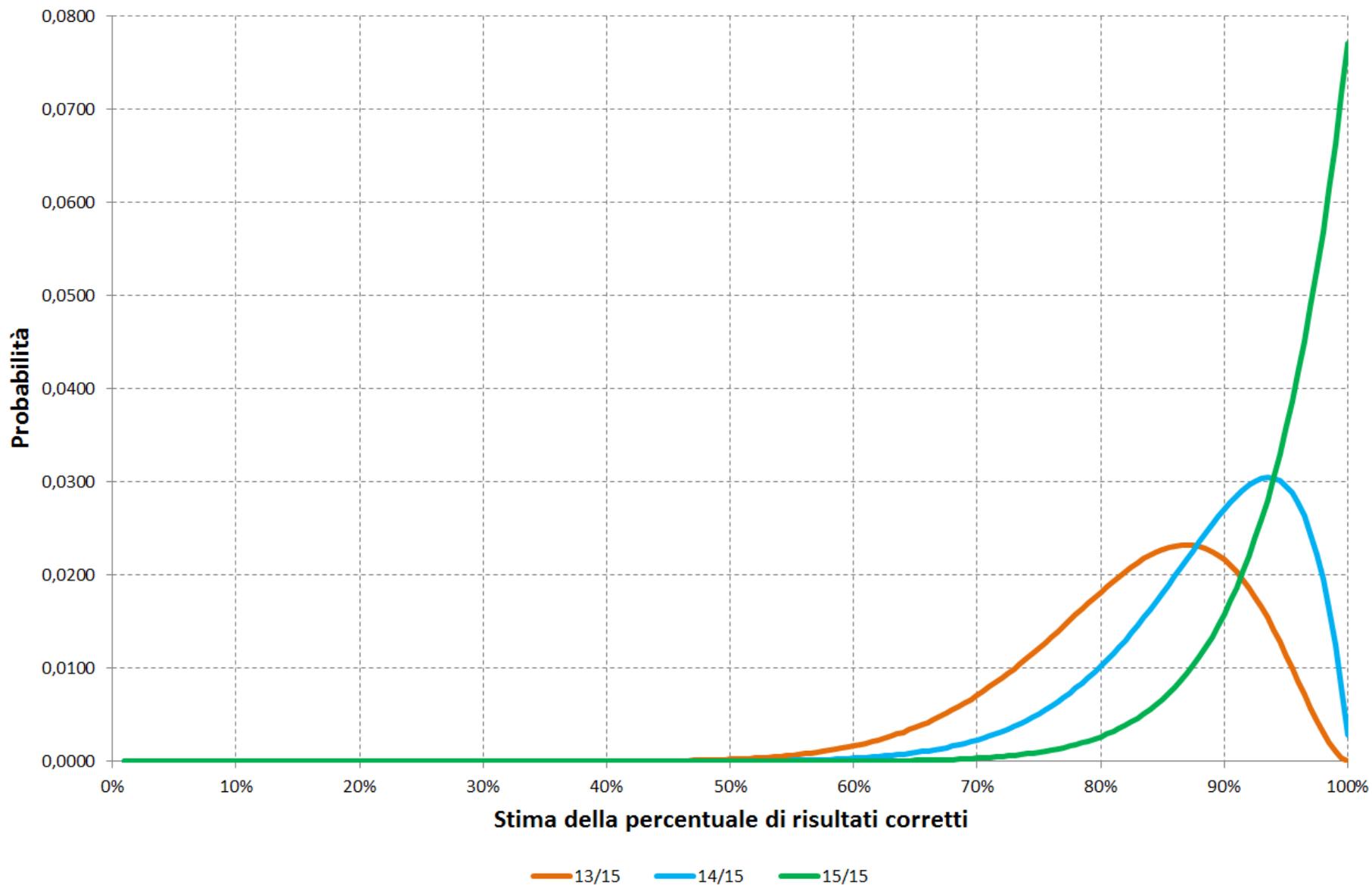
dove:

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

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

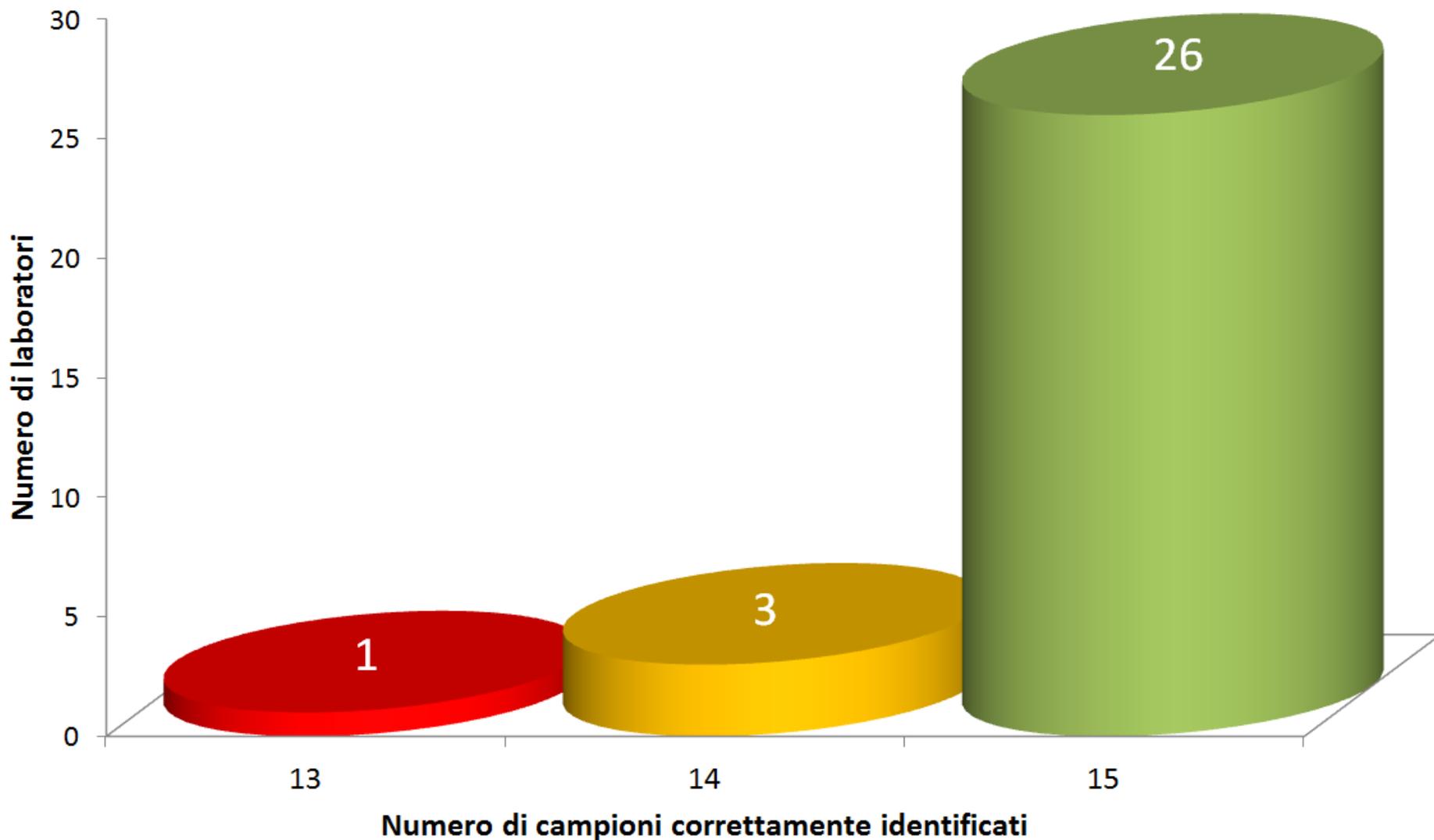


# Analisi statistica dati qualitativi



# Analisi statistica dati qualitativi

 Brucellosi  
Centro di Referenza Nazionale



# Analisi statistica dati qualitativi



Dalla seconda distribuzione in poi è effettuata anche una valutazione globale del laboratorio che permette di stimare la percentuale (e la sua incertezza) di tutti i risultati corretti forniti da un laboratorio, dalla prima distribuzione a quella in corso.



# Risoluzione non conformità



La risoluzione delle non conformità viene effettuata in base alle possibili cause che hanno determinato le non conformità stesse e viene di volta in volta concordata con il laboratorio partecipante:

- *Ripetizione pannello*
- *Revisione metodica*
- *Addestramento personale*
- .....

