



# VALIDAZIONE PRELIMINARE DI UNA ELISA COMPETITIVA IN FASE SOLIDA PER LA RICERCA DI ANTICORPI CONTRO IL WEST NILE DISEASE VIRUS (WNV) IN SIERI EQUINI

R. Nardini<sup>1</sup>, P. Cordioli<sup>2</sup>, M. T. Scicluna<sup>1</sup>, D. Lelli<sup>2</sup>, A. Caprioli<sup>1</sup>, F. De Simone<sup>2</sup>, R. Frontoso<sup>1</sup>, F. Rosone<sup>1</sup>, G. L. Autorino<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Equini, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana, 00178 Roma Italia. <sup>2</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale Emilia Romagna e Lombardia, Via A. Bianchi 9, 25124 Brescia Italia



## Introduzione

Dal 2001 è attivo un piano di sorveglianza nazionale per WNV che, nelle aree considerate a rischio di introduzione, prevede anche la sorveglianza sierologica su equini ed altre specie sensibili. Come test di screening per i sieri equini, si utilizzano delle ELISA commerciali, disponibili per la ricerca degli immunoglobuline di classe G ed M, quest'ultime indice di infezione recente. I campioni positivi sono confermati con il test di riduzione delle placche.

È stata sviluppata una ELISA competitiva in fase solida di cui si presentano i dati di validazione preliminare condotta attraverso un circuito interlaboratorio.

## Materiali e Metodi

- **9 i laboratori** degli IZS che hanno partecipato al circuito
- **20 i sieri** del pannello distribuito
- **3 le prove:** differenti, per operatore o giorno di esecuzione.
- categorizzazione dei risultati: negativo, debole positivo, medio positivo e forte positivo, secondo la percentuale di inibizione
- Validazione: secondo linee guida del **Manuale WOAH**

Parametri stimati\*

### Accuratezza qualitativa:

- **Sensibilità e Specificità Diagnostica (Dse e DSp);**
- **K di Cohen e K pesato di Cohen per ogni laboratorio;**
- **K multiplo di Cohen per tutti i laboratori.**

### Ripetibilità e Riproducibilità:

- **CV delle PI dei soli sieri positivi;**
- **Accordanza**
- **Concordanza**
- **Concordance Odds Ratio**

\*(1,2,3,4)

Grafico 1: valori di K per ogni laboratorio: non pesato con 2 e 4 categorie e pesato con 2 categorie.

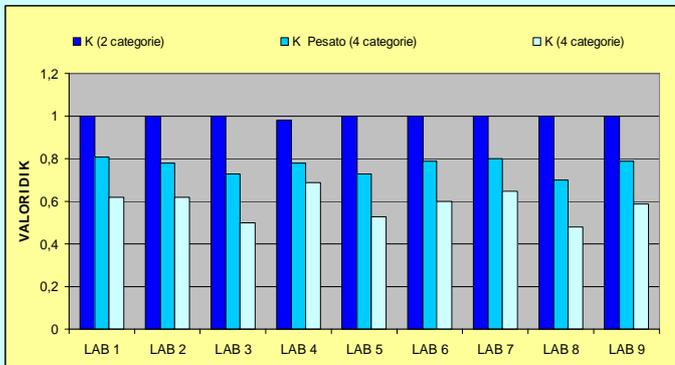


Tabella 1: Valori di accordanza, concordanza e COR per ogni siero e per tutti i laboratori insieme

Siero	Accordanza	Concordanza	COR	Siero	Accordanza	Concordanza	COR
1	86,7	81,7	1,5	11	62,1	45,1	2,0
2	95,3	95,2	1,0	12	75,4	74,9	1,0
3	92,4	90,5	1,3	13	64,0	41,3	2,5
4	100	100	1	14	66,9	52,8	1,8
5	76,3	56,9	2,4	15	100	100	1
6	95,3	95,2	1,0	16	100	100	1
7	65,9	49,7	1,9	17	100	100	1
8	86,7	81,7	1,5	18	100	100	1
9	100	100	1	19	100	100	1
10	100	100	1	20	100	100	1

## Risultati e Conclusioni

- **Dse Dsp pari al 100%. Il K multiplo è risultato pari a 0,76.**
- **K per tutti i laboratori, confrontati tra loro, è risultato pari a 0,72.**
- I valori di K indicano un **grado di concordanza quasi perfetto (5).**
- Grafico 1 sono mostrati i valori di K a 2 e di K pesato a 4 categorie.
- **Ripetibilità e riproducibilità risultano essere soddisfacenti:**
  - CV delle percentuali d'inibizione sono risultati inferiori al 20%.
  - Accordanza, concordanza e COR sono mostrati in Tabella 1
  - COR è risultato prossimo ad 1 per tutti i sieri, eccetto per due di essi, per i quali comunque non ha superato 2,53
- Per soddisfare completamente i criteri del WOAH è necessario completare la **seconda fase di validazione** attraverso il controllo di altri parametri, primo dei quali le **performances diagnostiche del test su sieri di campo** disponibili dalla sorveglianza degli ultimi anni.

**Bibliografia**  
 1. S.D. Langton et al "Analysing collaborative trials for qualitative microbiological methods: accordance and concordance", International Journal of Food Microbiology 79 (2002) 175-181  
 2. http://www.dsa.unipr.it/soliani/soliani.html  
 3. J. Richard Landis e Gary G. Koch del 1977 "The measurement of observer agreement for categorical data" Biometrics, Vol. 33, pp.159-174.  
 4. P. Quatto (2004). "Un test di concordanza tra più esaminatori". In: Statistica, vol. 64, n. 1, pp. 145-151  
 5. J. Richard Landis e Gary G. Koch del 1977 "The measurement of observer agreement for categorical data" Biometrics, Vol. 33, pp.159-174.

Attività realizzata nell'ambito del progetto di ricerca finalizzata IZSLT ex art. 12/D.L.vo 502/92

