

DT-07-DL/DS rev. 0: Prove con risultati qualitativi



*RIUNIONE DI AGGIORNAMENTO
PER ISPETTORI QUALIFICATI E LABORATORI ACCREDIA*

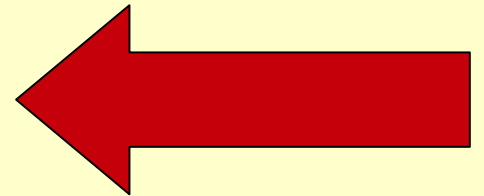
14-15 ottobre 2013 c/o sala Auditorium Palazzo della GRAN GUARDIA, piazza Bra – Verona
24-25 ottobre 2013 c/o Istituto Superiore Antincendi, Aula Magna, Via del Commercio, 13 Roma

ore 15:00-16:00

*Marco Pradella
(Asolo TV)*

Prove con risultati qualitativi

- **Incertezza e ripetibilità nelle norme**
- **Casi d'uso: i problemi**
- **Strumenti ACCREDIA**
- **Risultati qualitativi**
- **Casi d'uso: le soluzioni**



**INTERNATIONAL
STANDARD**

**ISO
15189**

Third edition
2012-11-01

2007

2012

**Medical laboratories — Requirements for
quality and competence**

*Laboratoires de biologie médicale — Exigences concernant la qualité et
la compétence*

Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura

**UNI CEI EN
ISO/IEC 17025**

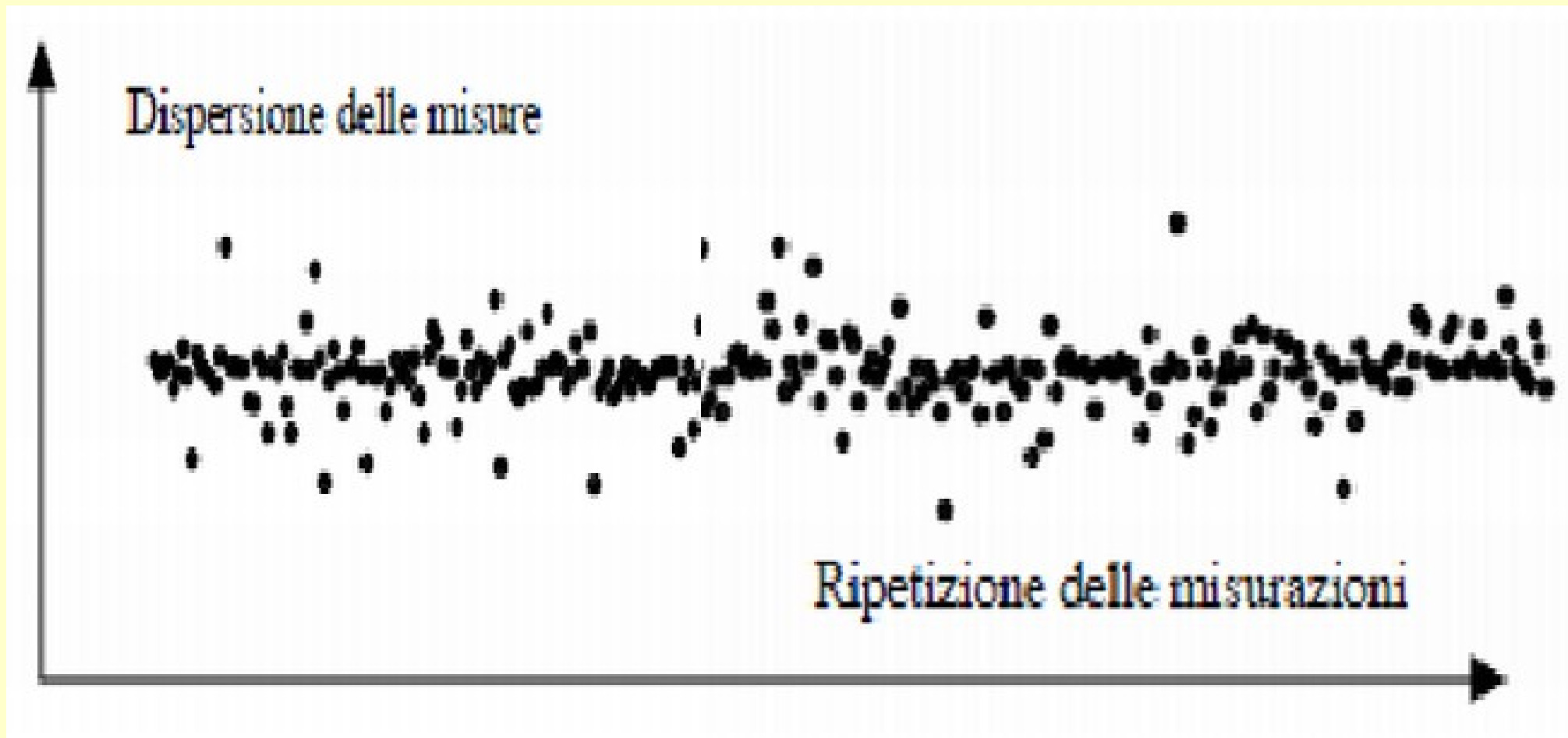
SETTEMBRE 2005

General requirements for the competence of testing and calibration laboratories

Versione bilingue
del marzo 2006

La norma specifica i requisiti generali per la competenza dei laboratori ad effettuare prove e/o tarature, incluso il campionamento. Essa copre le prove e tarature eseguite utilizzando metodi normalizzati, metodi non-normalizzati e metodi sviluppati dai laboratori.

**incertezza di misura in
17025 (5.4.6) e in
15189 (5.6.2) (5.5.1.4)**

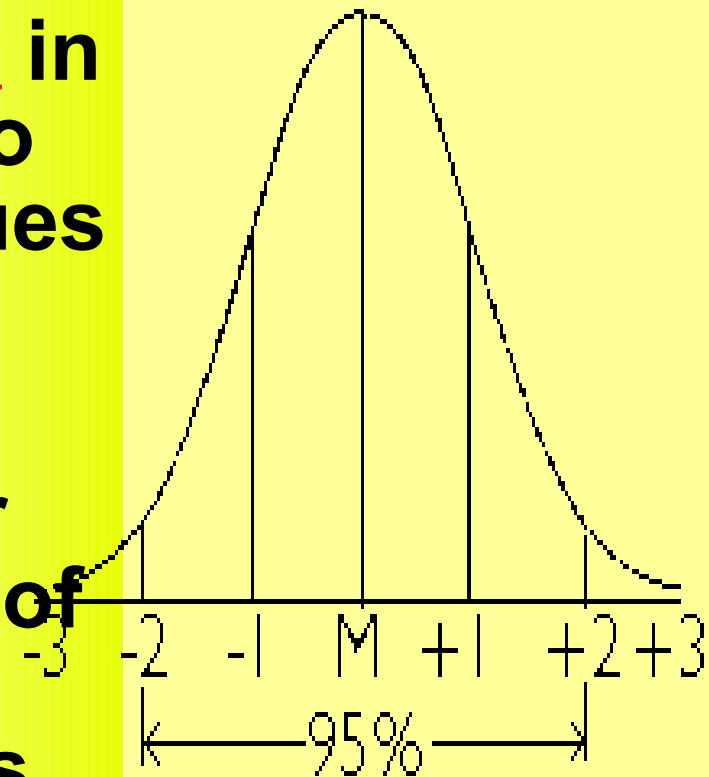


ISO 15189:2012

5.5.1.4 Measurement uncertainty of measured quantity values

The laboratory shall determine measurement uncertainty for each measurement procedure in the examination phase used to report measured quantity values on patients' samples.

The laboratory shall define the performance requirements for the measurement uncertainty of each measurement procedure and regularly review estimates of measurement uncertainty.



ISO 15189:2007

5.6 Assuring quality of examination procedures

5.6.2 The laboratory shall determine the uncertainty of results, where relevant and possible. Uncertainty components which are of importance shall be taken into account.

...

ISO 17025:2005

5.4.6 Stima dell'incertezza di misura

5.4.6.2 I laboratori di prova devono avere e devono applicare delle procedure per stimare l'incertezza di misura.

ISO 17025:2005

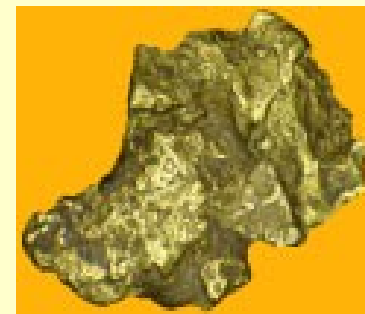
5.4.6 Stima dell'incertezza di misura

In certi casi la natura dei metodi di prova può escludere il calcolo rigoroso dell'incertezza di misura, valido dal punto di vista metrologico e statistico.

In questi casi il laboratorio deve almeno tentare di identificare tutte le componenti dell'incertezza e fornire una stima ragionevole, e deve assicurare che l'espressione del risultato non fornisca un'impressione errata dell'incertezza.

Una stima ragionevole deve essere basata sulla conoscenza del metodo e sul [campo] della misurazione e deve far uso, per esempio, delle esperienze precedenti e della validazione dei dati.

IUPAC Compendium of Chemical Terminology - the Gold Book



quantity

Attribute of a phenomenon, body or substance that may be distinguished qualitatively and determined quantitatively.

quantitative analysis

Analyses in which the amount or concentration of an analyte may be determined (estimated) and expressed as a numerical value in appropriate units.

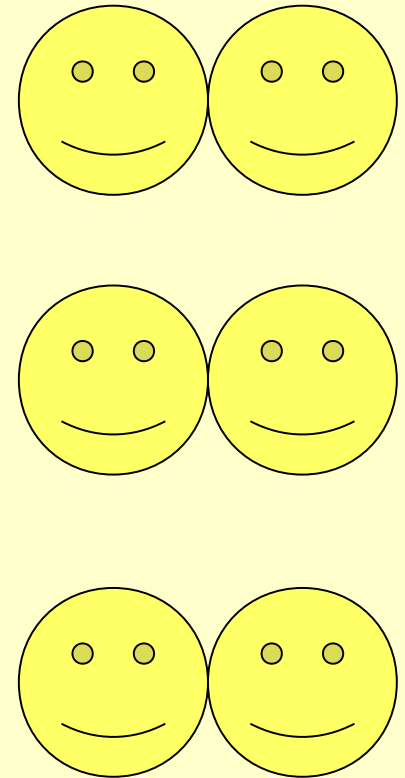
qualitative analysis

Analysis in which substances are identified or classified on the basis of their chemical or physical properties,

MD-09-DL - 7.3 Metodi di prova **RIPETIBILITA'**

**5.5.3 Ove il metodo
[*normalizzato*] non riporti
valutazioni di precisione, od in
caso di metodi interni, il
laboratorio ha verificato la
ripetibilità che è in grado di
garantire?**

**Il laboratorio ha pianificato e
gestisce procedure di verifica
della ripetibilità nel tempo?**



MD-09-DL - 7.3 Metodi di prova PROVA IN DOPPIO

5.5.3 La differenza dei valori risultanti dall'esecuzione di una prova "in doppio" rientra nel limite di ripetibilità riportato dal metodo, o calcolato dal laboratorio? Riportare i valori ed il giudizio.

(nota: r è il limite di ripetibilità)

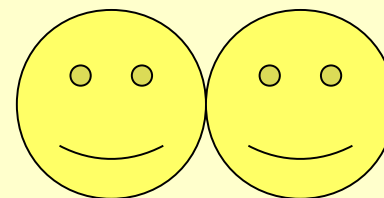
Valore 1 =

Valore 2 =

Differenza =

r =

Giudizio:

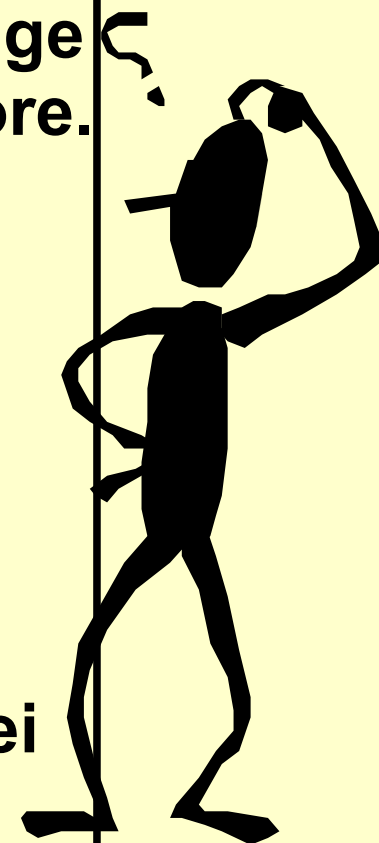


MD-09-DL - 7.3 Metodi di prova INCERTEZZA

5.6.2 E' stata calcolata/stimata l'incertezza da associare al risultato? Verificare che lo sia a livelli significativi per il cliente (es. limite di legge o di specifica ove applicabile). Riportare il valore. Si rammenta che $2U > r$. Verificare

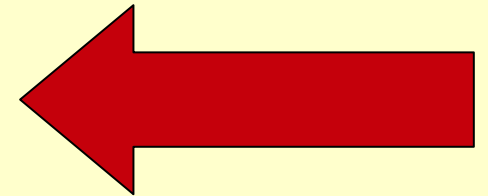
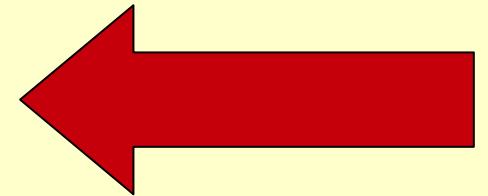
U =

5.6.2 Vengono individuati i principali contributi all'incertezza? Sono considerate le principali grandezze di influenza? In alternativa, viene utilizzata la riproducibilità dei metodi normati, dopo aver verificato che il laboratorio rientri nei criteri di ripetibilità?



Prove con risultati qualitativi

- **Incertezza e ripetibilità nelle norme**
- **Casi d'uso: i problemi**
- **Strumenti ACCREDIA**
- **Risultati qualitativi**
- **Casi d'uso: le soluzioni**



Caso A. popolazioni miste di eritrociti.

Ciascun istogramma viene classificato come **incerto, popolazione singola o popolazione doppia.** ...



In caso di dubbio, l'istogramma è interpretato come popolazione singola.

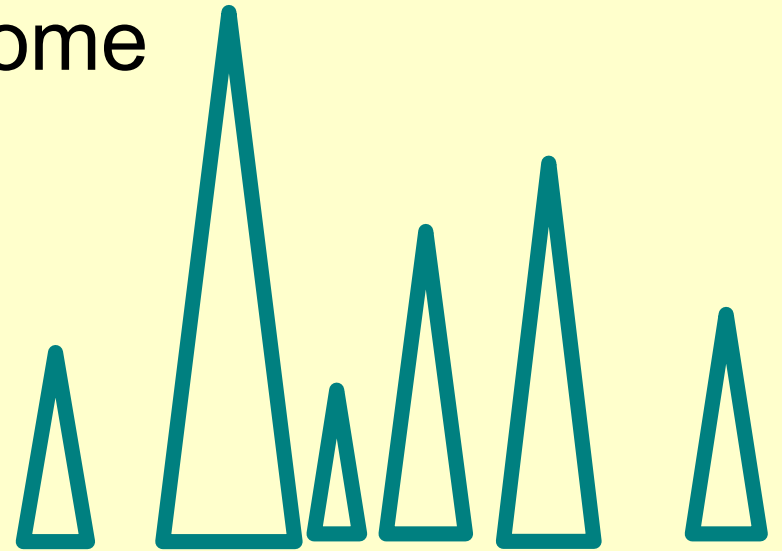
L'interpretazione finale può essere:

campione negativo, sospetto o positivo.

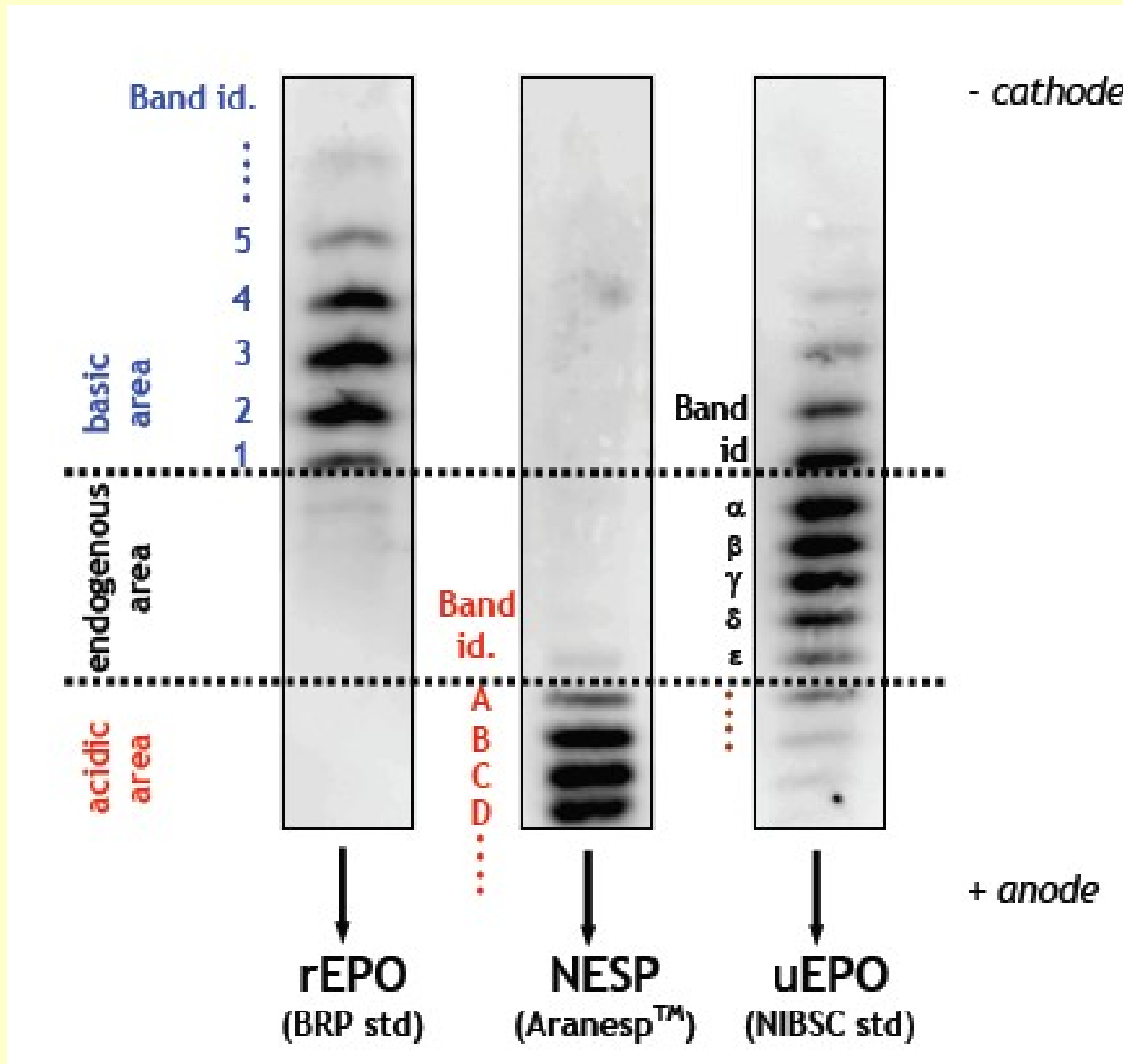
Il sospetto ha solo un istogramma con doppia popolazione. Il positivo ha almeno due istogrammi con doppia popolazione.

Caso B. analisi chirale delle amfetamine

- spettrometria di massa.
- ..., interpretati ai fini legali come **presente/assente**.



Caso C. Identificazione di eritropoietina e darpoetina alfa



Caso C. Identificazione di eritropoietina e darpoetina alfa

Isoelectric Focusing (IEF)...

...

rEP

nell'area basica ci sono 3 bande consecutive accettabili

le due bande più intense alla densitometria sono tra queste e sono consecutive

ciascuna delle due bande più intense deve essere in densitometria almeno due volte più intensa di qualsiasi banda nell'area “endogena”

NESP

nell'area acida ci sono 3 bande consecutive accettabili (B, C e D)

le banda più intense alla densitometria è la seconda o la terza (C e D)

la banda più intensa nell'area acida deve essere in densitometria almeno due volte più intensa di qualsiasi banda nell'area “endogena”

Caso D. metodo rapido multiplo per droghe

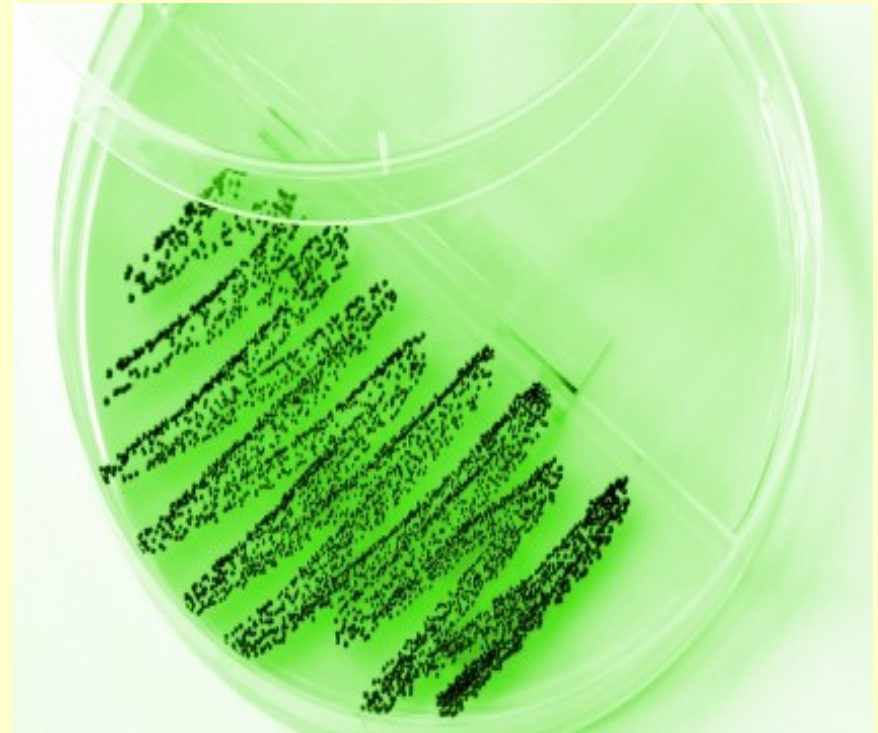
rileva tramite campione di urine la presenza delle seguenti droghe:

**Cocaina e metaboliti, Anfetamine
Meth-Anfetamine (Ecstasy
MDMA), Marijuana (Cannabinoidi
THC), Oppiacei (Morfina, Eroina e
metaboliti), Penciclidine
Benzodiazepine, Barbiturici,
Metadone, Antidepressivi
Triciclici**

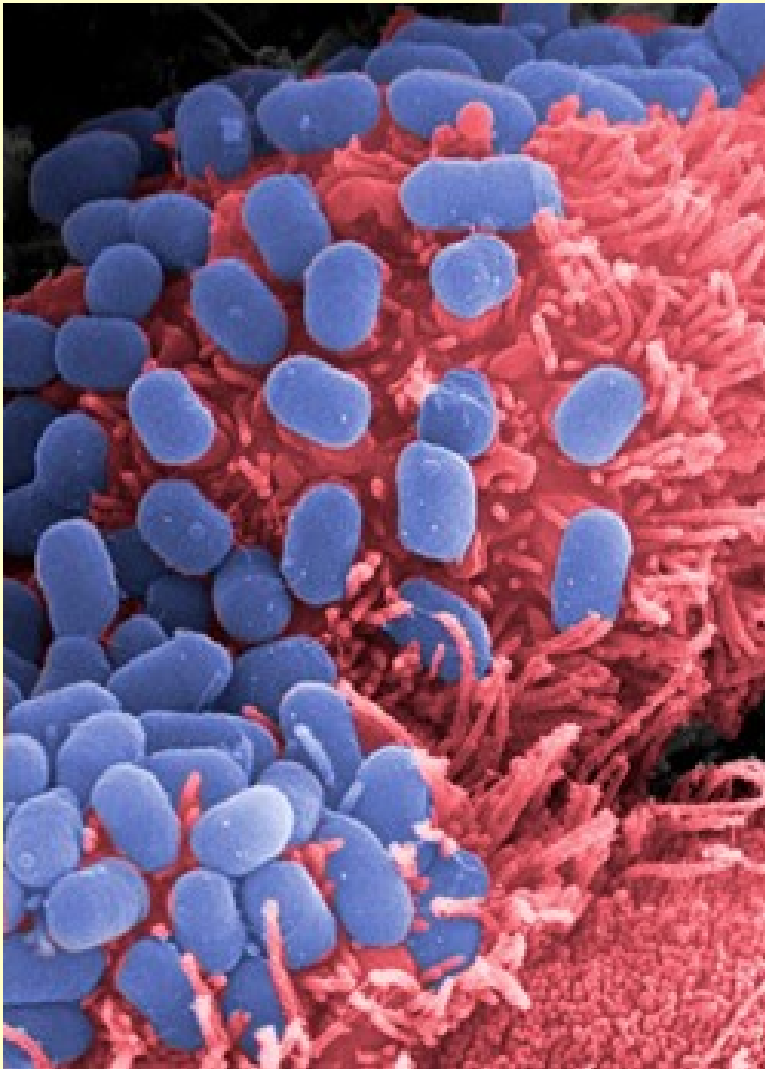


Caso E. Oxacillin Resistance Screening Agar per MRSA

**5.5% NaCl 2 mg/L oxacillin 50
000 U/L polymyxin B
mannitol/aniline blue**



Metagenomics for Shiga Toxin



**A Culture-Independent
Sequence-Based
Metagenomics
Approach to the
Investigation of an
Outbreak of Shiga-
Toxigenic Escherichia
coli O104:H4**

**JAMA. 2013;309(14):1502-
1510.**

Small cap TrovaGene Inc new diagnostic test for the Human Papillomavirus (HPV) *busy launch pipeline for the year*

Trovagene Assays	Research	Analytical Validation	Clinical Validation	Anticipated Launch
HPV-HR				1Q 2013
KRAS				2Q 2013
BRAF				3Q 2013
PIK3CA				4Q 2013
HBV				4Q 2013
p53				4Q 2013

Caso F: Candida tampone vaginale...

One step procedure
Results within 10 minutes

Sampling

Mix in buffer

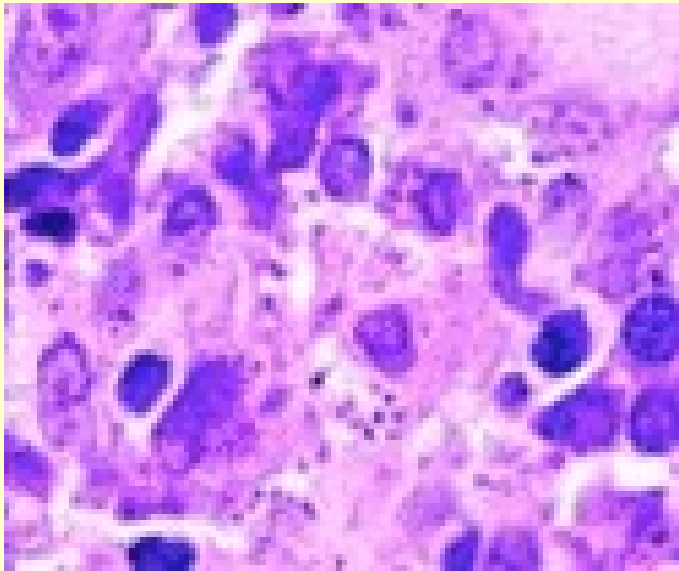
Visual detection

TC
Positive

TC
Negative

T=Test
C=Control

Leishmania infantum



Interpretazione del test ELISA

Risultato test ELISA	Livello anticorpale
Negativo	< 10 %
Dubbio	10 - 13
Positivo	>13 %

Positività al test ELISA	Livello anticorpale
Positivo basso	< 80
Positivo medio	80-150%
Positivo alto	150-300%

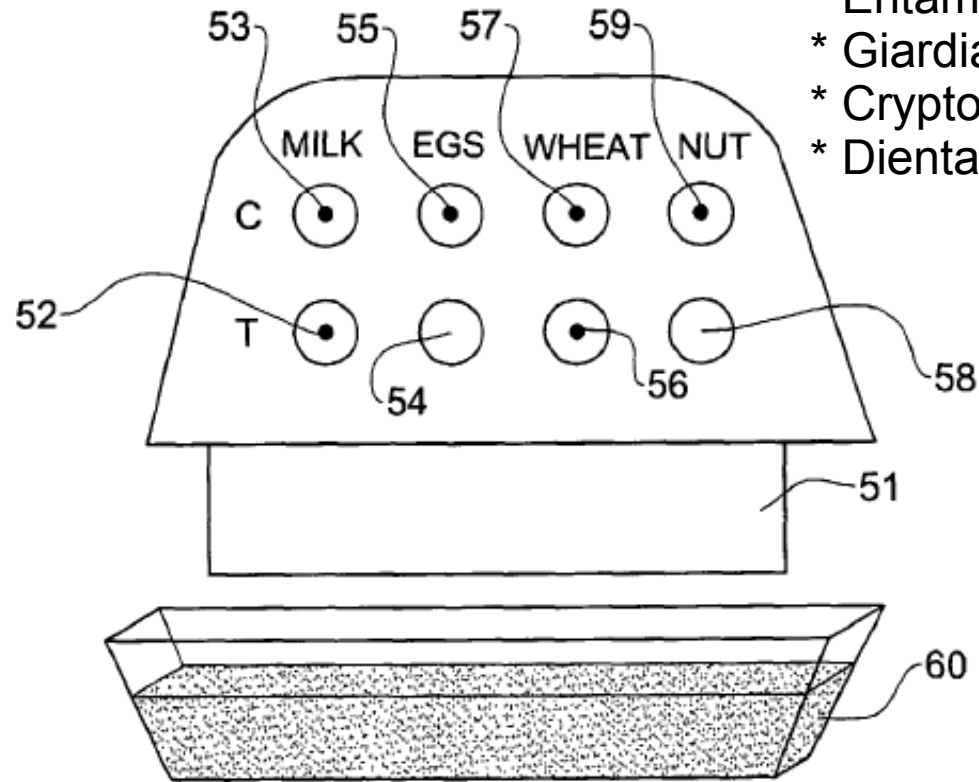


Caso G: parassiti intestinali



WO 02/075313 A1

(54) Title: A KIT AND METHOD FOR DETECTING FECAL PARASITES



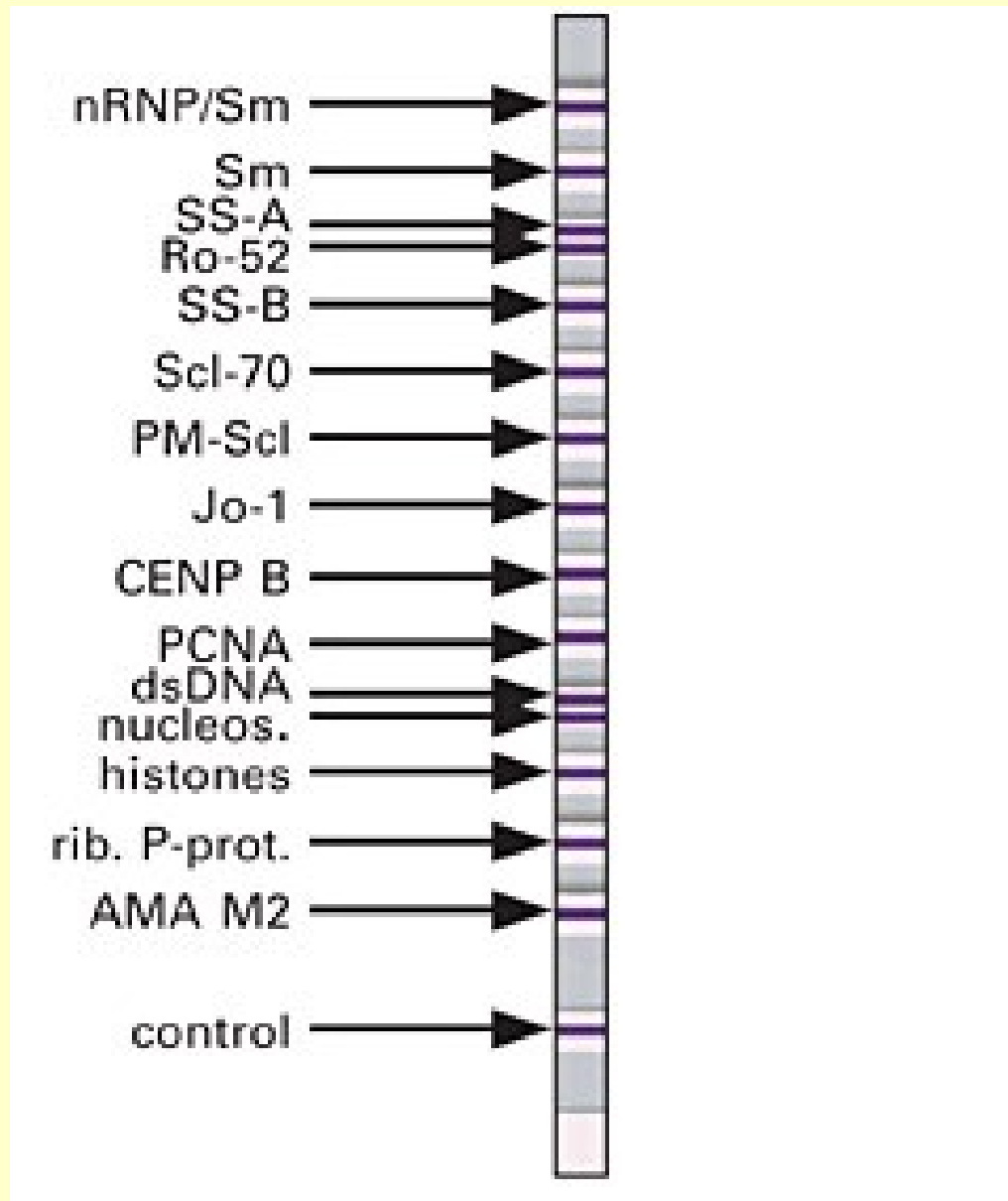
- * *Blastocystis hominis*
- * *Entamoeba histolytica/dispar*
- * *Giardia lamblia*
- * *Cryptosporidium* spp.
- * *Dientamoeba fragilis*

(57) Abstract: The invention concerns a home kit and a method for detection of the presence of a fecal parasite in a stool sample.

<http://www.freepatentsonline.com/EP1368657.pdf>

SAVYON DIAGNOSTICS LTD.

Caso I: ENA blot



Beak and Feather Disease Virus

Attestato di positività al DNA di BFDV (circovirus)



Premesso che il proprietario **Mario Rossi**
dichiara di aver prelevato il campione
dal soggetto **00AZ 132/12**
appartenere alla specie **Ara ararauna**
mutazione **non pervenuta**

Il laboratorio di analisi attesta che tale campione,
sottoposto all'analisi del DNA per la ricerca
dell'agente patogeno **BFDV (circovirus)**, è risultato:

Negativo

Esame eseguito il 21/12/2012, presso i laboratori di **FEM2 - Ambiente Srl**,
spin-off dell'Università degli Studi di Milano-Bicocca, Piazza della Scienza 2 - 20126 Milano



FEM2 AMBIENTE[®]
SOCIETÀ SPIN-OFF
DELL'UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI
MILANO-BICOCCA

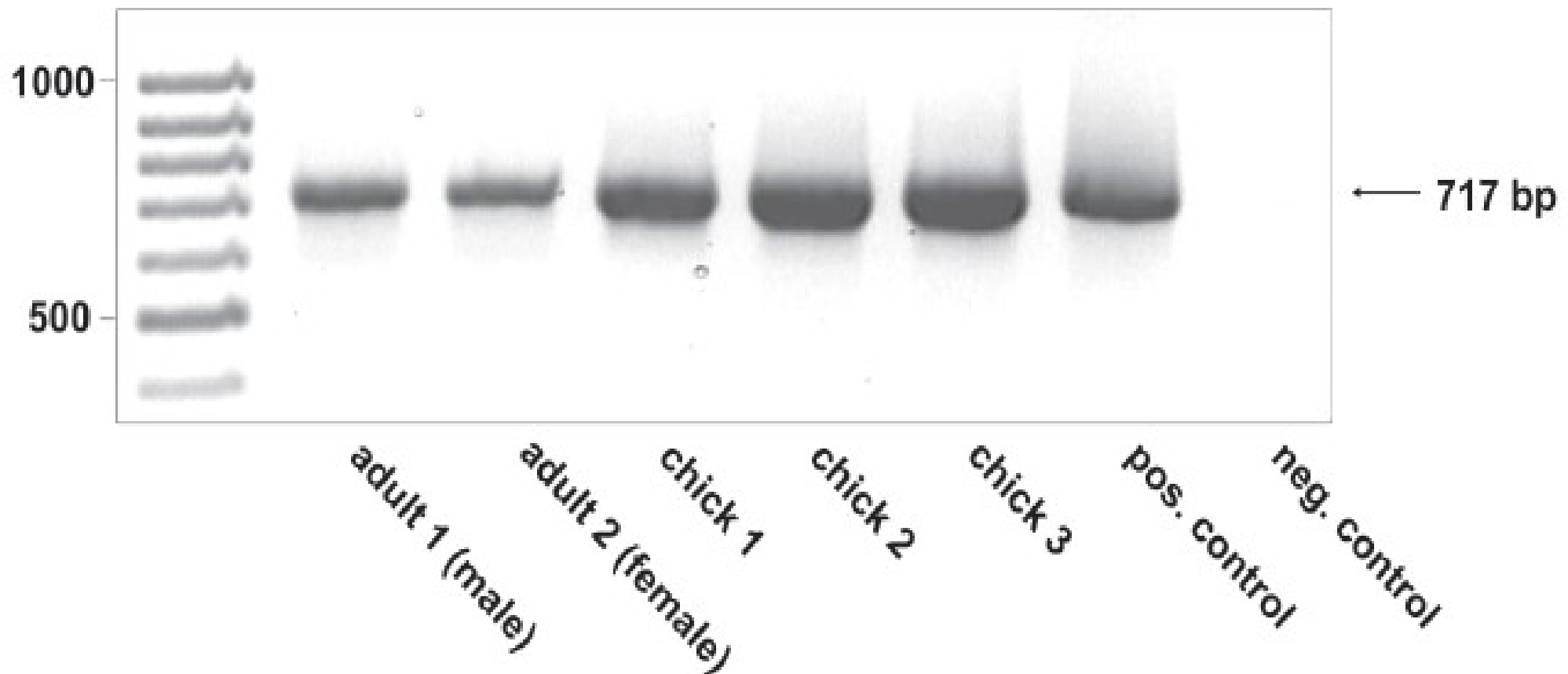
codice di sicurezza: F000C

Il responsabile di laboratorio
Dr. Emanuele Ferri

Beak and Feather Disease Virus

Detection of beak and feather disease virus DNA in embryonated eggs of psittacine birds.

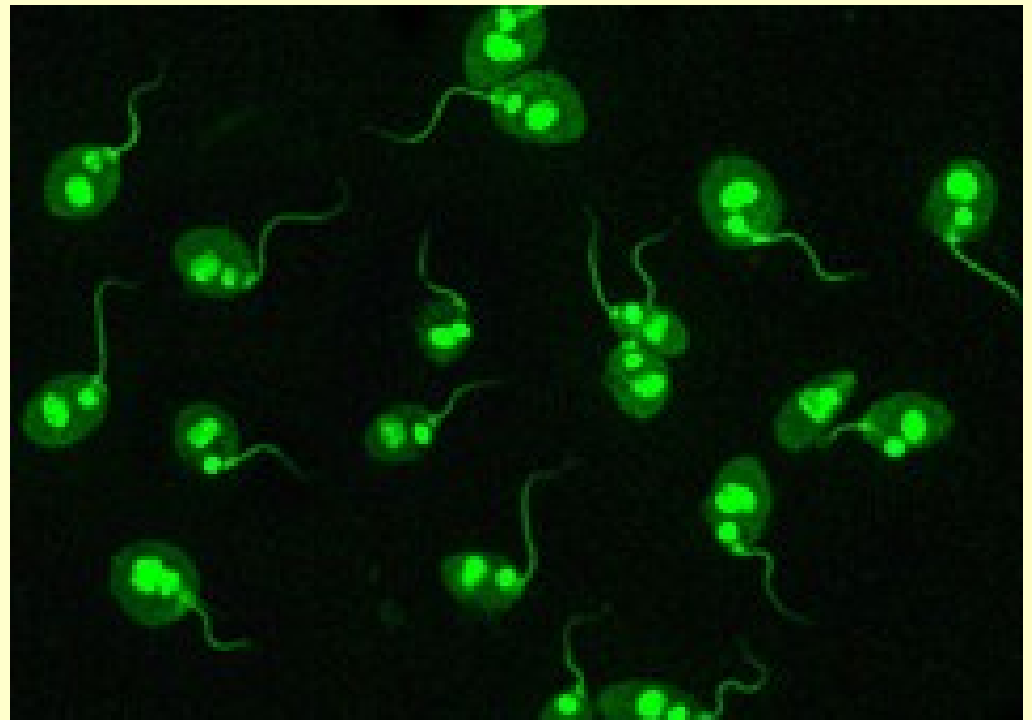
M. Rahaus, N. Desloges, S. Probst, B. Loebbert, W. Lantermann, M.H. Wolff. *Veterinarni Medicina*, 53, 2008 (1): 53–58



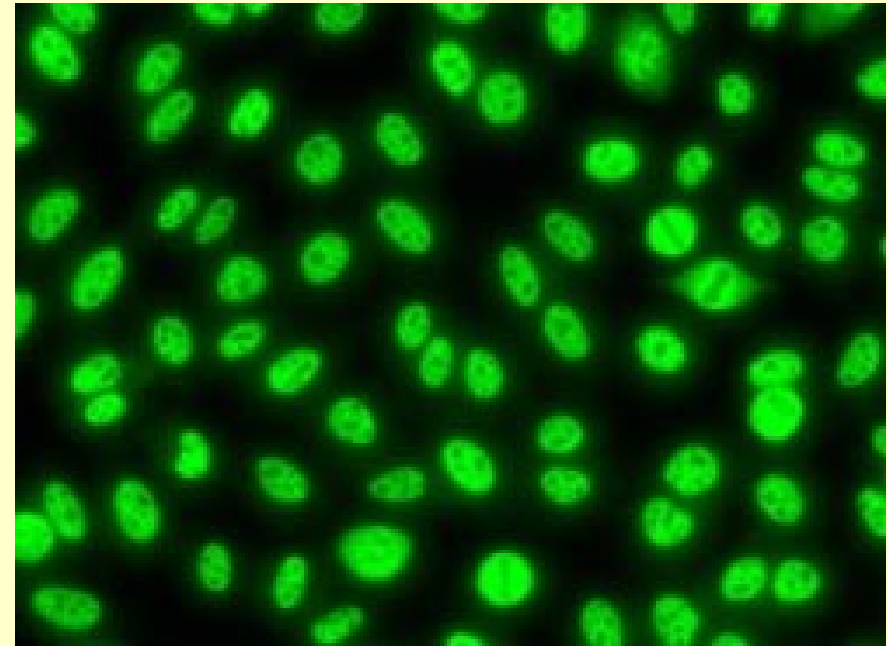
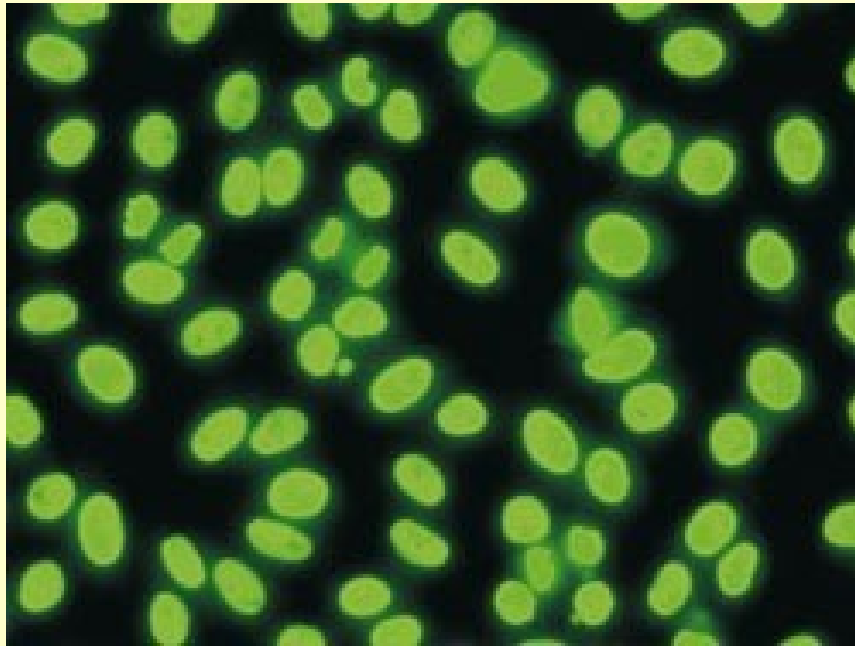
Caso J: ELISA

Caso K: IF anti-nDNA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	○	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
C	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
E	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
F	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
G	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○



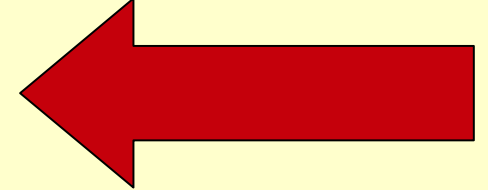
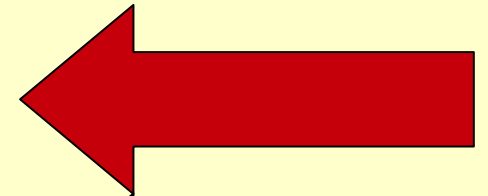
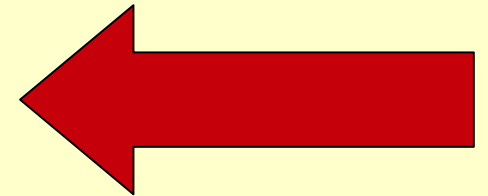
Caso L: ANA omogeneo o granulare con titolazione



1/40 – 1/80 – 1/160 – 1/320 – 1/640 – 1/1280 – 1/2560 – 1/5120 - 1/10240

Prove con risultati qualitativi

- **Incertezza e ripetibilità nelle norme**
- **Casi d'uso: i problemi**
- **Strumenti ACCREDIA**
- **Risultati qualitativi**
- **Casi d'uso: le soluzioni**



DT0002-6 ripetibilità



SISTEMA NAZIONALE PER L'ACCREDITAMENTO DI LABORATORI

DT-0002/6

**GUIDA AL CALCOLO DELLA RIPETIBILITÀ DI UN
METODO DI PROVA ED ALLA SUA VERIFICA NEL
TEMPO**

DT0002 incertezza



SISTEMA NAZIONALE PER L'ACCREDITAMENTO DI LABORATORI

DT-0002

**GUIDA PER LA VALUTAZIONE E LA ESPRESSIONE
DELL'INCERTEZZA NELLE MISURAZIONI**

DT-07 prove qualitative

Titolo/Title

Guida all'esecuzione di prove con risultati qualitativi

Guide to perform tests with qualitative results

Sigla/Reference

DT-07-DL/DS

Revisione/Revision

00

Data/Date

06/02/2013

Guida all'esecuzione di prove con risultati qualitativi

(Misura ciò che è misurabile e rendi misurabile ciò che non lo è - Galileo Galilei)

Indice

0. Premessa	3
1. Introduzione	5
2. Tabelle di contingenza	6
3. Il teorema di Bayes	8
3.1. MODALITÀ DI COMBINAZIONE DEGLI ESITI DI PROVE SUCCESSIVE	12
3.2. VALUTAZIONE DELLE PROBABILITÀ DI RISPOSTE FALSE	15
3.2.1 Valutazione a partire dalla distribuzione nota delle risposte	15
3.2.2 Valutazione a partire dalla esecuzione di una lunga serie di misurazioni	20
3.3. APPLICAZIONI DEL TEOREMA DI BAYES	21
3.4. CONCLUSIONI PER IL TEOREMA DI BAYES	22
4. Metodo degli intervalli statistici	25
5. Le curve di potenza	28
6. Conclusioni	30
Appendice A. Indicazioni pratiche - CLSI EP12 e MEQUALAN	31
A.1. VARIABILITÀ DEI RISULTATI QUALITATIVI. CLSI EP12 E MEQUALAN	31
A.1.1 CLSI-EP12 - Evaluation of Qualitative Test Performance	31
A.1.2 Progetto MEQUALAN	33
A.2 CASI D'USO	35
A.3. CONCLUSIONI	38
Appendice B. Definizioni da CLSI EP12-A2 (2007) e documento Accredia RT08_rev02 (11-09-2012)	39
Appendice C. Bibliografia di riferimento	44

DT-0007

Indice

0. Premessa	3
1. Introduzione	5
2. Tabelle di contingenza	6
3. Il teorema di Bayes	8
3.1. MODALITÀ DI COMBINAZIONE DEGLI ESITI DI PROVE SUCCESSIVE	12
3.2. VALUTAZIONE DELLE PROBABILITÀ DI RISPOSTE FALSE	15
3.2.1 Valutazione a partire dalla distribuzione nota delle risposte.....	15
3.2.2 Valutazione a partire dalla esecuzione di una lunga serie di misurazioni.....	20
3.3. APPLICAZIONI DEL TEOREMA DI BAYES	21
3.4. CONCLUSIONI PER IL TEOREMA DI BAYES	22
4. Metodo degli intervalli statistici	25
5. Le curve di potenza	28
6. Conclusioni	30
Appendice A. Indicazioni pratiche - CLSI EP12 e MEQUALAN	31
A.1. VARIABILITÀ DEI RISULTATI QUALITATIVI. CLSI EP12 E MEQUALAN	31
A.1.1 CLSI-EP12 - Evaluation of Qualitative Test Performance.....	31
A.1.2 Progetto MEQUALAN	33
A.2 CASI D'USO	35
A.3. CONCLUSIONI.....	38
Appendice B. Definizioni da CLSI EP12-A2 (2007) e documento Accredia RT08_rev02 (11-09-2012)	39
Appendice C. Bibliografia di riferimento	44

DT-0007

0. Premessa

1. Introduzione

2. Tabelle di contingenza

3. Il teorema di Bayes

3.1. MODALITÀ DI COMBINAZIONE DEGLI ESITI DI PROVE SUCCESSIVE

3.2. VALUTAZIONE DELLE PROBABILITÀ DI RISPOSTE FALSE

3.2.1 Valutazione a partire dalla distribuzione nota delle risposte

3.2.2 Valutazione a partire dalla esecuzione di una lunga serie di misurazioni

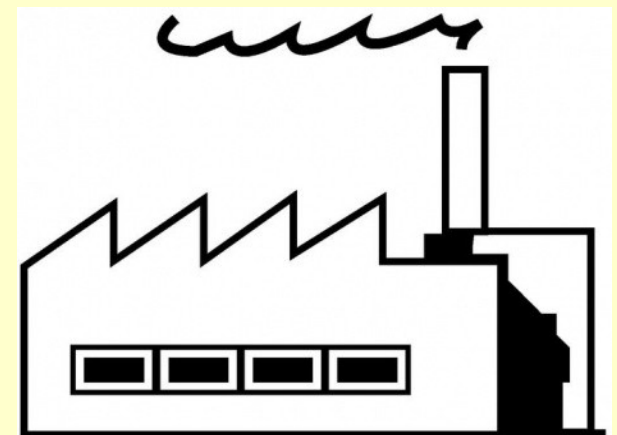
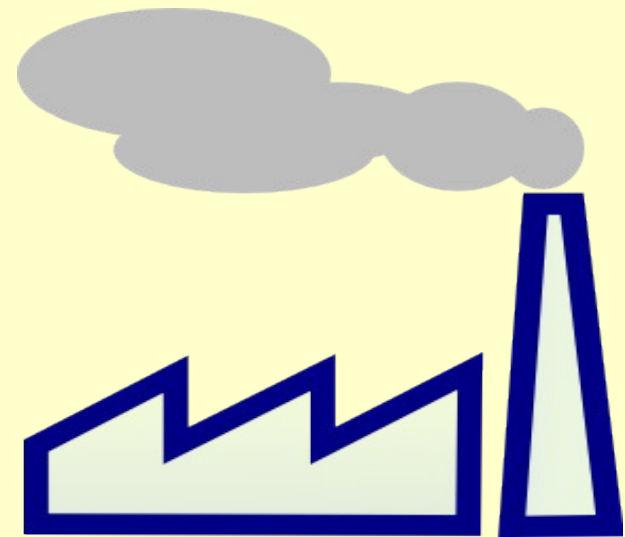
3.3. APPLICAZIONI DEL TEOREMA DI BAYES

3.4. CONCLUSIONI PER IL TEOREMA DI BAYES

4. Metodo degli intervalli statistici

5. Le curve di potenza 28

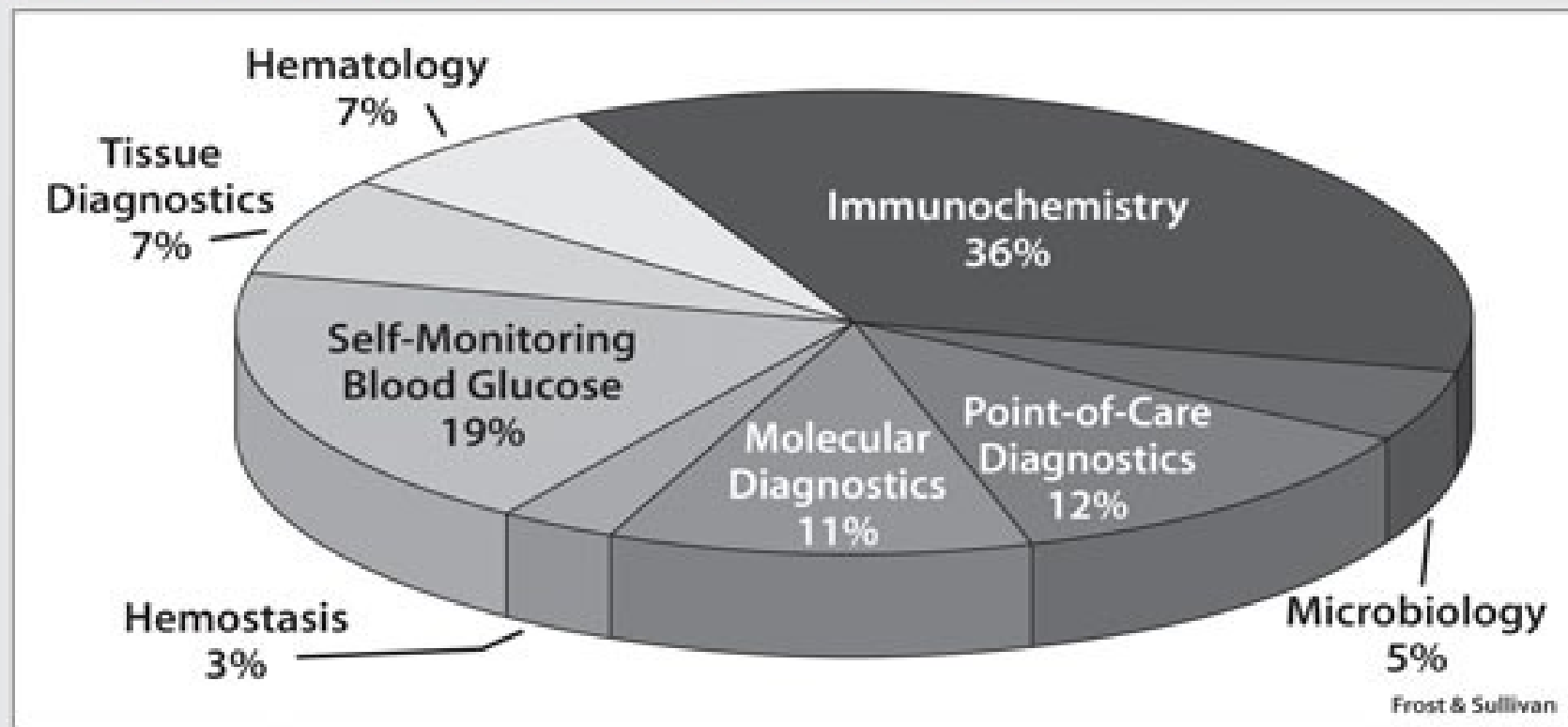
6. Conclusioni



Predicted Growth for In Vitro Diagnostics Markets



Global In Vitro Diagnostics Market (2012)



DT-0007

Appendice A. Indicazioni pratiche - CLSI EP12 e MEQUALAN

A.1. VARIABILITÀ DEI RISULTATI QUALITATIVI. CLSI EP12 E MEQUALAN

A.1.1 CLSI-EP12 - Evaluation of Qualitative Test Performance

A.1.2 Progetto MEQUALAN

A.2 CASI D'USO

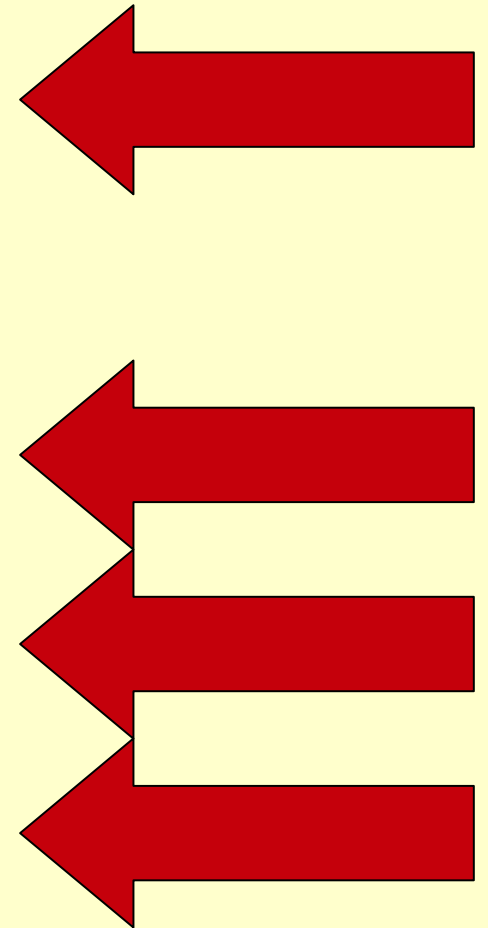
A.3. CONCLUSIONI

Appendice B. Definizioni da CLSI EP12-A2 (2007) e documento Accredia RT08_rev02 (11-09-2012)

Appendice C. Bibliografia di riferimento

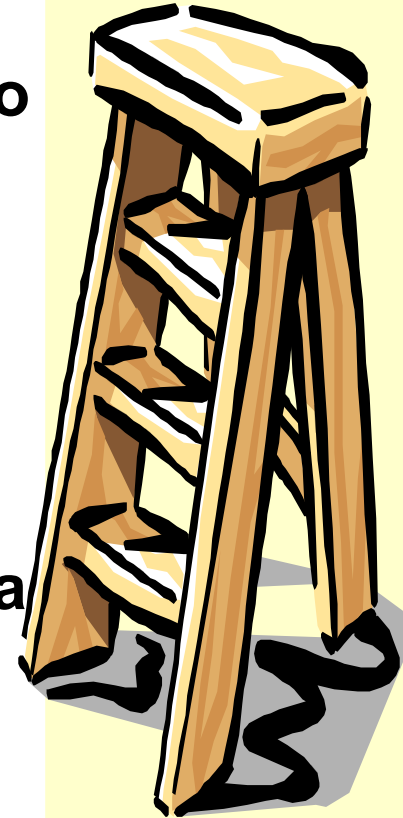
Prove con risultati qualitativi

- **Incertezza e ripetibilità nelle norme**
- **Casi d'uso: i problemi**
- **Strumenti ACCREDIA**
- **Risultati qualitativi**
- **Casi d'uso: le soluzioni**



S. S. Stevens. the Theory of Scales of Measurement

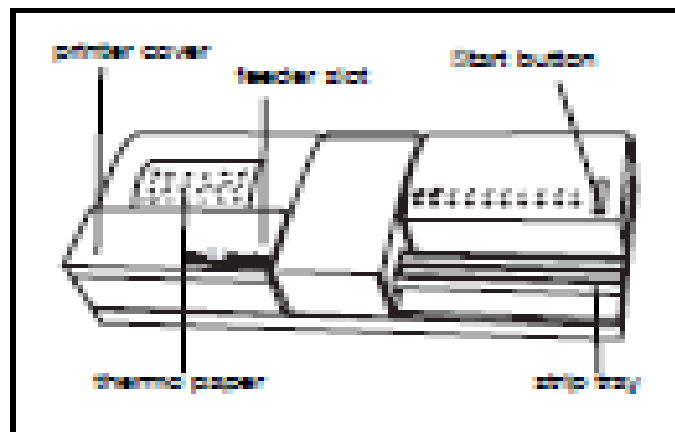
- **scala nominale**
 - insieme di categorie ciascuna delle quali è associata ad un nome, un sostantivo, un avverbio o un aggettivo.
- **scala ordinale**
 - insieme ordinato di categorie.
- **scala ad intervalli**
 - insieme ordinato di categorie dove ogni categoria corrisponde ad un intervallo e dove tutti gli intervalli sono della stessa grandezza.
- **scala di rapporti**
 - lo zero è assoluto e ciò consente la moltiplicazione e la divisione sui diversi valori della variabile.



Scale di misura e stimatori statistici

scala	nominale	ordinale	intervallo	rapporto
relazioni	= ≠	≠ > <	= ≠ > < ratio intervalli	= ≠ > < ratio intervalli ratio valori
esempio	positivo negativo	- 1+ 2+ 3+	°C	mlU
frequenza	•	•	•	•
moda	•	•	•	•
coefficiente di contingenza	•	•	•	•
percentile		•	•	•
mediana		•	•	•
r di Sperman		•	•	•
t di Kendall		•	•	•
media			•	•
deviazione standard			•	•
r di Pearson			•	•
correlazione multipla			•	•
media geometrica				•
coefficiente variazione				•

LabStripU11Plus



LabStripU11Plus			T	TT	TTT	TTTT		
Bilirubin	Conv.	neg	1	2	4			mg/dl
Bi	SI	neg	17	25	70			µmol/l
Urobilinogen	Conv.	norm	2	4	8	12		mg/dl
Ubg	SI	norm	25	70	140	200		µmol/l
Ketone	Conv.	neg	15	50	150			mg/dl
Ket	SI	neg	1.5	5	15			mmol/l
Asc. Acid	Conv.	neg	20	40				mg/dl
Asc	SI	neg	20	40				mg/dl
Glucose	Conv.	norm	50	150	500	1000		mg/dl
Glu	SI	norm	2.8	8.5	28	56		mmol/l
Protein	Conv.	neg	20	100	500			mg/dl
Pro	SI	neg	0.2	1	5			g/l
Blood	Conv.	neg	10	50	200			Ery/µl
pH	Conv./SI	5	6	7	8	9		
Nitrite	Conv./SI	neg	pos					
Leukocytes	Conv./SI	neg	25	75	500			Leu/µl
Spec. Grav.	Conv./SI	1.000	1.005	1.010	1.015	1.020	1.025	1.030

Incertezza qualitativi

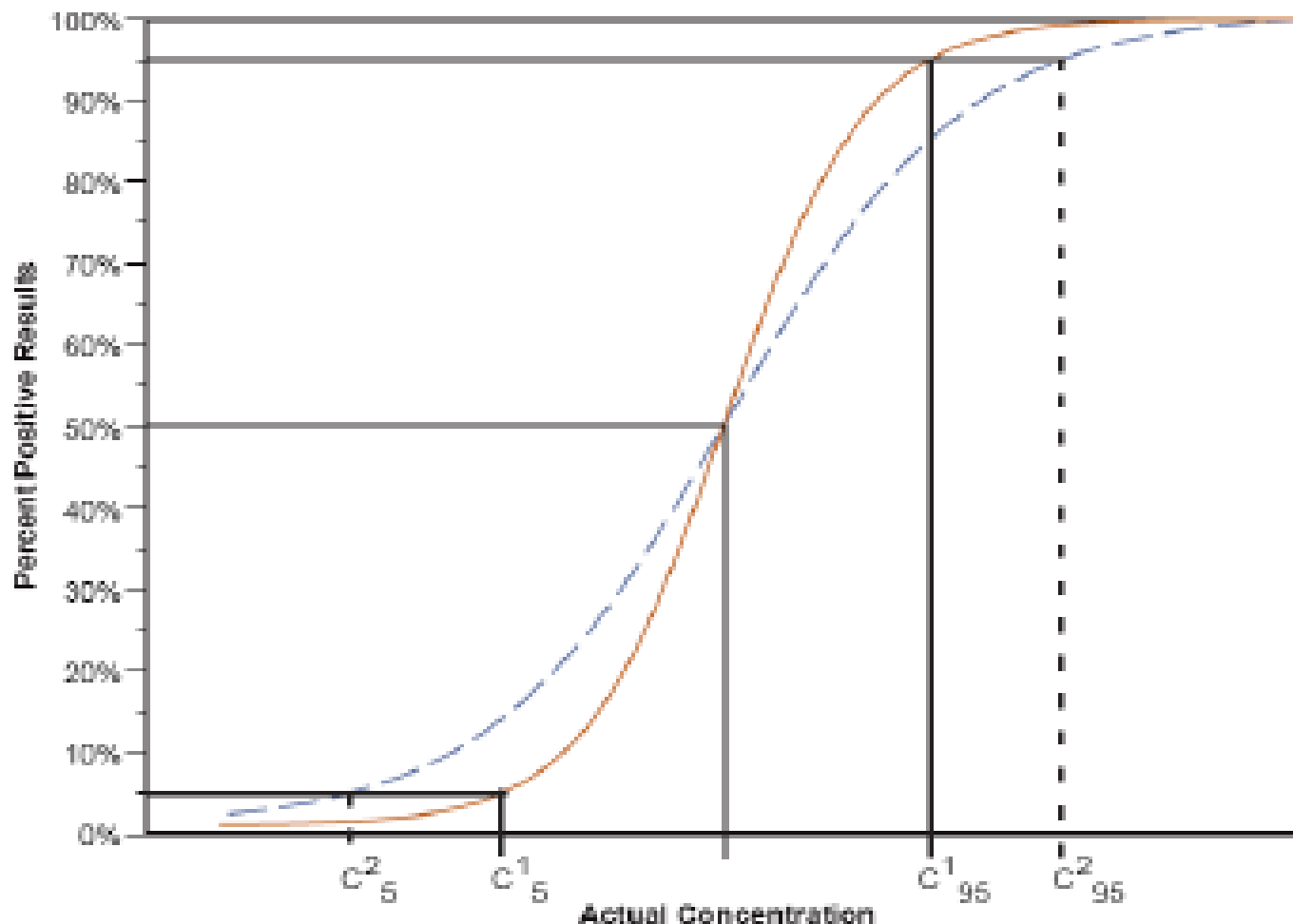


Figura 3. da CLSI-EP12

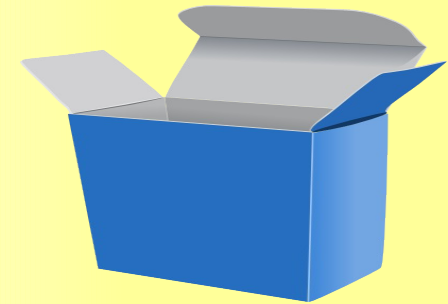
CLSI EP12/A2 descrive quindi un esperimento per la precisione di questi metodi. L'approccio deriva da quello originariamente proposto da ECCLS, che non fornisce in realtà l'intervallo C5-C95, ma stabilisce se un intervallo di concentrazioni pari a $\pm 20\%$ intorno a C50 è maggiore o minore di C5-C95. Da notare che l'intervallo $\pm 20\%$ è scelto a scopo squisitamente didattico e dimostrativo, un po' come l'intervallo $\pm 2s$ in altri campi. Nel singolo caso l'intervallo da valutare dovrà essere stabilito in base all'utilizzo dei risultati.

ISO 15189:2012

5.5.1.2 Verification of examination procedures



Validated examination procedures used without modification shall be subject to independent verification by the laboratory before being introduced into routine use.



The laboratory shall obtain information from the manufacturer/method developer for confirming the performance characteristics of the procedure.



Quality Management System: Equipment; Approved Guideline

This guideline provides recommendations for establishing equipment management processes from selection through decommission of equipment used in the provision of laboratory services.

A guideline for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process.



August 2011

GP37-A

Quality Management System: Equipment;

Approved Guideline

**Chairholder: Lucia M. Berte, MA,
MT(ASCP)SBB, DLM;
CQA(ASQ)CMQ/OE**

**Organization: Laboratories Made
Better!**

„...manufacturer's service engineer...“



6 Equipment Validation Plan

- **6.2 Operational Qualification – OQ**

A process for confirming/verifying the instrument's basic operational specifications established by the manufacturer before implementation in the laboratory. This process is generally performed by the manufacturer's service engineer.



- **6.3 Performance Qualification - PQ—A process for confirming/verifying the performance of functional specifications by laboratory staff as within the acceptance criteria set forth in the validation protocol and the competence of equipment operators. This process is generally performed by the laboratory's equipment operator.**

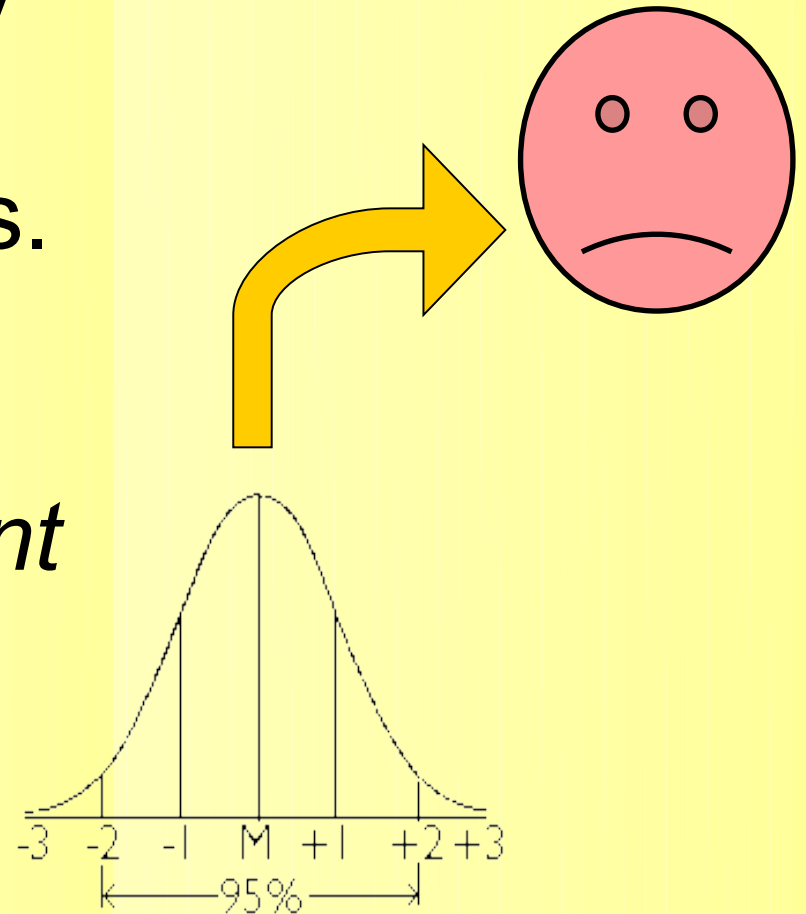


ISO 15189:2012

5.5.1.4 Measurement uncertainty of measured quantity values COMUNICAZIONE

...

The laboratory shall consider measurement uncertainty when interpreting measured quantity values. ***Upon request, the laboratory shall make its estimates of measurement uncertainty available to laboratory users.***



ISO 15189:2012

5.5.1.4 Measurement uncertainty of measured quantity values *QUALITATIVI*

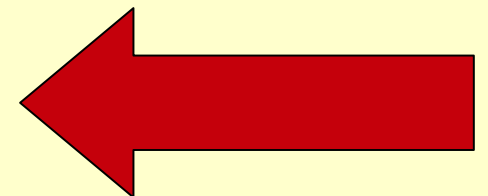
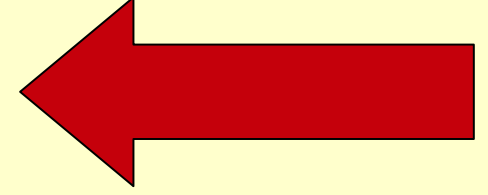
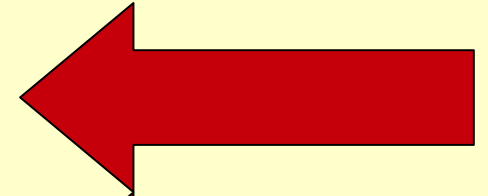
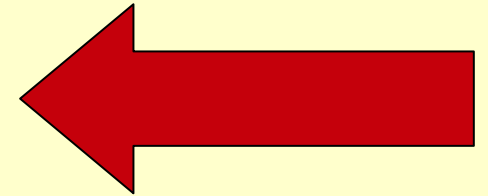
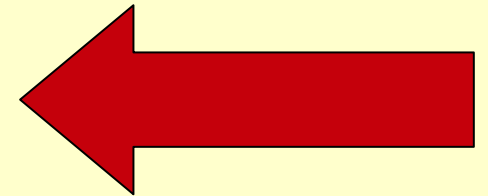
...

Where examinations include a measurement step but **do not report a measured quantity value**, the laboratory should calculate the uncertainty of the measurement step where it has utility in assessing the reliability of the examination procedure or has influence on the reported result.



Prove con risultati qualitativi

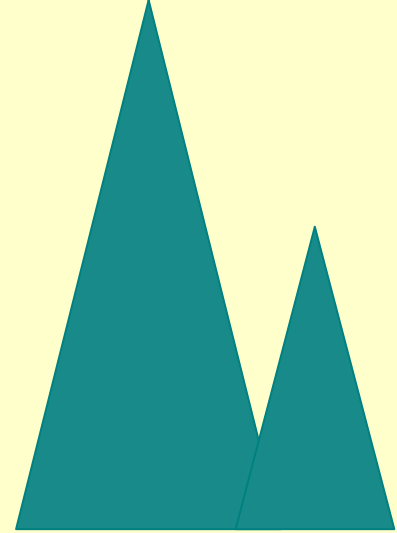
- **Incertezza e ripetibilità nelle norme**
- **Casi d'uso: i problemi**
- **Strumenti ACCREDIA**
- **Risultati qualitativi**
- **Casi d'uso: le soluzioni**



Casi d'uso

- **Caso A. popolazioni miste di eritrociti.**

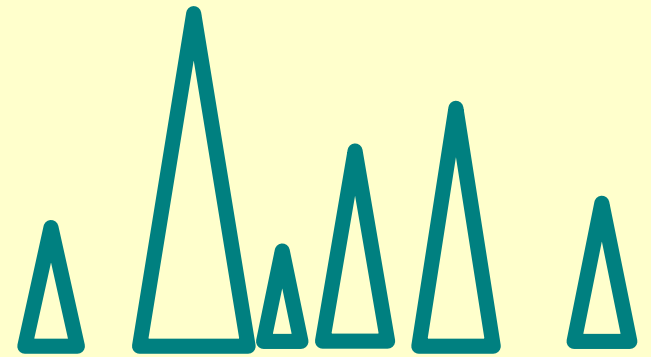
- Il software utilizza i segnali nel canale frontale (Forward channel) confrontati con quelli nei canali laterali (sideward channels) con una scala lineare (piuttosto che logaritmica) e parametri stabiliti.
- Si conteggiano 50.000 eventi per ciascun anticorpo e si utilizzano le letture di un controllo interno (col solo anticorpo secondario) per aggiustare il voltaggio del canale FL1 intorno al valore 1 di fluorescenza. Quindi si leggono i campioni



Caso A. popolazioni miste di eritrociti = *risultato quantitativo con interpretazione*

- Ai fini della validazione del metodo, quindi della determinazione dell'incertezza di misura e del limite di ripetibilità, il risultato da considerare non può essere né l'interpretazione del campione (positivo/negativo/sospetto) né quella dell'istogramma (doppia/incerto/singola) bensì il **valore quantitativo del “numero di eventi nel picco minore”**, come indicato dall'autore del metodo originale

Caso B. analisi chirale delle amfetamine



spettrometria di massa.

Sono stati determinati ripetibilità e limiti di rilevazione per un metodo di questo tipo.

Il coefficiente di variazione nella serie dei tempi di ritenzione e delle aree del picco degli enantiomeri di 6 composti sono risultati inferiori a 0.58% e 7.83%. Tra le serie arrivano al massimo a 1.58% e 9.97% rispettivamente. Il limite di rilevazione è stato definito come segnale 3-4 volte il livello del fondo ed è stato determinato come 0.01 µg/mL per metamfetamina.

- Le curve di calibrazione sono state dimostrate lineari tra 0.05 e 10 µg/mL.
- I laboratori antidoping cercano la metamfetamina e usano come campo di misura i valori superiori a 25 ng/mL. Dall'esame si ricavano valori quantitativi, espressi come concentrazione o come quoziente con lo standard interno, interpretati ai fini legali come presente/assente.

Caso B. analisi chirale delle amfetamine

- *Ai fini della validazione del metodo, quindi della determinazione dell'incertezza di misura e del limite di ripetibilità, il risultato da considerare non può essere l'interpretazione del campione (presente/assente) bensì il valore **quantitativo** della concentrazione in ng/mL o come rapporto con lo standard interno.*

Caso C. Identificazione di eritropoietina e darpoetina alfa

Isoelectric Focusing (IEF), in un intervallo di pH compatibile col punto isoelettrico delle diverse sostanze (solitamente tra 2 e 6) e in condizioni denaturanti con urea 7M.

L'immagine viene interpretata con i seguenti criteri:

rEP

nell'area basica ci sono 3 bande consecutive accettabili

le due bande più intense alla densitometria sono tra queste e sono consecutive

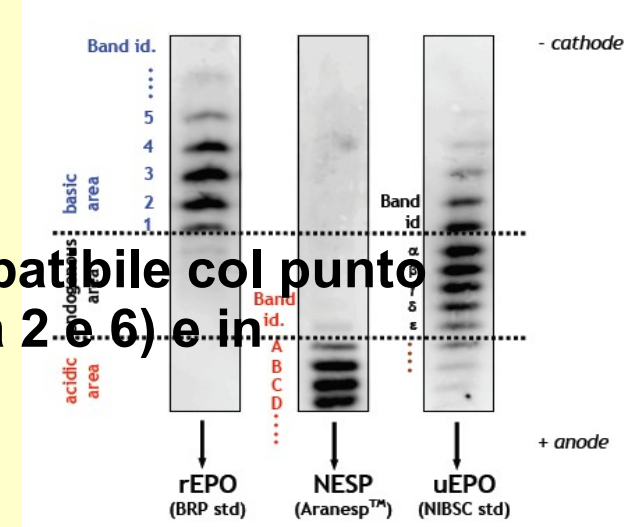
ciascuna delle due bande più intense deve essere in densitometria almeno due volte più intensa di qualsiasi banda nell'area “endogena”

NESP

nell'area acida ci sono 3 bande consecutive accettabili (B, C e D)

le banda più intense alla densitometria è la seconda o la terza (C e D)

la banda più intensa nell'area acida deve essere in densitometria almeno due volte più intensa di qualsiasi banda nell'area “endogena”



Caso C. Identificazione di eritropoietina e darpoetina alfa

- Incertezza: applicare protocollo CLSI EP12
- Ripetibilità: prova ripetuta con materiale a livello positivo vicino al cut-off, Pfn circa 5%

Caso C. Identificazione di eritropoietina e darpoetina alfa

- *Ai fini della validazione del metodo, quindi della determinazione dell'incertezza di misura e del limite di ripetibilità, il risultato da considerare può essere l'interpretazione qualitativa del campione (presente/assente) con i criteri stabiliti, anche se il valore **quantitativo** della densitometria è in pratica disponibile.*

Caso D. metodo rapido multiplo per droghe

- rileva tramite campione di urine la presenza delle seguenti droghe:
- Cocaina e metaboliti, Anfetamine Meth-Anfetamine (Ecstasy MDMA), Marijuana (Cannabinoidi THC), Oppiacei (Morfina, Eroina e metaboliti), Pencilidina Benzodiazepine, Barbiturici, Metadone, Antidepressivi Triciclici



Caso D. metodo rapido multiplo per droghe

- Incertezza: applicare protocollo CLSI EP12
- Ripetibilità: prova ripetuta con materiale a livello positivo vicino al cut-off, Pfn circa 5%

Esempi simili: ASO latex, PCR latex, VDRL, D-dimero, Monotest, sangue urine, proteine urine, glucosio urine, Adenovirus feci, Rotavirus feci, Helicobacter Ag, Streptococco A, gravidanza, sangue occulto, Giardia ...

Caso E. Oxacillin Resistance Screening Agar per MRSA

5.5% NaCl 2 mg/L oxacillin 50 000 U/L polymyxin B
mannitol/aniline blue

Sensitivity (%) after incubation for 18–24 h - 42–48 h: 50.8 62.8

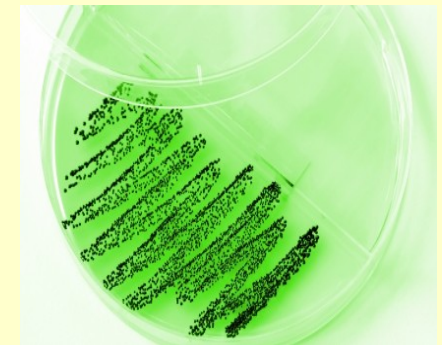
Specificity (%) after incubation for 18–24 h - 42–48 h: 95.6 94.5

*N.B.: studies with pure cultures are not a substitute for evaluations
with clinical specimens*

*The limit of detection for direct culture was 69,000 cfu/mL at 1/128
dilution with 84,000 cfu/mL at 1/2048 dilution following
enrichment.*

*Curry A., Walsh M., Cahill N., Collins E., Knowles S. Evaluation
of the increase rate of MRSA detection using enrichment.*

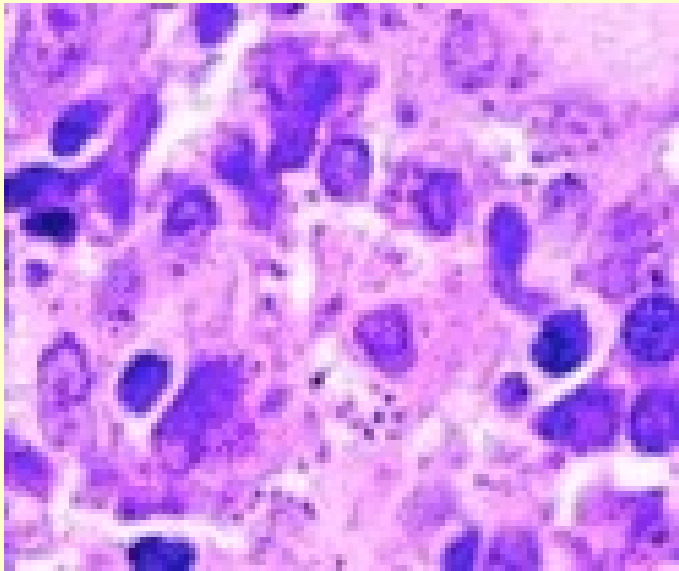
*Abstract number: 1732_71. 31/03/2007 European Society of
Clinical Microbiology and Infectious Diseases. ICC, Munich,
Germany*



Caso E. Oxacillin Resistance Screening Agar per MRSA

- Incertezza: applicare protocollo CLSI EP12
- Ripetibilità: prova ripetuta con materiale a livello positivo vicino al cut-off, Pfn circa 5%

Leishmania infantum



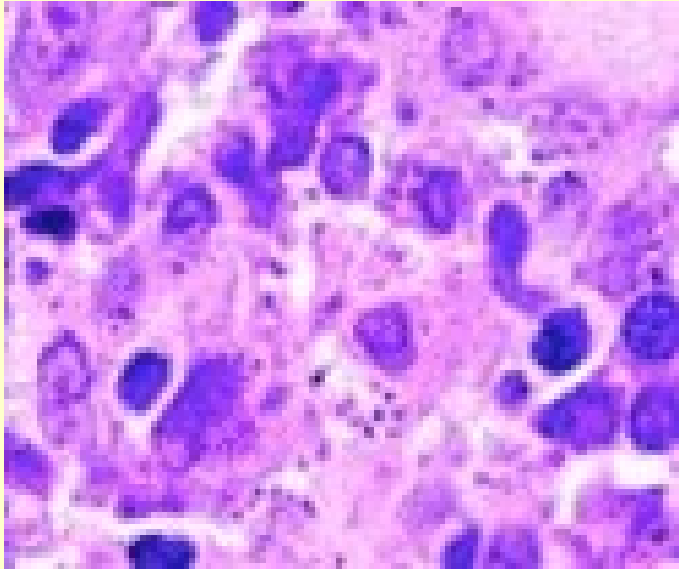
Interpretazione del test ELISA

Risultato test ELISA	Livello anticorpale
Negativo	< 10 %
Dubbio	10 - 13
Positivo	>13 %

Positività al test ELISA	Livello anticorpale
Positivo basso	< 80
Positivo medio	80-150%
Positivo alto	150-300%



Leishmania infantum



10. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

10.1. Precision

Interassay n 4 Mean 0.735 Cv (%) 5.9

Intraassay n 7 Mean 1.609 Cv (%) 7.4

10.2. Diagnostic Specificity 85 %.

10.3. Diagnostic Sensitivity 91 %.



NovaTec Immundiagnostica GmbH

Technologie & Waldpark

***Waldstr. 23 A6, D-63128 Dietzenbach,
Germany***

Caso F: Candida tampone vaginale...

One step procedure
Results within 10 minutes

Sampling

Mix in buffer

Visual detection

Positive Negative

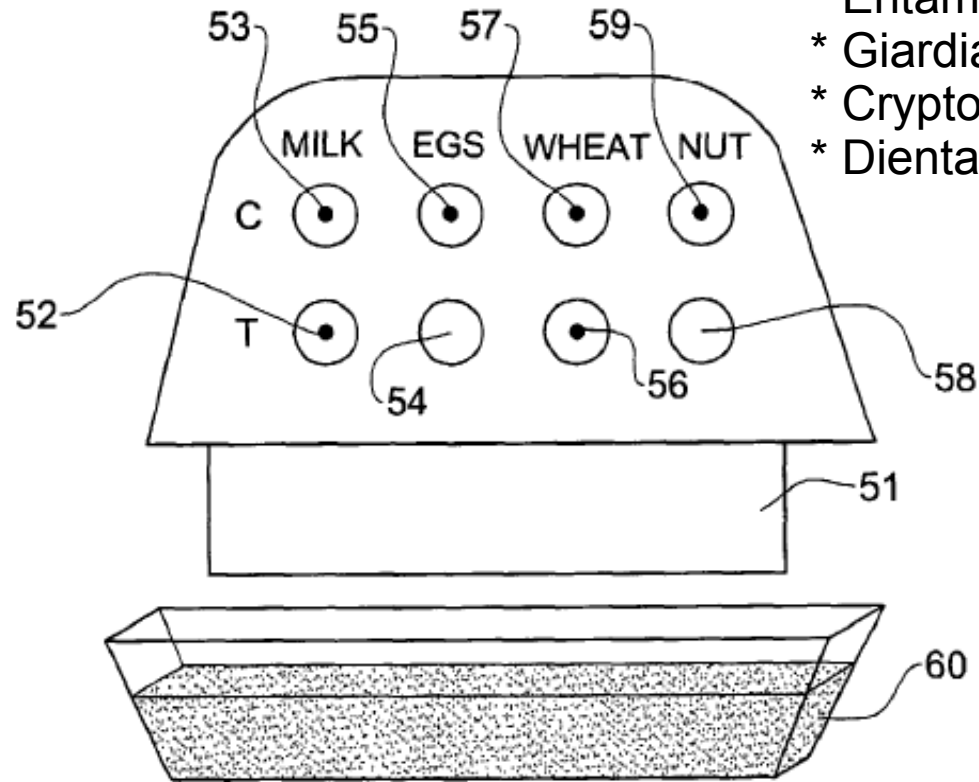
T=Test
C=Control

Caso G: parassiti intestinali



WO 02/075313 A1

(54) Title: A KIT AND METHOD FOR DETECTING FECAL PARASITES



- * *Blastocystis hominis*
- * *Entamoeba histolytica/dispar*
- * *Giardia lamblia*
- * *Cryptosporidium* spp.
- * *Dientamoeba fragilis*

(57) Abstract: The invention concerns a home kit and a method for detection of the presence of a fecal parasite in a stool sample.

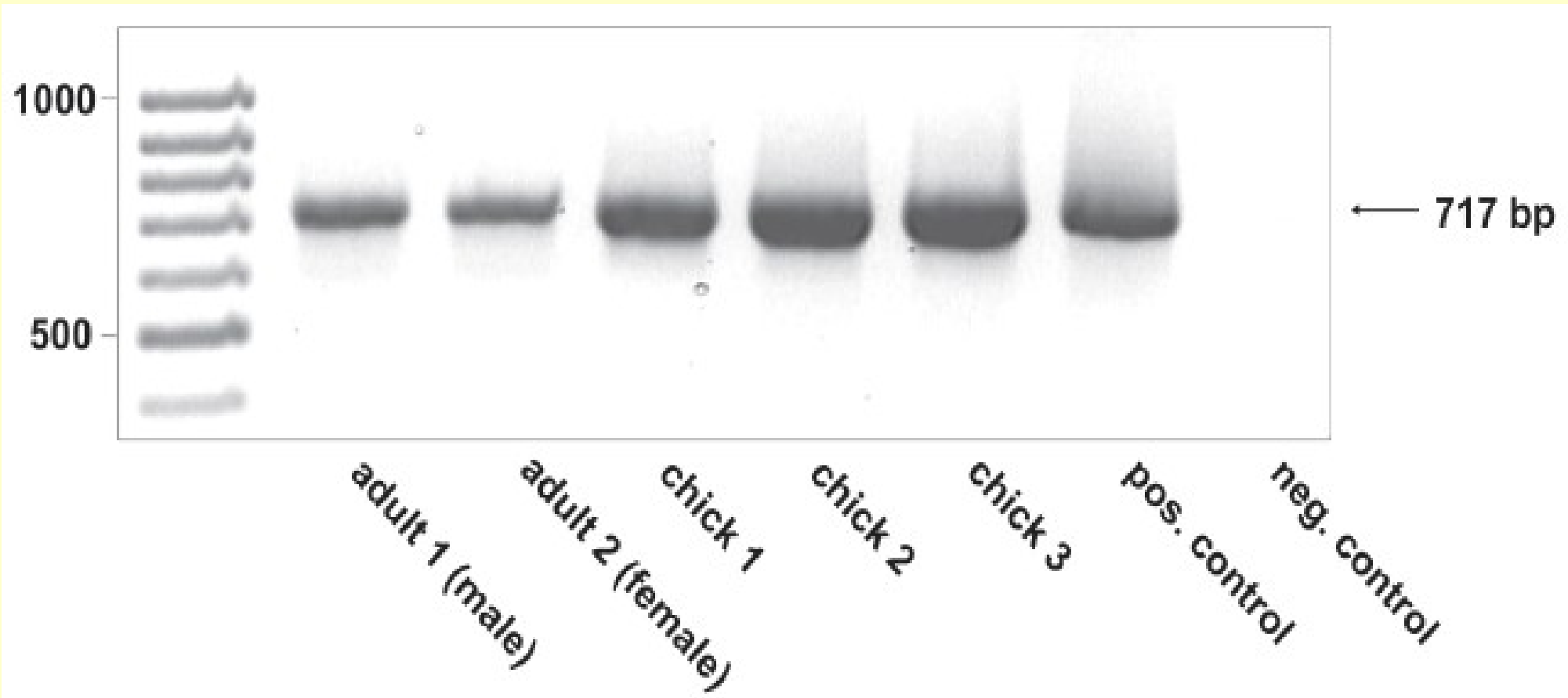
<http://www.freepatentsonline.com/EP1368657.pdf>

SAVYON DIAGNOSTICS LTD.

Beak and Feather Disease Virus

Detection of beak and feather disease virus DNA in embryonated eggs of psittacine birds.

M. Rahaus, N. Desloges, S. Probst, B. Loebbert, W. Lantermann, M.H. Wolff. *Veterinarni Medicina*, 53, 2008 (1): 53–58



STANDARDISED DIAGNOSTIC TESTS FOR BEAK AND FEATHER DISEASE VIRUS (BFDV)

Chapter 1. A comparison of haemagglutination (HA),
haemagglutination inhibition (HI) and PCR for the detection of
psittacine beak and feather disease virus (BFDV) infection

1.3.1 HA and PCR assays limit of detection

HA titres obtained from serial tenfold
dilutions of feathers obtained from a
corella with Pbfd were >40,960,
25,600, 32,000, 40,000, <200,000 and
<2,000,000 HAU/50 μ L, respectively.

A positive PCR result was obtained for
the 1:10, 1:100 and 1:1000 but not in
the 1:100,000 or 1:1,000,000 dilutions
on the same material.



Australian Government

Department of the Environment,
Water, Heritage and the Arts



STANDARDISED DIAGNOSTIC TESTS FOR BEAK AND FEATHER DISEASE VIRUS (BFDV)

Chapter 4. A universal quantitative, real-time polymerase chain assay for beak and feather disease virus (BFDV)

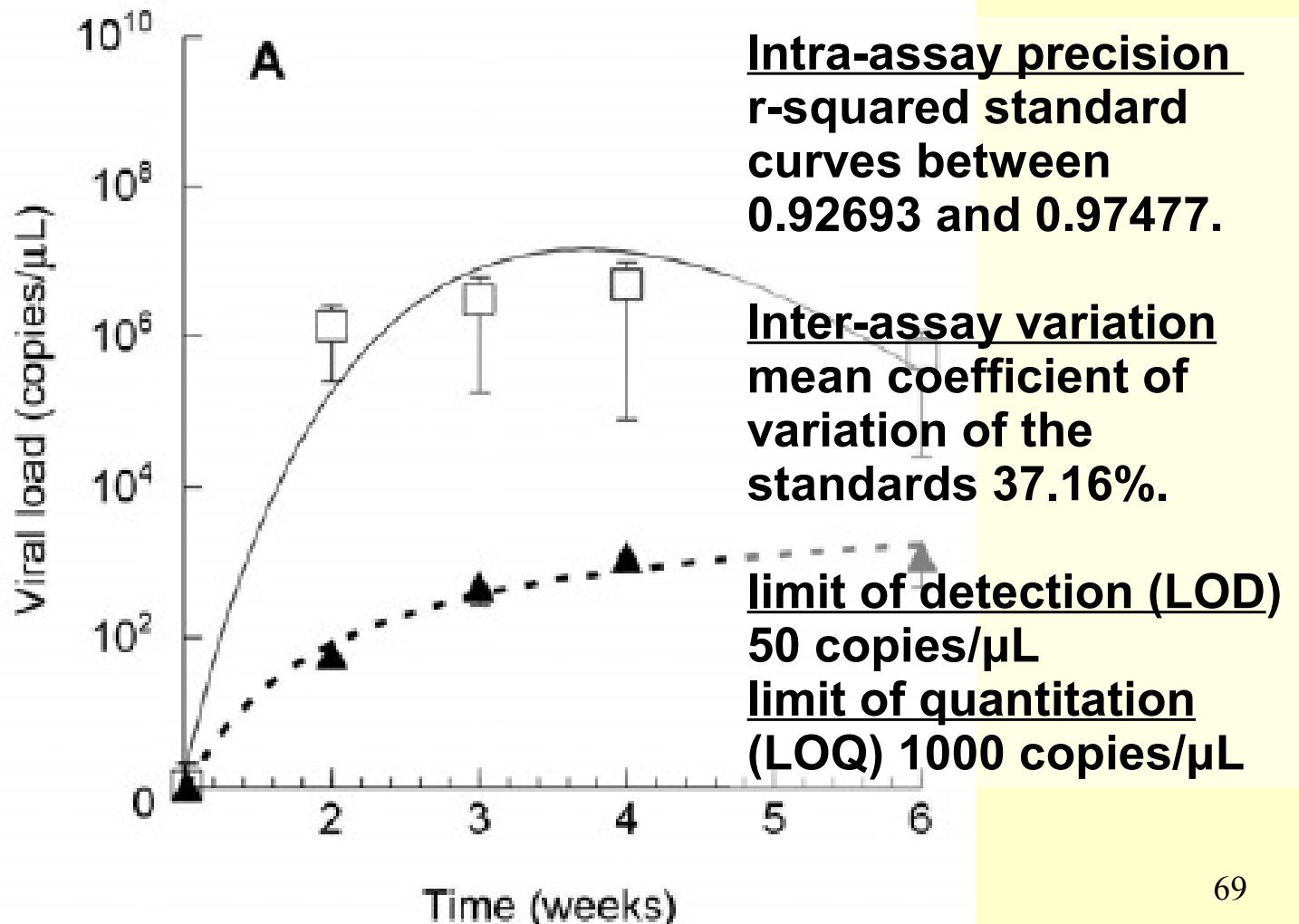


Australian Government

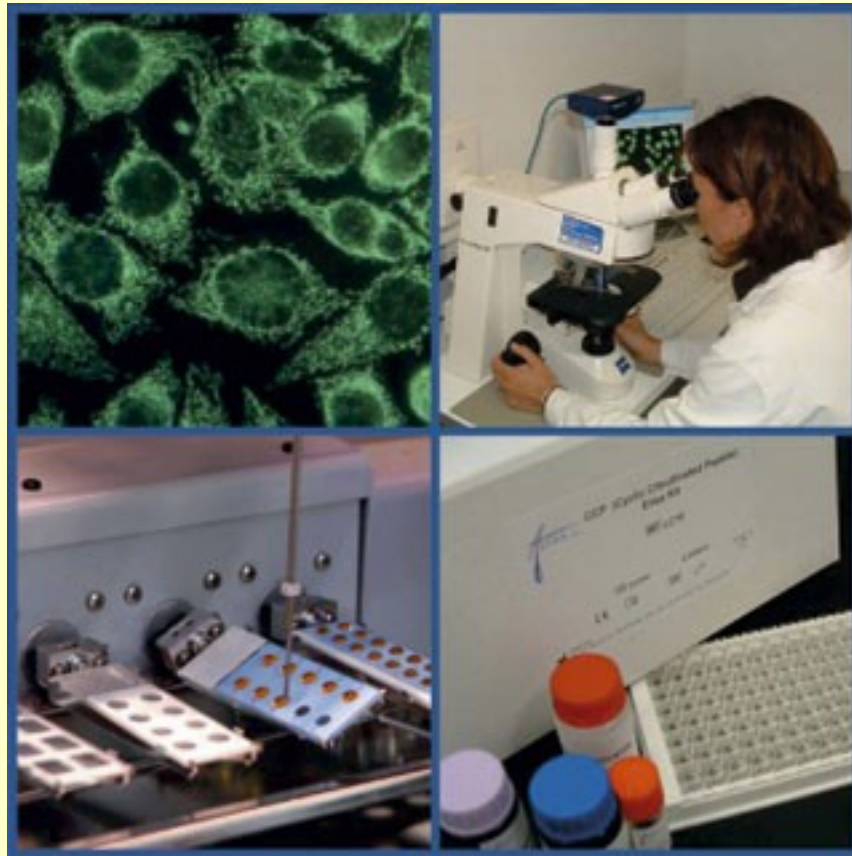
Department of the Environment,
Water, Heritage and the Arts



MURDOCH
UNIVERSITY
PERTH, WESTERN AUSTRALIA



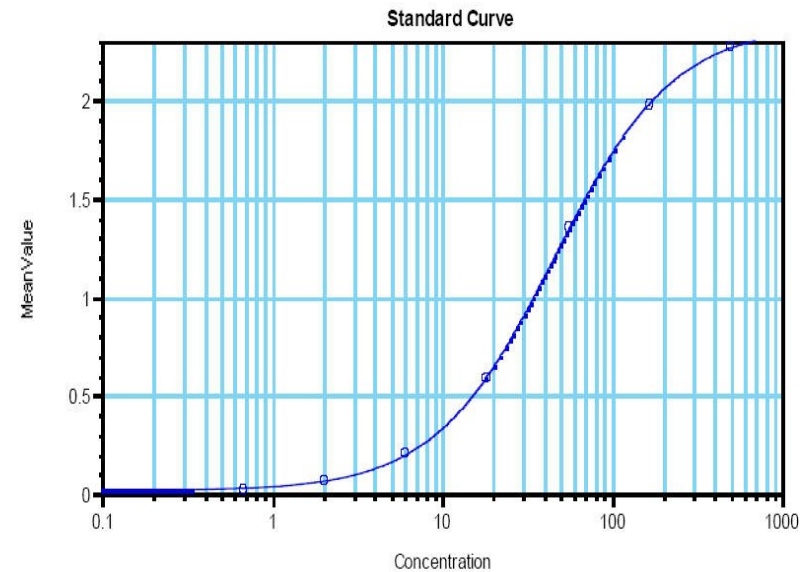
Esami di autoimmunologia...



Caso H: ELISA

Sample	Concentration	BackCalcConc	Wells	Values	MeanValue	Std.Dev.	CV%
St01	500	442.535	A1	2.364	2.386	0.031	1.3
		466.296	A2	2.372			
		711.384	A3	2.422			
St02	166.667	161.549	B1	2.088	2.092	0.011	0.5
		167.929	B2	2.104			
		160.022	B3	2.084			
St03	55.556	56.751	C1	1.473	1.468	0.012	0.8
		55.272	C2	1.454			
		56.989	C3	1.476			
St04	18.519	19.236	D1	0.737	0.706	0.028	3.9
		17.471	D2	0.685			
		17.806	D3	0.695			
St05	6.173	6.768	E1	0.336	0.323	0.015	4.8
		5.887	E2	0.306			
		6.504	E3	0.327			
St06	2.058	2.399	F1	0.192	0.183	0.01	5.2
		1.758	F2	0.173			
		2.167	F3	0.185			
St07	0.686	0.62	G1	0.143	0.141	0.002	1.2
		0.487	G2	0.14			
		0.487	G3	0.14			

Smallest standard value: 0.141
Largest standard value: 2.386

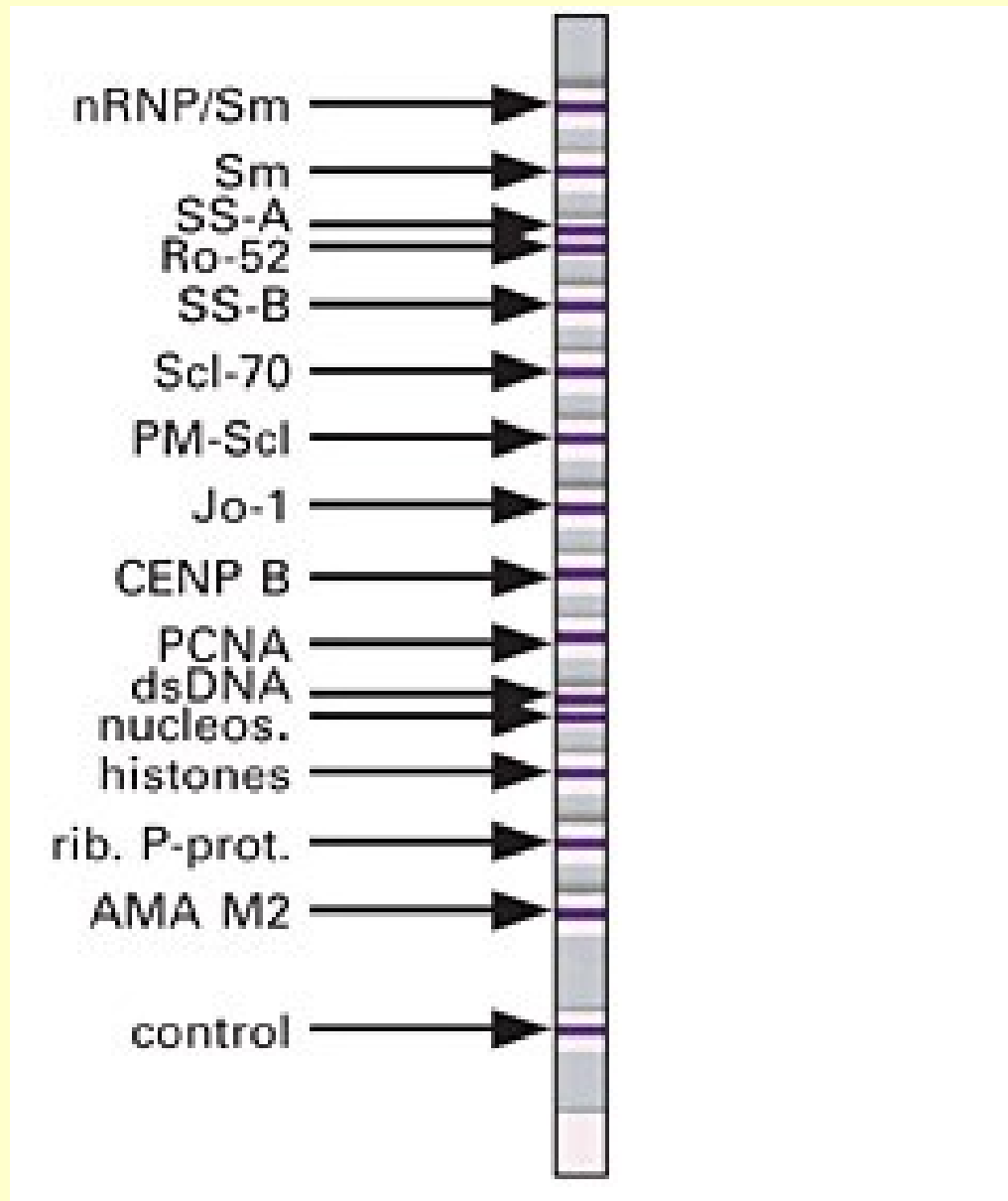


$$y = \left(\frac{A - D}{1 + (x/C)^B} \right) + D$$

Std (Standards: Concentration vs MeanValue)

A	B	C	D	R ²
0.013	1.235	45.677	2.381	1

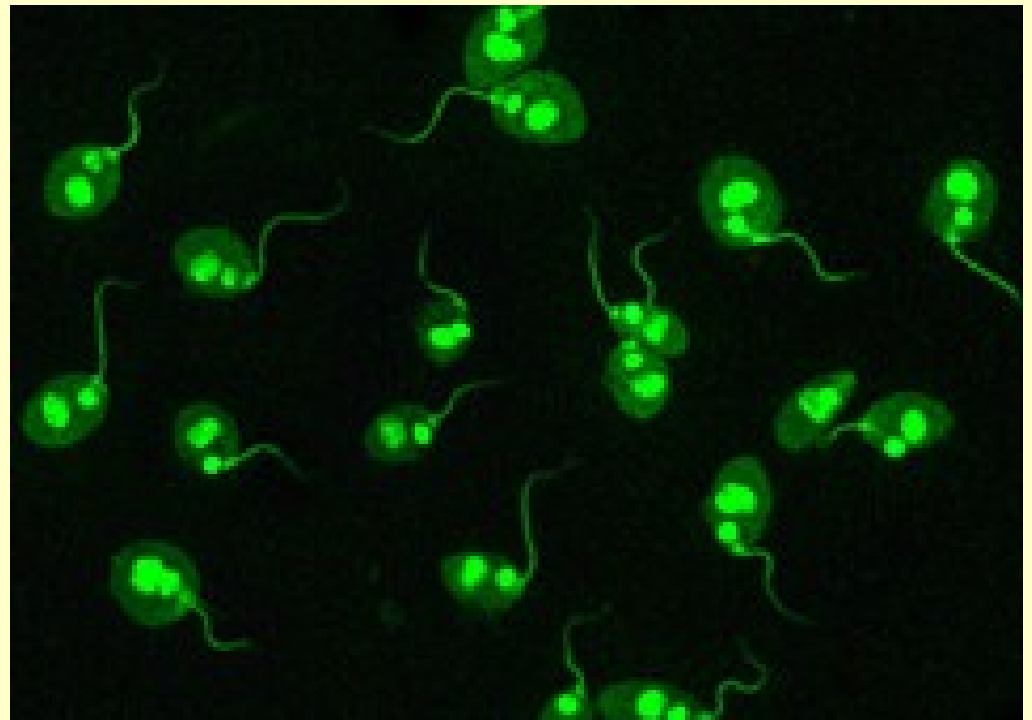
Caso I: ENA blot



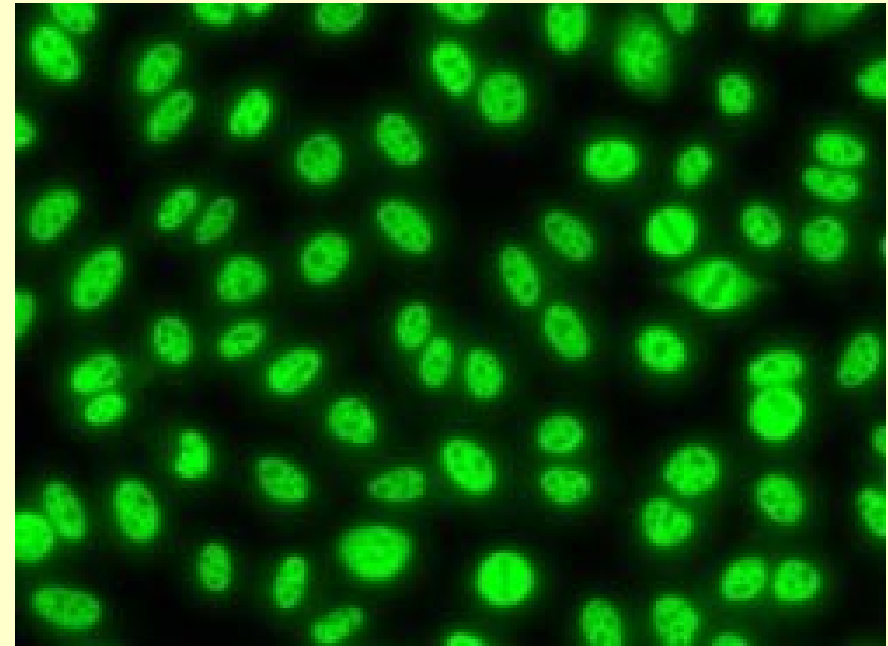
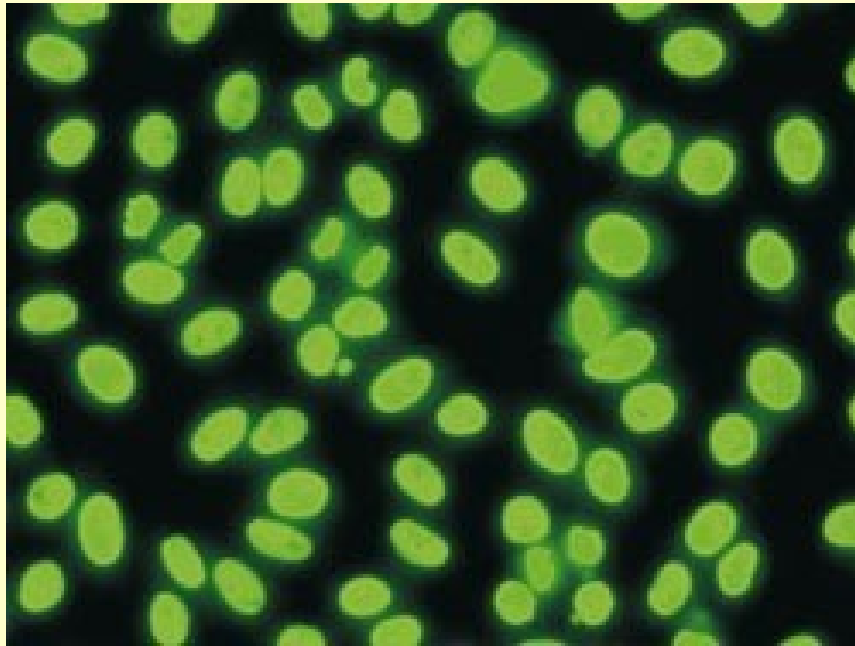
Caso J: ELISA

Caso K: IF anti-nDNA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	○	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
B	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
C	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
D	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
E	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
F	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
G	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○
H	●	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○



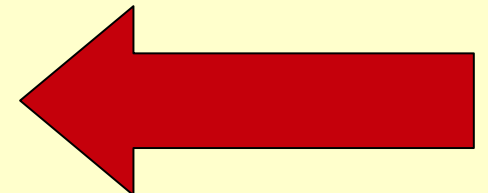
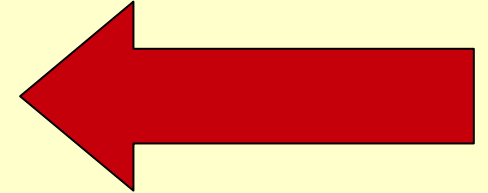
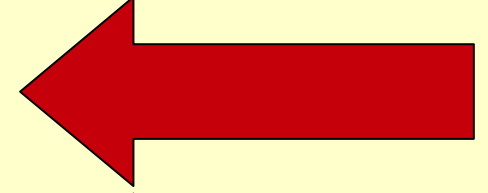
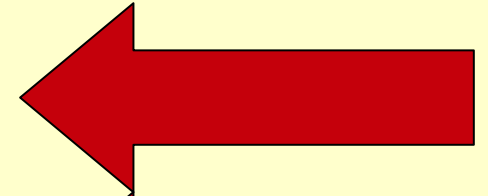
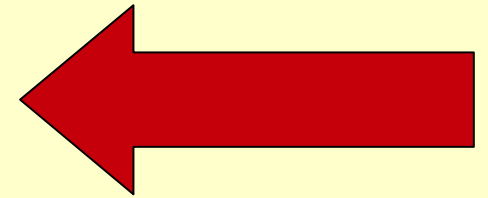
Caso L: ANA omogeneo o granulare con titolazione



1/40 – 1/80 – 1/160 – 1/320 – 1/640 – 1/1280 – 1/2560 – 1/5120 - 1/10240

Prove con risultati qualitativi

- **Incertezza e ripetibilità nelle norme**
- **Casi d'uso: i problemi**
- **Strumenti ACCREDIA**
- **Risultati qualitativi**
- **Casi d'uso: le soluzioni**



DT-07-DL/DS rev. 0: Prove con risultati qualitativi



*RIUNIONE DI AGGIORNAMENTO
PER ISPETTORI QUALIFICATI E LABORATORI ACCREDIA*

14-15 ottobre 2013 c/o sala Auditorium Palazzo della GRAN GUARDIA, piazza Bra – Verona
24-25 ottobre 2013 c/o Istituto Superiore Antincendi, Aula Magna, Via del Commercio, 13 Roma

ore 15:00-16:00

*Marco Pradella
(Asolo TV)*