

Circuito Interlaboratorio 2019 per: La ricerca di bacilli acido-resistenti in sezioni istologiche colorate con Ziehl-Neelsen.

Descrizione.

In accordo con la necessità di uniformare la lettura di preparati istologici per la ricerca di bacilli acido-resistenti con colorazione di Ziehl-Neelsen (ZN) è stato organizzato nel 2019 un test interlaboratorio che ha coinvolto i colleghi patologi dei laboratori di istologia di tutti gli IZZSS ad esclusione dell'Ente organizzatore. Il circuito aveva l'obiettivo di determinare il livello di concordanza tra i lettori partecipanti e la capacità dei singoli di identificare correttamente i 34 preparati istologici utilizzando i metodi di colorazione ZN e ematossilina-eosina per evidenziare:

- La presenza di bacilli acido-resistenti;
- La tipologia di lesione.

Matrici

Pannello costituito da 34 vetrini costituiti da: sezioni di tessuto con lesioni granulomatose di diversa tipologia prelevati da diverse specie animali dei quali alcuni positivi per la presenza di bacilli acido-resistenti. La scelta dei campioni del test è stata fatta sulla base dell'esame microbiologico e del test PCR secondo lo schema riportato in Tabella 1.

2.1. Preparazione e tipologia dei campioni

Tabella 1: Risultati attesi

ID- vetrino	N° Istologico	Specie	Microbiologico	Metodo di prova	PCR	Metodo di prova	SET 1	SET 2	SET 3
1	5/17	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	28	34	14
2	6/17 A	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	14	28	8
3	6/17 B	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	22	22	30
4	6/17 C	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	17	25	22
5	202/15	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	4	15	21
6	950/17	bovino	NEG	MP 01/128	NEG	MP 09/156	33	17	18
7	40/16	bovino	NEG	MP 01/128	NEG	MP 09/156	30	11	15
8	70/17	bovino	NEG	MP 01/128	NEG	MP 09/156	15	24	6
9	142/17	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	25	9	27
10	185/17	pecora	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	6	19	17
11	828/17	bovino	NEG	MP 01/128	NEG	MP 09/156	7	32	23
12	844/17	bovino	NEG	MP 01/128	NEG	MP 09/156	34	2	20
13	112/16	cinghiale	NEG	MP 01/197	NEG	MP 09/156	12	26	28
14	972/15	gatto	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	31	20	24

15	1198/17	cinghiale	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	23	8	16
16	1199/17	cinghiale	NEG	MP 01/197	POS	MP 09/156	2	16	2
17	1193/17	cinghiale	NEG	MP 01/197	POS	MP 09/156	8	6	34
18	1197/17	cinghiale	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	10	18	26
19	1196/17	cinghiale	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	1	13	31
20	1200/17	cinghiale	NEG	MP 01/197	POS	MP 09/156	21	10	33
21	1201/17	cinghiale	NEG	MP 01/197	POS	MP 09/156	26	4	12
22	187/16	bovino	POS	MP 01/128	POS	MP 09/156	13	1	3
23	740/15 A	bovino	POS	MP 01/128	POS	MP 09/156	27	29	32
24	740/15 B	bovino	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	29	5	1
25	740/15 C	bovino	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	9	33	4
26	740/15 D	bovino	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	5	23	9
27	740/15 E	bovino	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	24	12	29
28	689/16 3	bovino	non eseguito		POS	MP 09/078	16	27	5
29	158/17	gatto	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	20	14	10
30	349/17	alpaca	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	19	30	19
31	186/16 A	bovino	POS	MP 01/128	POS	MP 09/156	3	7	11
32	186/16 B	bovino	POS	MP 01/197	POS	MP 09/156	32	3	13
33	192/16	bovino	POS	MP 01/128	POS	MP 09/156	18	31	25
34	759/16	bovino	POS	MP 01/128	POS	MP 09/156	11	21	7

Analiti

Ceppo batterico acido-resistente

Luogo e periodo di svolgimento

Luogo: Italia, nove laboratori (vedi dettaglio punto successivo)

Periodo: Maggio 2019-Dicembre 2019

Partecipanti

I laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali che hanno aderito al circuito sono stati:

- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (Torino)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (Padova)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana (Roma)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (Perugia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (Teramo)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata (Foggia)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno (Portici)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (Sassari)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia (Palermo)

Follow up, Conclusioni e Raccomandazioni

In tabella 2 sono riportati i valori di accuratezza espressi in percentuale e calcolati come numero di valutazioni corrette effettuate sul totale dei campioni esaminati e i risultati del Kappa di Cohen per ogni lettore/laboratorio, inoltre sono indicati i relativi intervalli di confidenza al 95%.

Sono 4 i lettori che hanno correttamente classificato tutti e 34 i vetrini, facendo registrare un'accuratezza del 100% (IC95% 89.7-100%). Un lettore ha classificato correttamente 33 vetrini su 34, facendo registrare un'accuratezza del 97.1% (IC95% 84.7-99.9%). Seguono un lettore con 32 vetrini corretti, 2 lettori con 31 vetrini classificati correttamente e 3 lettori con 30 vetrini corretti. Il risultato peggiore si è osservato nel laboratorio 7 (lettore 12) con 17 vetrini classificati correttamente su 34 facendo registrare un'accuratezza del 50% (IC95% 32.4-67.6%).

I risultati confermano la presenza di omogeneità ($p > 0.05$) e, di conseguenza, è stata calcolata la stima complessiva del valore K di Cohen che è risultata pari a 0.63 (IC95% 0.60-0.66), indicando una concordanza sostanziale tra i risultati di tutti i laboratori con i risultati attesi.

Infine, la valutazione della concordanza tra laboratori calcolata con il Kappa di Fleiss è risultata uguale a 0.61 (IC95% 0.59-0.64), indicando una concordanza sostanziale tra i laboratori ($p < 0.0001$).

Tabella 2: Per ogni laboratorio/lettore sono riportate le percentuali di accuratezza e i valori della Kappa di Cohen, con i relativi intervalli di confidenza al 95%.

Laboratorio	N° campioni classificati correttamente	Accuratezza [IC95%]	K di Cohen [IC95%]
lab1:			
lettore 1	23	67.6% [49.5% ; 82.6%]	0.39 [0.14 ; 0.65]
lettore 2	23	67.6% [49.5% ; 82.6%]	0.38 [0.10 ; 0.66]
lab2:			
lettore 3	34	100% [89.7% ; 100%]	1 [1 ; 1]
lab3:			
lettore 4	28	82.4% [65.5% ; 93.2%]	0.66 [0.42 ; 0.89]
lab4:			
lettore 5	31	91.2% [76.3% ; 98.1%]	0.82 [0.63 ; 1]
lettore 6	31	91.2% [76.3% ; 98.1%]	0.82 [0.63 ; 1]
lab5:			
lettore 7	30	88.2% [72.5% ; 96.7%]	0.75 [0.52 ; 0.98]
lettore 8	30	88.2% [72.5% ; 96.7%]	0.75 [0.52 ; 0.98]
lettore 9	30	88.2% [72.5% ; 96.7%]	0.75 [0.52 ; 0.98]
lab6:			
lettore 10	32	94.1% [80.3% ; 99.3%]	0.88 [0.72 ; 1]
lettore 11	34	100% [89.7% ; 100%]	1 [1 ; 1]
lab7:			
lettore 12	17	50.0% [32.4% ; 67.6%]	-0.04 [-0.38 ; 0.29]

lab8:			
lettore 13	33	97.1% [84.7% ; 99.9%]	0.94 [0.82 ; 1]
lab9:			
lettore 14	34	100% [89.7% ; 100%]	1 [1 ; 1]
lettore 15	34	100% [89.7% ; 100%]	1 [1 ; 1]
Totale		87.1% [83.8% ; 89.8%]	0.63 [0.60 ; 0.66]
<i>K di Fleiss: 0.61 (IC95% 0.59-0.64)</i>			

In tabella 3 sono riportate le performance per ogni singolo vetrino.

Nel complesso la percentuale di accuratezza è pari all'87.1%; si osserva la presenza di vetrini con percentuali inferiori al 60%. Nel dettaglio, i vetrini con una percentuale di accuratezza uguale al 60% sono quelli numerati con 2, 11, 21, 22 e il vetrino numero 16 ha una percentuale di accuratezza pari al 53.3%.

Tabella 3: Per ogni vetrino è riportata l'identificazione corretta, il numero totale di prove eseguite da tutti e nove i laboratori, il numero di prove che riportano una corretta classificazione, gli errori di classificazione registrati per ogni vetrino, l'accuratezza ed il livello di confidenza al 95%.

Vetrino	Identificazione	Totale prove eseguite	Corretta identificazione	Errori	Accuratezza
1	ASSENZA	15	14	1	93.3%
2	ASSENZA	15	9	6	60.0%
3	ASSENZA	15	15	0	100.0%
4	ASSENZA	15	15	0	100.0%
5	ASSENZA	15	15	0	100.0%
6	ASSENZA	15	14	1	93.3%
7	ASSENZA	15	15	0	100.0%
8	ASSENZA	15	14	1	93.3%
9	ASSENZA	15	14	1	93.3%
10	ASSENZA	15	14	1	93.3%
11	ASSENZA	15	9	6	60.0%
12	ASSENZA	15	14	1	93.3%
13	ASSENZA	15	15	0	100.0%
14	PRESENZA	15	13	2	86.7%
15	PRESENZA	15	11	4	73.3%
16	PRESENZA	15	8	7	53.3%
17	PRESENZA	15	10	5	66.7%
18	PRESENZA	15	11	4	73.3%
19	PRESENZA	15	15	0	100.0%
20	PRESENZA	15	10	5	66.7%
21	PRESENZA	15	9	6	60.0%
22	PRESENZA	15	9	6	60.0%
23	PRESENZA	15	15	0	100.0%
24	PRESENZA	15	14	1	93.3%
25	PRESENZA	15	15	0	100.0%
26	PRESENZA	15	12	3	80.0%
27	PRESENZA	15	14	1	93.3%
28	PRESENZA	15	15	0	100.0%
29	PRESENZA	15	12	3	80.0%
30	PRESENZA	15	15	0	100.0%
31	PRESENZA	15	15	0	100.0%
32	PRESENZA	15	14	1	93.3%
33	PRESENZA	15	15	0	100.0%
34	PRESENZA	15	15	0	100.0%
Totale		510	444	66	87.1%

Valutazione statistica

Il Kappa di Fleiss è risultato pari a 0.61 (IC95% 0.59-0.64), secondo la tabella proposta da Landis & Koch, è interpretabile come accordo sostanziale. Il range dei valori di Kappa di Cohen, per singolo laboratorio varia tra -0.04 e 1 e la significatività statistica del test, che permette di accettare la presenza di un accordo tra lettori e il centro di riferimento, ha evidenziato l'assenza di accordo solo con il laboratorio 7 (lettore 12) a causa dell'elevato numero di vetrini non correttamente interpretati ($p=0.80$), per tutti gli altri lettori, il test risulta statisticamente significativo ($p<0.05$).

Conclusioni

Nel complesso l'esito del circuito interlaboratorio è da considerarsi favorevole per la maggior parte dei laboratori.