

Risultati Circuito MD 2014

Schema Microbiologia Diagnostica

Circuito Interlaboratorio AQUA
Schema Microbiologia Diagnostica

Ricerca di: *Taylorella equigenitalis*

ANNO 2014

1. Introduzione

Il circuito interlaboratorio di Microbiologia Diagnostica, ricerca *Taylorella equigenitalis*, organizzato dal Laboratorio di Diagnostica Clinica di Padova – Struttura Complessa Territoriale 3, dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie è nato dall'esigenza di disporre di uno strumento oggettivo per permettere il confronto di metodiche analitiche e lo scambio di informazioni tecnico-scientifiche tra laboratori. I circuiti interlaboratorio rappresentano, infatti, un importante momento di confronto per poter valutare la corretta esecuzione delle procedure di prova, per evidenziare problematiche operative nei confronti delle quali mettere in atto azioni correttive, per garantire l'assicurazione qualità dei risultati e valutare le performance di laboratorio, inclusi quelli che svolgono attività di tipo diagnostico.

Partecipano al circuito sia laboratori territoriali dell'IZSVE, sia laboratori di altri Istituti. I primi per l'esecuzione della prova applicano la procedura PDP DIA 03, redatta secondo le linee guida indicate nel Manuale OIE; i secondi applicano le rispettive procedure di prova in uso presso il laboratorio.

La preparazione dei campioni-prova prevede l'utilizzo di ceppi batterici di riferimento (ATCC, NCTC) e di ceppi batterici isolati e identificati nel corso dell'attività diagnostica.

Il circuito comprende una distribuzione/anno costituita da 10 campioni prova prodotti con le seguenti caratteristiche: colture pure di *Taylorella equigenitalis*; colture miste di uno o più ceppi batterici o flora microbica mista ottenuta da tamponi prepuziali di equino associati o meno a *Taylorella equigenitalis*, campioni sterili.

Per ogni lotto di campioni-prova prodotto, sono eseguite prove di omogeneità e di stabilità. Tali prove sono ripetute su tutti i lotti scelti per il circuito e ripetute, quotidianamente, dal giorno di spedizione a quello previsto per l'arrivo a destinazione, a garanzia della stabilità dei campioni prova fino al momento dell'utilizzo da parte dei laboratori partecipanti.

I campioni prova, opportunamente identificati, sono inviati a temperatura controllata ($+4^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$), mediante corriere, rispettando le condizioni previste dalla normativa vigente riguardante il trasporto di materiale biologico e la documentazione relativa.

Sul sito web dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (www.izsvenezie.it) sono disponibili i documenti di carattere generale del circuito AQUA (organizzazione, scheda di sicurezza) e i documenti specifici dello schema Microbiologia Diagnostica - MD (istruzioni d'uso, modalità per l'inserimento dei risultati, report).

I risultati dei laboratori partecipanti sono elaborati statisticamente, utilizzando la statistica K di Cohen (K) che permette di valutare il grado di concordanza tra risultati attesi e risultati del singolo laboratorio; è stato inoltre calcolato un K complessivo che valuta la concordanza tra tutti i laboratori partecipanti.

2. Bibliografia

- Douglas C. (2005) “Controllo statistico della qualità”. McGraw-Hill Companies
- Grimaldi M., Bordin P., Mioni R., Comin D., Trevisan R., Mancin M., Milan F. (2007) “L’assicurazione della qualità dei risultati tramite l’utilizzo di circuiti interlaboratorio. Esperienze dei laboratori di Microbiologia Alimentare dell’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie”. *Biologi Italiani* 4, 68 –73.
- Quinn P.J., Carter M.E. et Al. (1994) “Clinical Veterinary Microbiology”. Wolfe Ed., 178-179.
- Sidney Siegel, N. John Castellan Jr. (1992) “Statistica non parametrica”. McGraw-Hill Companies
- Contagious equine metritis. “Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals” (2012) OIE, chapter 2.5.2
- UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005 “Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura
- ISO\IEC 17043:2010 “Conformity assessment – General requirements for proficiency testing”

3. Composizione dei campioni prova

Circuito AQUA-MD 2014

Campioni prova	Composizione
A/14	Sterile
B/14	<i>Tylorella equigenitalis</i> NCTC 11184
C/14	<i>Tylorella equigenitalis</i> ceppo di campo rif. 5994/12
D/14	Sterile
E/14	Flora microbica da prepuzio equino II 14/L12
F/14	<i>Tylorella equigenitalis</i> NCTC 11184
G/14	<i>Tylorella equigenitalis</i> NCTC 11184, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
H/14	Sterile
I/14	<i>Tylorella equigenitalis</i> NCTC 11184, Flora microbica da prepuzio equino I 12/L11
L/14	Sterile

4. Indicazioni generali

4.1 Allestimento dei campioni prova

1. Preparazione delle sospensioni batteriche, costituite da flora microbica prepuziale ottenuta valutando più tamponi prepuziali equini, risultati negativi per la ricerca di *T. equigenitalis*
2. Identificazione di massima delle specie microbiche presenti nelle selezioni di flora prepuziale

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

3. Preparazione delle sospensioni di flora microbica con concentrazioni diverse di *T. equigenitalis* per verificarne la stabilità
4. Valutazione della crescita in piastra dei diversi ceppi e selezione delle combinazioni batteriche in grado di garantire la presenza nella matrice “tampono” di un numero sufficiente di colonie di *T. equigenitalis* per poter essere individuate tra la flora microbica competitiva.
5. Allestimento delle matrici “tampono” mediante breve immersione fino a imbibizione del tampono nelle sospensioni batteriche selezionate e inserimento del tampono nella provetta contenente terreno di Stuart con carbone.
6. Verifica della vitalità e della stabilità della componente microbica nella matrice tampono, con prove di crescita effettuate al momento della preparazione e a 24, 48, 72 e 96 ore dalla preparazione/distribuzione dei tamponi.

4.2 Raccomandazioni

- **Inizio prova entro 48 ore dalla data di preparazione/distribuzione dei tamponi**

4.3 Gestione dei campioni prova

- Semina dei campioni prova entro 48 ore dalla data di preparazione/distribuzione (intesa come data del prelievo) analogamente a quanto previsto per i tamponi genitali equini.
- Utilizzo delle procedure di prova in uso presso il laboratorio.

5. Determinazioni e valori assegnati

Determinazione	Valore assegnato
Ricerca di <i>Taylorella equigenitalis</i>	Presente/Assente

6. Interpretazione dei risultati

L'analisi dei campioni prova fornisce una risposta di tipo qualitativo: “**presente**”, nel caso sia evidenziata la presenza di *Taylorella equigenitalis*; “**assente**”, nel caso in cui la sua presenza non sia rilevata.

I dati raccolti dai laboratori partecipanti sono elaborati statisticamente utilizzando la statistica K di Cohen, che fornisce una misura dell'accordo (*coefficient of agreement*) tra le risposte qualitative fornite dai laboratori partecipanti e il risultato atteso.

7. Termini e abbreviazioni

Termini	Abbreviazioni
Concordanza/Riproducibilità	K
Non Pervenuto	np
Significatività statistica	p-value
Presenza/assenza	+/-

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Per l'interpretazione dei valori del K di Cohen, si rimanda alla scala di *Landis & Koch* di seguito riportata:

K	Riproducibilità
≤ 0	Scarsissima
0.01-0.20	Scarsa
0.21-0.40	Discreta
0.41-0.60	Moderata
0.61-0.80	Buona
0.81-1.00	Ottima

8. Ruoli e responsabilità

Responsabile Circuito AQUA-MD Dr.ssa Michela Corrò	e-mail mcorro@izsvenezie.it
Responsabile tecnico Dr. Roberto Perin	e-mail rperin@izsvenezie.it
Responsabile statistico Dr.ssa Marzia Mancin	e-mail crev.mmancin@izsvenezie.it
Assicuratore Qualità Dr. Luciano Iob	e-mail liob@izsvenezie.it

9. Laboratori partecipanti

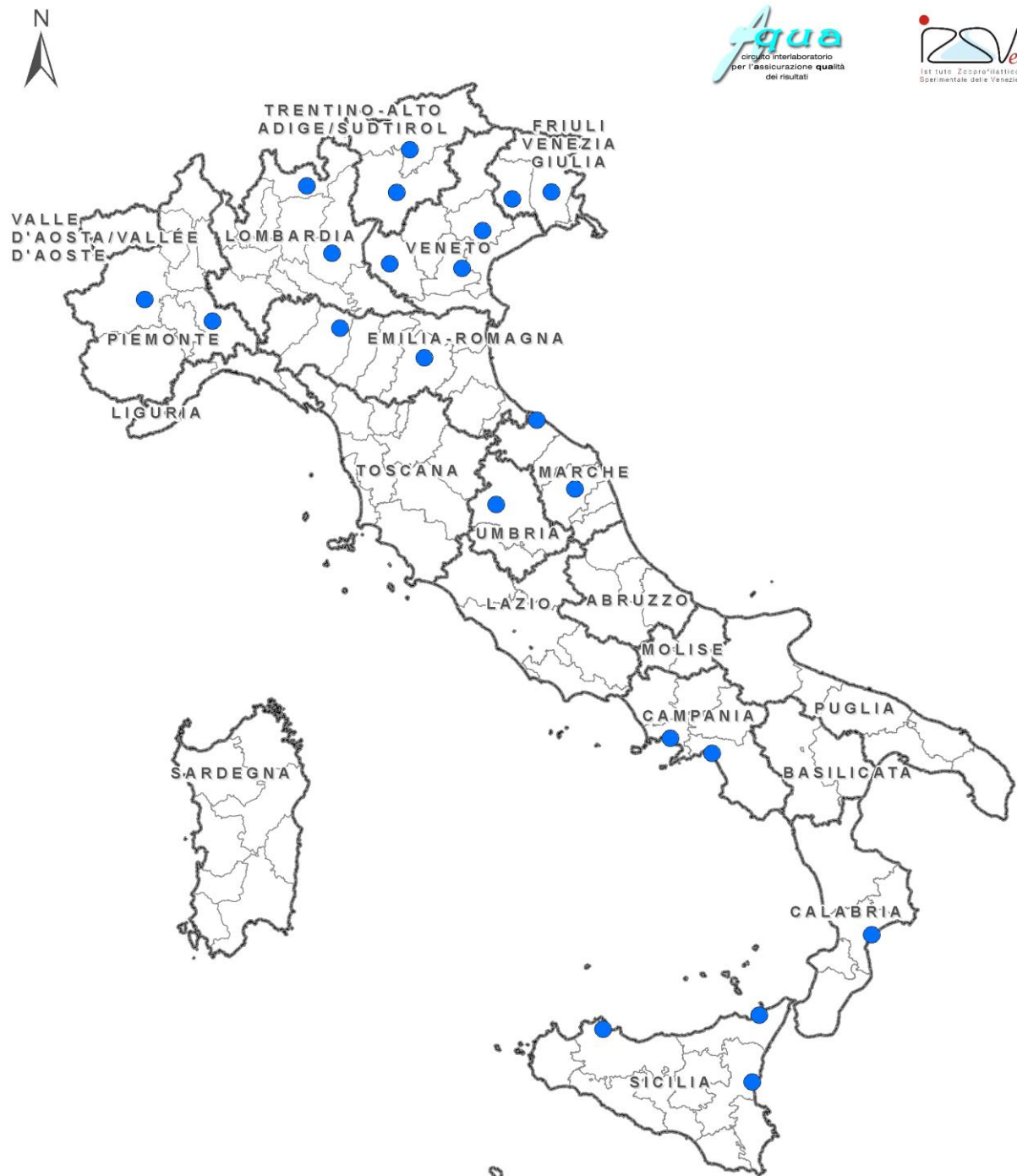


Figura 1: laboratori partecipanti
Schema MD 2014

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

10. Risultati

10.1 Risultati attesi e risultati osservati per laboratorio partecipante

CIRCUITO INTERLABORATORIO MD 2014										
Codice Identificativo	A/14	B/14	C/14	D/14	E/14	F/14	G/14	H/14	I/14	L/14
Risultato atteso	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000332	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000342	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
L000348	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000352	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000359	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
L000383	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000384	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
L000389	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000390	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000392	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000396	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000415	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000432	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000437	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000440	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
L000455	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000456	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000465	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000485	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000490	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
L000503	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
L000538	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
corretto/totale	22/22	22/22	20/22	22/22	22/22	21/22	22/22	22/22	17/22	22/22

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

10.2 Statistica K di Cohen

Si riporta di seguito il calcolo della statistica K di Cohen per valutare la concordanza tra esito atteso e risultato del laboratorio partecipante e il K di Cohen complessivo che valuta la concordanza tra tutti i laboratori partecipanti.

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000332

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000342

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
90.00%	50.00%	0.8000	0.3098	2.58	0.0049

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000348

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000352

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000359

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
90.00%	50.00%	0.8000	0.3098	2.58	0.0049

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000383

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000384

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
90.00%	50.00%	0.8000	0.3098	2.58	0.0049

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000389

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000390

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000392

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000396

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000415

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000432

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000437

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000440

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
90.00%	50.00%	0.8000	0.3098	2.58	0.0049

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000455

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000456

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000465

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000485

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000490

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
80.00%	50.00%	0.6000	0.2898	2.07	0.0192

. Calcolo del valore k per il laboratorio L000503

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
100.00%	50.00%	1.0000	0.3162	3.16	0.0008

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Calcolo del valore k per il laboratorio L000538

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob>Z
80.00%	50.00%	0.6000	0.2898	2.07	0.0192

KAPPA COMPLESSIVO

Calcolo del valore k su tutti i laboratori

Two-outcomes, multiple raters:

Kappa	Z	Prob>Z
0.8729	41.95	0.0000

(Leggenda: Agreement = accordo osservato; Expected = accordo atteso; kappa = statistica K di Cohen; std.Err. = errore standard della statistica Kappa; z = statistica test per verificare l'ipotesi nulla H0= assenza di accordo; Prob>Z = livello di significatività della statistica Z)

10.3 Riassunto dei risultati

Laboratorio	L000332	L000342	L000348	L000352	L000359	L000383
kappa	1,0000	0,8000	1,0000	1,0000	0,8000	1,0000
p-value	0,0008	0,0049	0,0008	0,0008	0,0049	0,0008

Laboratorio	L000384	L000389	L000390	L000392	L000396	L000415
kappa	0,8000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
p-value	0,0049	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008

Laboratorio	L000432	L000437	L000440	L000455	L000456	L000465
kappa	1,0000	1,0000	0,8000	1,0000	1,0000	1,0000
p-value	0,0008	0,0008	0,0049	0,0008	0,0008	0,0008

Laboratorio	L000485	L000490	L000503	L000538	Complessivo
kappa	1,0000	0,6000	1,0000	0,6000	0,8729
p-value	0,0008	0,0192	0,0008	0,0192	0,0000

Note: per l'interpretazione dei valori del K di Cohen si rimanda alla scala di Landis & Koch

11. Circuito interlaboratorio MD 2014: conclusioni ed osservazioni

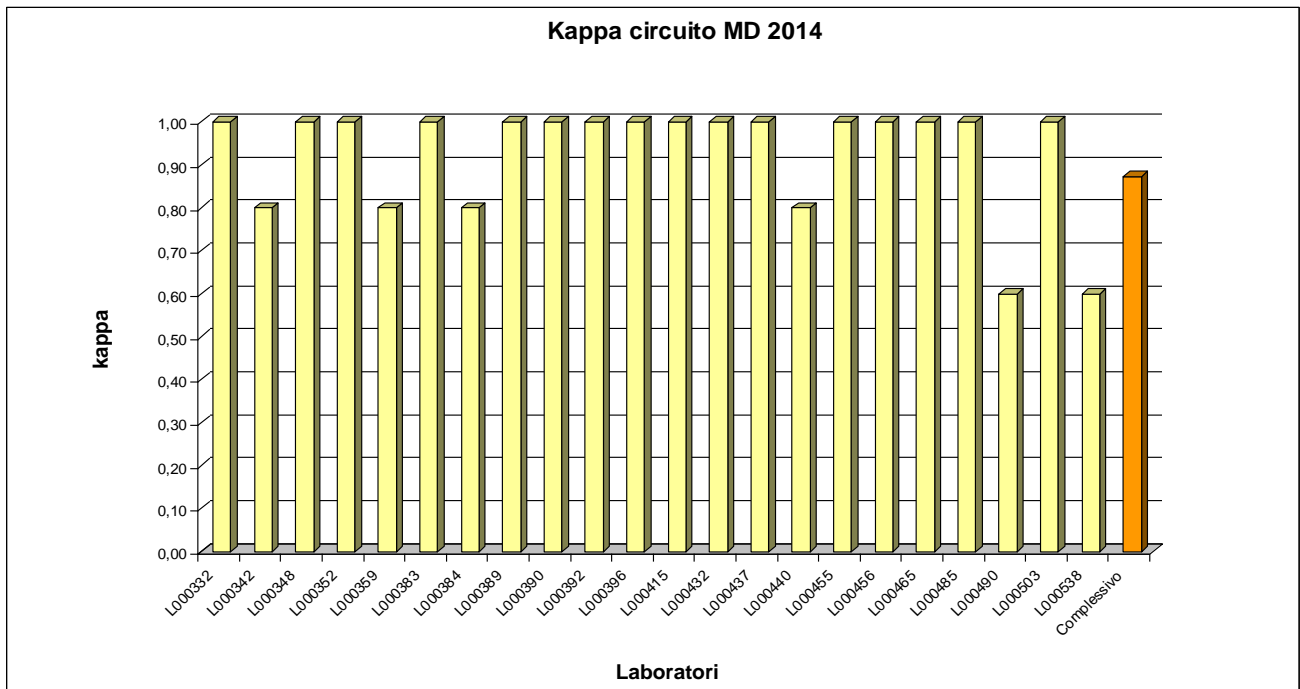


Figura 2: valori di Kappa dei laboratori partecipanti e Kappa complessivo MD 2014

I laboratori **L000490**, **L000538**, valutando il valore k nella scala di *Landis & Koch* (tabella riportata sopra), mostrano una **moderata** concordanza con i risultati attesi del circuito MD 2014, con un p-value <0,05 e quindi non dovuta al caso.

I laboratori **L000342**, **L000359**, **L000384**, **L000440**, valutando il valore k nella scala di *Landis & Koch* (tabella riportata sopra), mostrano una **buona** concordanza con i risultati attesi del circuito MD 2014, con un p-value <0,01 e quindi non dovuta al caso.

Tutti gli **altri laboratori** hanno mostrato un'**ottima** concordanza con i valori attesi del circuito MD 2014 con p-value <0,01 e quindi non dovuta al caso.

La concordanza complessiva del circuito MD 2014 è **ottima** e non dovuta al caso (p-value <0,01).

12. Sensibilità, specificità e accuratezza.

Caratteristiche del circuito ricerca <i>Taylorella equigenitalis</i>			
valore rilevato	Valore assegnato		
	presente	assente	
presente	782	15	
assente	63	815	
subtotale	845	830	
totale		1675	

specificità	0,98 ± 0,01
sensibilità	0,93 ± 0,02
accuratezza	0,95 ± 0,01

Figura 3: Sensibilità, specificità e accuratezza

Sensibilità: capacità d’identificare correttamente i campioni positivi.

La sensibilità nella tabella è data da: $782/(782+63)$: dove **782** sono i campioni positivi correttamente identificati, **63** i campioni positivi riportati come negativi dai laboratori partecipanti e $(782+63)$ **845** i campioni effettivamente positivi distribuiti nel corso degli anni.

Specificità: capacità d’identificare correttamente i campioni negativi.

La specificità nella tabella è data da: $815/(15+815)$: dove **815** sono i campioni negativi correttamente identificati, **15** sono i campioni negativi riportati come positivi dai laboratori partecipanti e $(15+815)$ **830** i campioni effettivamente negativi distribuiti nel corso degli anni.

Sensibilità e specificità, sono definite attraverso una proporzione e quindi assumono valori compresi fra 0 e 1.

Accuratezza: è il grado di corrispondenza tra il dato atteso e quello effettivamente riscontrato.

L’accuratezza nella tabella è data da: $(782+815)/1675$: dove $(782+815)$ sono rispettivamente i campioni positivi e negativi **correttamente** identificati riportati dai laboratori partecipanti e **1675** sono i campioni-prova **totali** distribuiti.

La sensibilità e la specificità del circuito interlaboratorio sono state rispettivamente del 93% e del 98%; l’accuratezza del 95%.

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

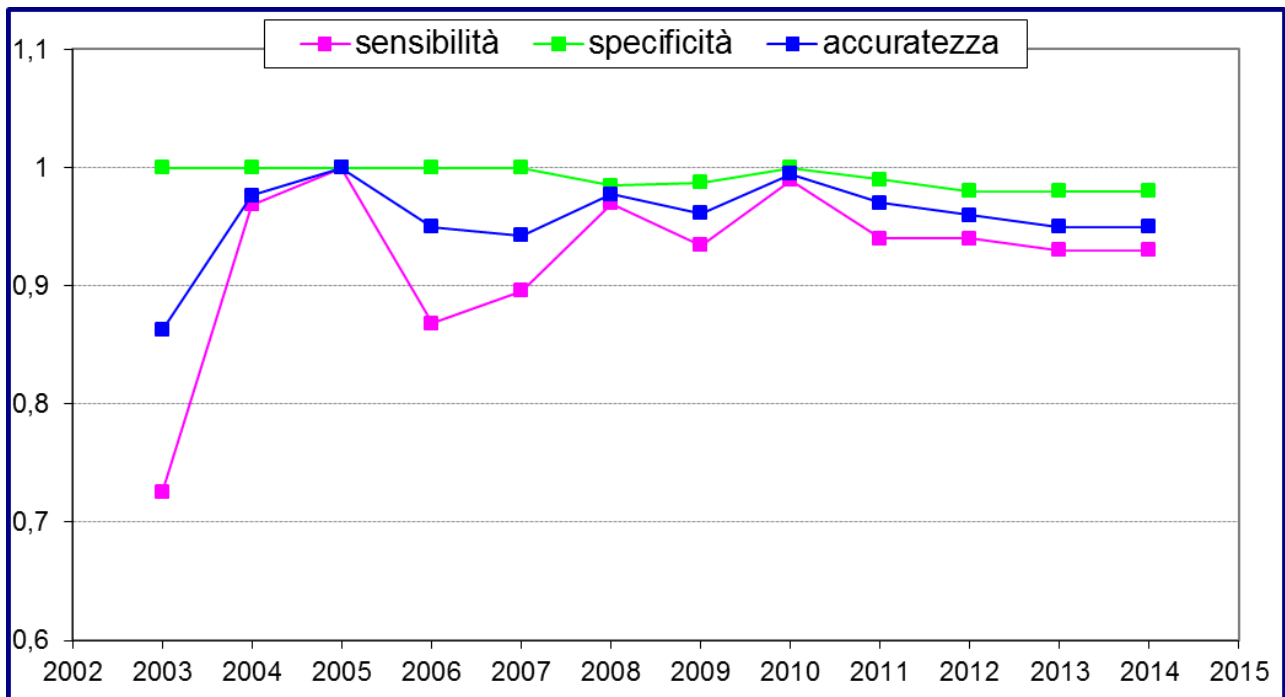


Figura 4: andamento della sensibilità, specificità e accuratezza dal 2003 al 2014

In totale sono stati esaminati n° 1675 campioni prova di cui 845 positivi per *Tylorella equigenitalis* e 830 negativi.

13. Altre elaborazioni

Tempistiche inizio prova

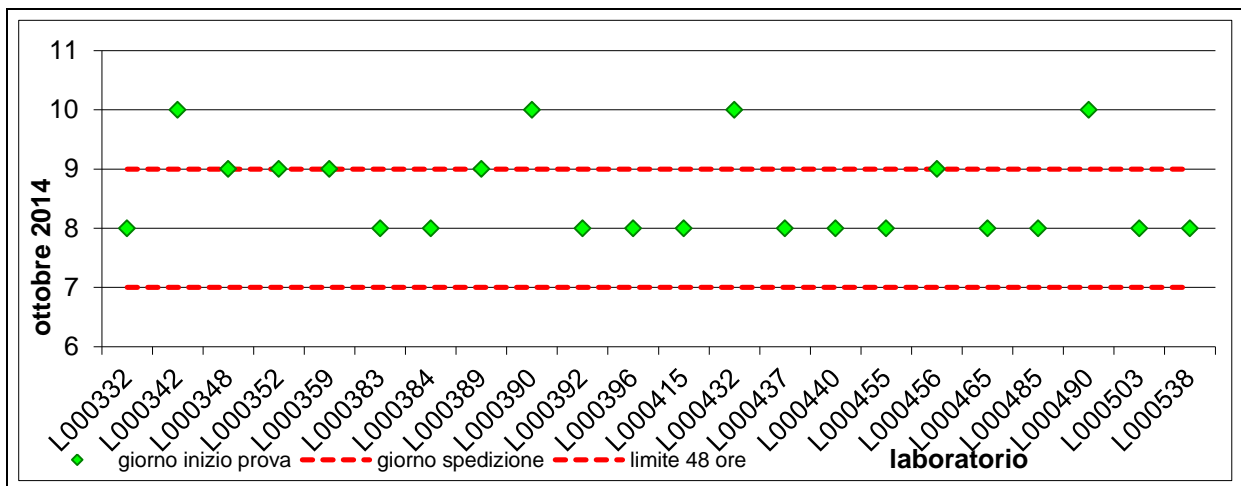


Figura 5: Tempistiche inizio prova laboratori partecipanti

Tutti i partecipanti hanno ricevuto i campioni prova entro le 24 ore dalla spedizione ad eccezione di tre laboratori; due hanno ricevuto i campioni a 48 ore e uno a 72 ore.

Tredici laboratori hanno iniziato la prova entro le 24 ore dalla spedizione/prelievo; cinque laboratori entro 48 ore dal prelievo; quattro laboratori entro 72 ore, tra questi un laboratorio ha ricevuto i campioni prova a 72 ore avviando la prova il giorno stesso (figura 5).

Circuito Interlaboratorio AQUA – Schema Microbiologia Diagnostica

Monitoraggio della temperatura

La temperatura di conservazione dei campioni durante la spedizione è stata monitorata con mini data logger.

Osservazioni

L'utilizzo delle matrici "tamponi" per la ricerca di *Taylorella equigenitalis* nell'ambito del circuito MD, rappresenta, a nostro avviso, un miglioramento qualitativo importante, perché lo rende maggiormente aderente alle condizioni reali. Tuttavia l'utilizzo di tale matrice e la scelta di proporre, come componente batterica contaminante, anche selezioni di flora microbica prepuziale, pone nuove problematiche sia per il laboratorio organizzatore, sia per i laboratori partecipanti.

Il primo deve garantire la preparazione dei campioni prova lo stesso giorno della spedizione, il mantenimento della temperatura di refrigerazione durante il trasporto e il monitoraggio quotidiano della vitalità e stabilità delle componenti microbiche nella matrice tampone, dal momento della preparazione/distribuzione a quello previsto per l'inizio della prova.

Tuttavia i controlli sui campioni prova sono stati effettuati fino a 96 ore dal momento della spedizione/distribuzione per garantire le caratteristiche del materiale anche in caso di ritardi nella consegna da parte del corriere.

I laboratori partecipanti, da parte loro, sono stati invitati a iniziare la prova entro le 48 ore dal prelievo/spedizione.

In generale si riscontra un sensibile miglioramento delle performance dei laboratori, sia individuali, che nel complesso del circuito nel corso degli anni, nonostante la natura del campione prova particolarmente complesso e impegnativo.

Le difficoltà maggiori si sono osservate con il liofilizzato I/14 che oltre al ceppo di *Taylorella equigenitalis* conteneva una flora microbica prepuziale di equino con specie batteriche saprofiti dalle caratteristiche morfo-colturali simili.

Abbiamo proposto anche quest'anno come microrganismo target oltre al ceppo di riferimento anche un ceppo di campo per dar modo ai Laboratori partecipanti di confrontare caratteristiche e peculiarità delle due tipologie batteriche.

Data report 23/12/2014

SCT 3 - Laboratorio Diagnostica Clinica –Padova
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università n° 10, 35020 Legnaro (PD)

Dr.ssa Michela Corrò

☎ (+39) 0498084294

Fax (+39) 0498830277

✉ e-mail: mcorro@izsvenezie.it

Allegato al report MD 2014

Determinazione LOD (Limit Of Detection).

1. Introduzione

Per effettuare tale prova si è utilizzato un liofilizzato a concentrazione titolata di 10^6 UFC di *Taylorella equigenitalis* (ceppo di campo).

I risultati di ogni laboratorio sono stati confrontati con la mediana dei risultati di tutti i laboratori partecipanti.

2. Definizioni

LOD (Limit Of Detection): inteso come la più alta diluizione seriale del campione prova in cui è ancora possibile rilevare la presenza di *Taylorella equigenitalis*.

Percentile: definito come il valore che divide una serie ordinata di osservazioni in 100 parti uguali, per esempio un percentile di ordine α , è il valore Q che divide la popolazione in due parti proporzionali ad α e $(1-\alpha)$, caratterizzate da valori rispettivamente minori e maggiori di Q.

Mediana: è il valore centrale che lascia a destra e a sinistra (o sopra e sotto) il 50% delle osservazioni.

3. Indicazioni generali

3.1 Composizione del liofilizzato

Identificativo	Contenuto
LOD	<i>Taylorella equigenitalis</i> ceppo di campo 15/L13

3.2 Preparazione e semina del campione

- Aggiungere al campione liofilizzato 2,0 ml di brodo nutriente sterile (soluzione madre 1:1).
- Lasciare il campione a temperatura ambiente per 5-10 minuti.
- Mescolare accuratamente fino a completa solubilizzazione.
- Preparare diluizioni seriali in base 10.
- Seminare 100 μ l di ogni diluizione da 10^{-1} a 10^{-10}
- Procedere come previsto dalla procedura per la ricerca *Taylorella equigenitalis*.

4. Risultati

Laboratorio	L000332	L000342	L000348	L000352	L000359	L000383	L000384	L000389	L000390	L000392
LOD	4×10^4	5×10^4	11×10^4	6×10^4	4×10^4	2×10^5	1×10^5	2×10^4	2×10^6	4×10^4

Laboratorio	L000396	L000415	L000432	L000437	L000440	L000455	L000456	L000465	L000485	L000490
LOD	1×10^4	2×10^4	2×10^4	4×10^4	4×10^3	7×10^4	12×10^5	1×10^5	1×10^3	1×10^4

Laboratorio	L000503	L000538
LOD	2×10^5	1×10^4

5. Analisi statistica dei dati

5.1 Elaborazione statistica

Per l'elaborazione dei risultati si sono utilizzati i seguenti parametri:

mediana, definita come il valore che occupa la posizione centrale delle osservazioni disposte in ordine crescente, è utilizzata come parametro di confronto per la sua robustezza (linea blu);

percentile, definito come il valore che divide una serie ordinata di osservazioni in 100 parti uguali; nel nostro caso si è scelto il 5° e il 95° percentile, utilizzati per individuare l'intervallo all'interno del quale ricade il 90% delle osservazioni dei laboratori partecipanti (tratteggio rosso);

coefficiente di variazione (CV), definito come il rapporto percentuale tra la deviazione standard e la media delle osservazioni, è un numero puro che fornisce un'indicazione della variabilità delle osservazioni rilevate.

Parametri	Log ₁₀ LOD
N° laboratori	22
Mediana	4,60
5° percentile	3,62
95° percentile	6,04
Deviazione standard	0,74
Media	4,75
Coefficiente di variazione (CV)	15,94%

5.2 Rappresentazione grafica dei risultati (figura 1 e 2)

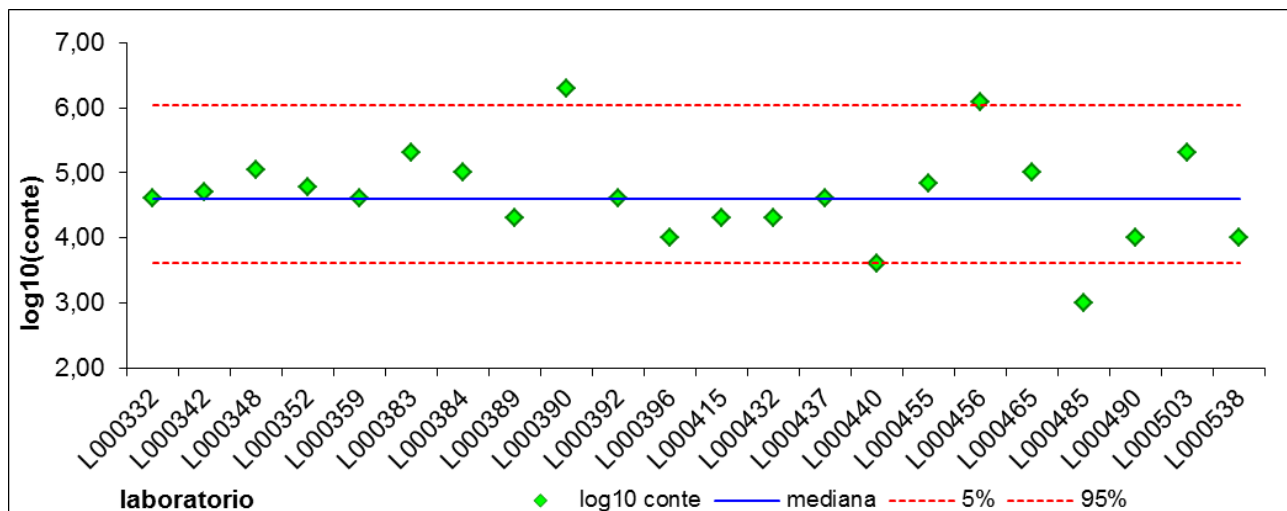


Figura 1: risultati dei laboratori partecipanti espressi con log₁₀

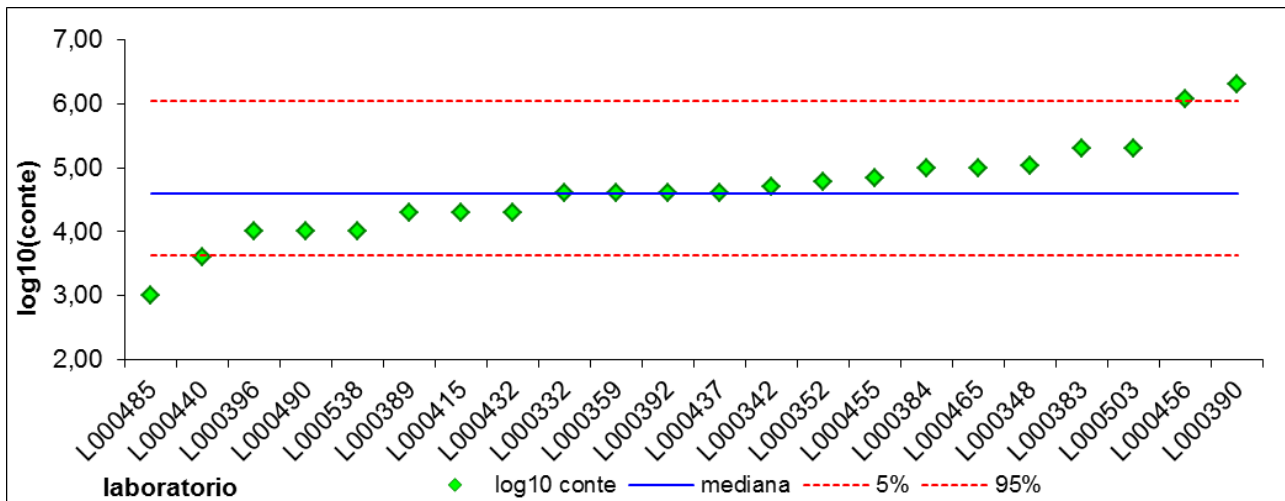


Figura 2: risultati ordinati in funzione della grandezza, espressi con \log_{10}

6. Caratteristiche del campione prova

Si riporta di seguito l'elaborazione statistica dei dati con il relativo grafico (figura 3) delle prove di ripetibilità eseguite sul campione prova utilizzato per la determinazione del LOD.

Parametri	$\text{Log}_{10}.\text{LOD}$
N° repliche	6
Mediana	4,95
5° percentile	4,87
95° percentile	5,00
Deviazione standard	0,06
Media	4,95
Coefficiente di variazione (CV)	1.14%

6.1 Rappresentazione grafica dei risultati

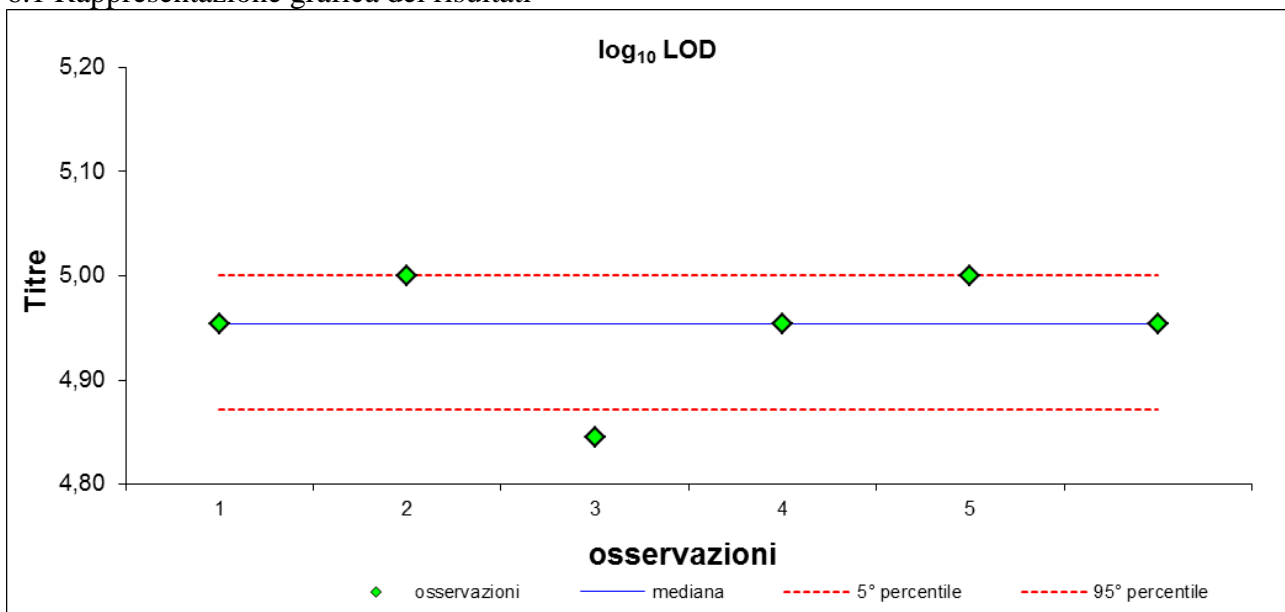


Figura 3: risultati delle 6 repliche (ripetibilità) eseguite sul campione prova, espressi con \log_{10}

7. Discussione

Osservazioni e discussione

Come si può notare dai dati sopra riportati (figura 1 e 2), i laboratori L000390 e L000456 tendono a sovrastimare il LOD, mentre i laboratori L000485 e L000440 tende a sottostimarli.

Il coefficiente di variazione (CV), calcolato per le prove eseguite dai laboratori partecipanti pari a $CV = 15.94\%$, mostra una dispersione dei risultati attorno alla media migliore rispetto alla prova eseguita nel precedente circuito (24,29% nel 2013) e i valori riscontrati indicano una limitata variabilità che porta a considerare accettabile la riproducibilità tra i laboratori.

Le repliche effettuate presso il Laboratorio organizzatore evidenziano un basso valore del coefficiente di variazione pari a 1,14% (figura 3), che conferma una buona ripetibilità del campione prova.